

Biooxidación de concentrados refractarios de oro con alto contenido de arsénico

Nancy García Alvear*. Verónica Vázquez Freire

Centro de Estudios Ambientales-Universidad de Cuenca. Campus Balzay. Av.

Víctor Manuel Albornoz y los Cerezos. Cuenca-Ecuador

Biooxidation of an arsenic gold concentrate

Biooxidació de concentrats refractaris d'or amb alt contingut d'arsènic

Recibido: 13 de noviembre de 2014; revisado y aceptado: 16 de agosto de 2015

RESUMEN

La biooxidación es una tecnología alternativa para el aprovechamiento de minerales tales como el cobre, oro, plata y otros. Los minerales auríferos son en muchos casos refractarios a los tratamientos tradicionales, y requieren de condiciones tecnológicas drásticas, tales como la pirometalurgia. La biooxidación se presenta como una alternativa limpia frente a estas condiciones. Sin embargo, los microorganismos presentan ciertas dificultades de desarrollo cuando se encuentran con elementos tóxicos tales como el arsénico, por lo que el objetivo de este estudio fue establecer las posibilidades de aplicar esta tecnología en minerales con alto contenido de arsénico. Se trabajó con un cultivo mixto: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* realizando una adaptación previa de los microorganismos al arsénico hasta 1.5%. En medio 9K modificado se incrementó la densidad de pulpa hasta establecer el 15% como la concentración óptima. Finalmente las pruebas realizadas en un reactor de 12 litros en condiciones controladas demostraron que en un tiempo de 21 días se podría obtener un 41.03% de solubilización de arsénico, con una productividad volumétrica global de 29.31mg/L.h. Los resultados alcanzados hacen pensar en la necesidad de realizar estudios a nivel piloto para definir la factibilidad de aplicación del proceso de biooxidación con este tipo de mineral.

Palabras clave: Biooxidación; oro; arsénico.

SUMMARY

The biooxidation is an alternative technology for the exploitation of minerals such as copper, gold, silver and others. The gold ores are often refractory to traditional treatments, and require drastic technological conditions such as pyrometallurgical. The biooxidation is presented as a clean alternative to these conditions. However, microorganisms have certain developmental difficulties when faced with toxic elements such as arsenic, so the objective of this study was to establish the applicability of this technology in minerals with high arsenic content. We worked with a mixed culture: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans* by pre

adaptation of microorganisms to arsenic up to 1.5%. In modified 9K medium pulp density was increased to 15% set as the optimal concentration. Finally the tests performed on a 12-liter reactor under controlled conditions showed that in a time of 21 days may obtain a 41.03% solubilization of arsenic, with an overall volumetric productivity of 29.31mg / Lh The results obtained suggest the need for studies on a pilot basis to determine the feasibility of implementing the bio-oxidation process with this type of mineral

Keywords: biooxidation; gold; arsenic.

RESUM

La biooxidació és una tecnologia alternativa per a l'aprofitament de minerals com ara el coure, or, plata i altres. Els minerals aurífers són en molts casos refractaris als tractaments tradicionals, i requereixen de condicions tecnològiques dràstiques, com ara la pirometal·lúrgia. La biooxidació es presenta com una alternativa neta davant aquestes condicions. No obstant això, els microorganismes presenten certes dificultats de desenvolupament quan es troben elements tòxics com ara l'arsènic, per la qual cosa l'objectiu d'aquest estudi va ser establir les possibilitats d'aplicar aquesta tecnologia en minerals amb alt contingut d'arsènic. Es va treballar amb un cultiu mixt: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* i *Leptospirillum ferrooxidans* realitzant una adaptació prèvia dels microorganismes a l'arsènic fins a 1.5%. En un medi de cultiu 9K modificat es va incrementar la densitat de polpa fins establir el 15% com la concentració òptima. Finalment les proves realitzades en un reactor de 12 litres en condicions controlades van demostrar que en un temps de 21 dies es podria obtenir un 41.03% de solubilització d'arsènic, amb una productivitat volumètrica global de 29.31mg/Lh. Els resultats assolits fan pensar en la necessitat de realitzar estudis a nivell pilot per definir la viabilitat d'aplicació del procés de biooxidació amb aquest tipus de mineral.

Paraules clau: Biooxidació; or; arsènic

*Autor para la correspondencia: nancy.garcia@ucuenca.edu.ec

INTRODUCCIÓN

El oro es un elemento que se encuentra generalmente asociado a especies mineralógicas tales como: pirita, arsenopirita, calcopirita, galena, etc. Cuando las partículas del metal no son muy finas, su extracción suele realizarse por amalgamación con mercurio, y posterior separación de este elemento por destilación. Las partículas finas en cambio, solo pueden ser extraídas ya sea mediante técnicas pirometalúrgicas, o hidrometalúrgicas.

La pirometalurgia tiene como objetivo quemar el azufre de los sulfuros, y oxidarlos a sulfatos, además de volatilizar elementos tales como el óxido de arsénico (III), óxido de antimonio (III) y zinc (Gilchrist, 1989)

La hidrometalurgia consiste en el tratamiento del material previamente molido, con una solución de cianuro de sodio que solubiliza el oro, el cual es recuperado por precipitación con zinc, no sin antes haber eliminado metales pesados como el hierro. El zinc se separa con ácido sulfúrico y se realiza un tratamiento con bórax, arena, e hidróxido de sodio para producir oro metálico (Pehlke, 1982)

La biooxidación de los minerales (Biohidrometalurgia) surgió hace aproximadamente treinta años, como un proceso alternativo en el pretratamiento de minerales refractarios. Las primeras aplicaciones tecnológicas estaban enfocadas a los minerales de cobre de baja ley, lo cual dio resultados exitosos (Quin et al., 2013), motivando las posteriores investigaciones para minerales auríferos.

La biolixiviación se produce por la catálisis que los microorganismos ejercen durante la disolución de algunas menas minerales. Los microorganismos usan el mineral como combustible aprovechando la transferencia de electrones para sus propios propósitos de supervivencia, y liberando metales sin requerir una aplicación externa de energía, al contrario de lo que hacen comúnmente los humanos en el ciclo de uso de los materiales. (Rodríguez et al., 2001)

A su vez los microorganismos, están influenciados por múltiples factores entre los que puede citarse la presencia de metales tóxicos como el arsénico. Varios estudios evidencian la adaptabilidad de los microorganismos a metales pesados (Barret et al., 1989; Douglas, 2005; Rawling, 2008) En la región austral del Ecuador, hay compañías que explotan minerales auríferos (básicamente pirita y arsenopirita), pero no cuentan con una tecnología apropiada para la extracción del oro, por lo que generalmente llegan a obtener el concentrado por flotación y lo venden en ese estado a empresas peruanas, recibiendo por ello precios muy bajos. Por lo que antecede, se planteó como objetivo general en este estudio: Establecer la factibilidad de aplicación de la biooxidación cuando se tienen niveles altos de arsénico en el mineral.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismos

Se utilizó para todas las experiencias un cultivo mixto formado por: *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Af) *Acidithiobacillus thiooxidans* (At) y *Leptospirillum ferrooxidans* (Lf) donado por la Universidad Católica de Valparaíso-Chile.

Medio de cultivo

Las pruebas se llevaron a cabo en medio 9K modificado (García, 1997) en el que se agregó el mineral en lugar del sulfato ferroso. El porcentaje de mineral (densidad de pul-

pa) se fue variando en forma progresiva: 5%, 10%, 15% y 20%

Mineral

Se utilizó para todas las pruebas un concentrado de flotación, donado por una compañía minera de la zona. El concentrado se sometió a varios lavados, para eliminar por completo los residuos de compuestos orgánicos utilizados en la flotación. La composición del mineral fue: arsénico 24%, hierro 31%, cobre 2.3%, oro 28.3 g/Ton, plata 125g/Ton.

Pruebas en matraces

Se realizaron en un shaker THERMO SCIENTIFIC a 35°C, 220rpm utilizando para ello matraces de 250ml en los que se colocó 50ml de medio de cultivo. Con control manual de pH ajustado a 2

Pruebas en reactor

Se usó un fermentador de vidrio de 12L, con control de temperatura y pH y una aireación controlada por rotámetro de 1vvm

Métodos analíticos

Determinación de pH

Se llevó a cabo en un pHómetro HANNA HI8424

Recuento celular

Se utilizó un microscopio marca Olympus. El recuento de células suspendidas en medio líquido se hizo en la cámara de Petroff Hausser.

Determinación de arsénico

El método analítico empleado para determinar arsénico fue el NIOSH 7082 (Lead by Atomic Absorption Spectrometry), que en resumen contempla el ataque ácido y completa solubilización de los metales, aforo a un volumen conocido, homogeneización y lectura en el equipo de absorción atómica (previamente calibrado empleando los patrones certificados por el NIST y dentro del rango lineal), utilizando las respectivas lámparas.

Metodología experimental

Se inició el trabajo en un medio sintético 9K (Silverman y Lundgren, 1959) en el que se fue aumentando progresivamente la concentración de arsénico. Cada prueba se llevó a cabo durante 15 días, con varias repeticiones, hasta detectar una curva de crecimiento adecuada de los microorganismos, así se llegó a establecer una concentración máxima de As de 1.5%. Con los microorganismos adaptados al 1.5% de arsénico, la siguiente actividad fue reproducirlos, para contar con una alta concentración de los mismos. Luego, se trabajó en matraces, con un medio de cultivo con mineral y se aumentó progresivamente la concentración de mineral de la siguiente manera: 5%, 10%, 15% y 20%, con la finalidad de adaptar a los microorganismos a los porcentajes crecientes de mineral (Vakylabad, 2011). Cada prueba se realizó durante un mes, por duplicado, y un blanco de referencia (en forma simultánea)

Una vez determinada que la densidad de pulpa más adecuada era 15%, se llevó a cabo las pruebas con mineral en un tanque agitado de 12 litros; en este caso, cada prueba duró 24 días, se realizó dos pruebas con mineral en las mismas condiciones y un blanco de referencia.

RESULTADOS Y DISCUSION

Pruebas en matraces con mineral

La Figura 1 muestra la cinética de crecimiento en cada una de estas pruebas. Las cinéticas de crecimiento obtenidas son bastante aparentes entre si, un análisis detallado de la Figura 1 permite ver que a pesar de que en la prueba de 5% se partió con una concentración mayor de microorganismos, la concentración final alcanzada a los 30 días es menor que en las otras pruebas (10% y 15%). En el caso de 20% de mineral, la situación es diferente, se nota un crecimiento normal de los microorganismos hasta los 9 días, luego de lo cual, se registra un crecimiento mínimo, esta prueba fue repetida con la finalidad de descartar cualquier error experimental, pero los resultados obtenidos fueron similares en todos los casos, lo que evidencia una inhibición en el crecimiento de los microorganismos. Se puede ver que a los 24 días en las pruebas de 5%, 10% y 15% los microorganismos entran en una fase prácticamente estacionaria, con un crecimiento posterior mínimo.

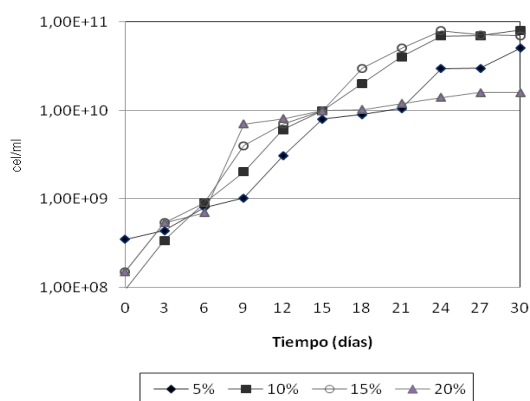


Figura 1. Cinética de crecimiento de los microorganismos en concentraciones progresivas de mineral en matraces de 250ml, 220 rpm, 35° C, pH 2

La Tabla 1 presenta las máximas velocidades de crecimiento alcanzadas por los microorganismos en el período de tiempo de 24 días, descartándose los datos de 27 y 30 días, ya que los microorganismos entran en fase estacionaria. Así mismo se puede apreciar los porcentajes de solubilización del As y las concentraciones de arsénico detectadas a los 24 días de proceso.

Las velocidades de crecimiento de los microorganismos (Tabla 1) muestran como en el caso del 5% existe una menor velocidad de crecimiento, lo que haría pensar que los microorganismos están creciendo bajo limitación de nutrientes, puesto que se realizó dos pruebas previas, con la finalidad de obtener un inóculo adaptado al 5% de mineral. Las velocidades obtenidas con 10% y 15% de mineral son bastante aproximadas, con lo que se podría considerar que se trata de un mismo valor

La velocidad de crecimiento con el 20% cae coincidentalmente al mismo valor (0.18 días⁻¹) obtenido con el 5%, con lo que se evidencia un efecto inhibitorio de una concentración alta de mineral. Otro aspecto que se observó con el 20% es la elevada velocidad inicial que presenta en los primeros 9 días, dando un valor calculado de μ de 0.46 días⁻¹ mucho más elevado que en los otros casos.

Las concentraciones de As alcanzadas en el medio (Tabla

1), muestran su incremento en los valores en las pruebas de 5%, 10% y 15%, y una considerable disminución en el caso del 20%, lo cual coincide con el hecho de que se registra una inhibición de crecimiento del microorganismo con este porcentaje de mineral, dicha inhibición parece tener relación con la presencia de ciertos elementos que se van solubilizando en el medio a partir del mineral (Baily et al., 1993) aunque algunos investigadores (Ly, 2005; Muravyov et al., 2008) han obtenido buenos resultados hasta con 20% de sólidos.

Analizando los porcentajes de disolución se puede ver que con el 10%, aunque la cantidad de arsénico es mayor, el porcentaje es menor que con el 5%, resultado curioso, que parece no obedecer a un error experimental de análisis, ya que las pruebas se realizaron por duplicado y los análisis de laboratorio de As son coincidentes.

Tabla 1. Velocidades máximas alcanzadas por los microorganismos en cada una de las pruebas en matraces, y niveles de solubilización de arsénico.

Prueba	Mineral (%)	μ_{max} (días ⁻¹)	As (mg/L)	% de As disuelto
Blanco	15	sin inóculo	1324.0	3.67
1	5	0.18	1332.5	11.10
2	10	0.27	1799.0	7.49
3	15	0.26	5664.0	15.73
4	20	0.18	2524.5	5.25

Pruebas en reactor con mineral

En la Figura 2 se puede establecer la cinética de solubilización del arsénico en las pruebas que se realizó por duplicado, con un 15% de densidad de pulpa; así como los niveles de arsénico detectados en el medio en la prueba de blanco de referencia.

Se puede observar la misma tendencia en ambas pruebas, en donde se registra un aumento progresivo de As en el medio, hasta el día 21 luego de lo cual, en ambos casos se ve una caída en el valor, probablemente debido a una reacción de precipitación y formación de un arsenato férrico (Escobar y Huenupi, 2000). En cuanto al blanco, éste se mantuvo en valores muy bajos, por lo cual se puede descartar que la presencia de arsénico se deba a una reacción de oxidación química, y no a la acción de los microorganismos. Si bien, las concentraciones de arsénico son bastante alentadoras, es importante señalar que son menores a las reportadas por otros autores que han trabajado con cultivos mixtos (Ossa y Márquez, 2005; Ly, 2005), pero superiores a resultados reportados utilizando un solo tipo de microorganismo (Acevedo et al., 1998)

La Figura 3 muestra la cinética de solubilización del arsénico expresado en valores promedio de las dos pruebas llevadas a cabo, así como la cinética de crecimiento de los microorganismos

La tendencia de la curva de crecimiento en una escala semilogarítmica es curiosamente la misma que se observa en la curva de solubilización del arsénico, lo que podría decirse que muestra la estrecha relación entre el desarrollo de los microorganismos y la degradación de la especie mineral. Las concentraciones de arsénico en el lixiviado llegan hasta 14,77g/L, a los 21 días luego de lo cual presenta una caída a los 24 días.

La Tabla 2 presenta los porcentajes de disolución del arsénico a través del tiempo así como los valores obtenidos en la prueba con el blanco de referencia, es decir en las mismas condiciones de operación, pero sin inocular los microorganismos.

Se llega a un máximo de 41.03% a los 21 días, lo cual equivale a una concentración máxima de 14.77 g/L de arsénico en el medio. Se estaría validando el proceso de adaptación en el cual la concentración máxima de arsénico que soportaron los microorganismos se registró en 15g/L de As.

El porcentaje de disolución, es significativamente mayor al obtenido en las pruebas con matraces en donde se llegó a un porcentaje máximo de 15.73%, esto significaría que el reactor tanque agitado resulta mucho más eficiente para el proceso, probablemente la agitación mecánica y la aireación que crean gran turbulencia, facilitan el contacto de los microorganismos con las partículas de mineral; se puede asegurar esto porque los microorganismos tienen una velocidad de crecimiento de 0.259 días⁻¹, prácticamente el mismo valor obtenido en matraces, esto indica que no hay variación en la velocidad de crecimiento, y en ningún caso los microorganismos están creciendo bajo condiciones de limitación de oxígeno o nutrientes.

La productividad volumétrica global de As es de 29.31mg/L.h, valor muy inferior al reportado por otros autores a escala industrial (Ly, 2005; Dew, 1995) aunque cae dentro del rango de valores reportados por algunos autores a escala de laboratorio (Haddadin et al., 1995; González et al., 1999). A simple vista, no parecería ser un proceso rentable, por los tiempos de procesamiento muy prolongados, pues, a escala industrial se reportan tiempos de residencia entre 5 y 7 días.

Siendo la biooxidación un fenómeno complejo, no es extraño que se reporten resultados diversos en función de variables tales como el tipo de mineral, las condiciones operacionales y otros (Acevedo y Gentina, 2005; Olson et al., 2003, Quin et al., 2013)

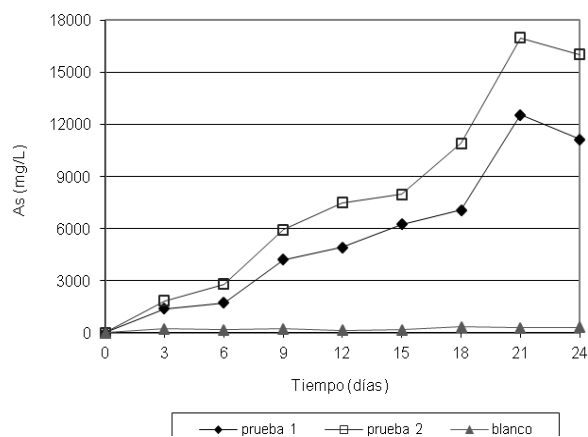


Figura 2. Cinética de disolución de arsénico en las pruebas en reactor de 12L, y su comparación con el blanco. 120 rpm, 35° C, 1vvm.

Tabla 2. Porcentaje de solubilización de arsénico en reactor de tanque agitado de 12L, 120 rpm, 35° C, 1vvm.

Tempo (días)	% As (pruebas)	%As (blanco)
0	0	0
3	4.5	0.63
6	6.31	0.46
9	14.14	0.61
12	17.22	0.41
15	19.75	0.47
18	24.97	0.94
21	41.03	0.83
24	37.70	0.87

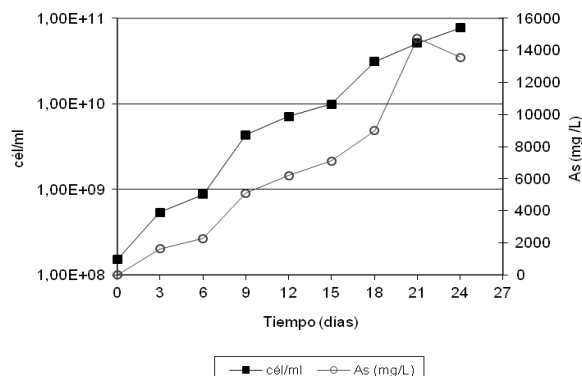


Figura 3. Cinética de crecimiento de los microorganismos en comparación con la cinética de solubilización del arsénico en reactor de 12L, 120rpm, 35° C, 1vvm.

CONCLUSIONES

Los microorganismos son capaces de adaptarse a concentraciones progresivas de arsénico hasta ciertos límites, luego de lo cual se manifiesta un efecto inhibitorio.

Las cinéticas de crecimiento de los microorganismos guardan una estrecha relación con la solubilización del arsénico en el medio.

Las cinéticas de solubilización del arsénico evidencian una actividad microbiana eficiente en el proceso de biooxidación, sin embargo los tiempos requeridos en dicho proceso resultan muy largos a nivel de laboratorio y no serían eficientes a nivel industrial, por lo que se hace necesario realizar estudios a nivel piloto, para llegar a establecer de forma contundente la factibilidad de aplicación de esta tecnología, con este tipo de mineral.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado en el Centro de Estudios Ambientales de la Universidad de Cuenca, con el financiamiento de la Dirección de Investigación (DIUC). Por lo que las autoras agradecen a estas Instituciones.

BIBLIOGRAFIA

1. Acevedo, F. y Gentina, J. C. (2005). Biolixiviación de minerales de cobre. pp 45-61. En: F. Acevedo, J. C. Gentina (Eds). Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras. Universidad Católica de Valparaíso. Chile.
2. Acevedo, F., Gentina, J.C., and García, N. (1998). CO₂ supply in the biooxidation of an enargite-pyrite gold concentrate. *Biotechnol. Lett.* Vol 20. **3**:257-259
3. Baily, A. D. and Hansford, G. S. ((1993). Factors affecting bio-oxidation of sulfide minerals at high concentrations of solids: a review. *Biotechnology and Bioengineering.* **42**: 1164-1174
4. Barret, J., Ewart, D. K., Hugué, M. N., Nobar, A. M., and Poole, R. K. (1989). The oxidation of arsenic in arsenopyrite: the toxicity of As (III) to moderately thermophilic mixed culture. pp49-57

-
5. Dew, D. W. (1995). Comparison of performance for continuous bio-oxidation of refractory gold ore flotation concentrates. pp 239-251. In: T. Vargas, C. Jerez, J. Wiertz and H. Toledo (Eds). Biohydrometallurgical Processing. Vol 1, University of Chile. Santiago.
 6. Douglas, E. R. (2005). Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates. Biomed Central. pp1-15.
 7. Escobar, B. and Huenupi, E. (2000). Arsenic precipitation in the bioleaching of enargite by *Sulfolobus* BC at 70 oC. In: es Godoy & Jacques V. Wiertz Biotechnology Letters **22**: 205-209
 8. García, N. (1997). Efecto del CO₂ en la biooxidación de concentrados refractarios de oro con alto contenido de enargita. Tesis de Magister. Universidad Católica de Valparaíso. Chile.
 9. Gilchrist, J. D. (1989). Extraction Processes. P441. In: Extraction procedures 3th edition. Oxford: BPC Wheatons Ltd..
 10. González, R., Gentina, J. C. and Acevedo, F. (1999). Attachment behaviour of *Thiobacillus ferrooxidans* cells to refractory gold concentrate particles. Biotechnology Letters 21: 715-718
 11. Haddadin, J., Dagot, C. and Fick, M. (1995). Models of bacterial leaching. Enzyme Microbiology Technology. **17**: 290-305
 12. Ly, M. E. (2005). Biooxidación de concentrados refractarios de arsenopirita en tanques agitados: experiencia industrial en Tamboreque. Perú. pp 93-105. En: F. Acevedo, J. C. Gentina (Eds). Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras. Universidad Católica de Valparaíso. Chile. Valparaíso.
 13. Muravyov, T. A., Pivovarova, T. P., Tuorova, A. G. (2008). Identification of the dominant bacterium of two stage biooxidation of gold-arsenic concentrate. In: Microbiology. Vol. 79, No. 3, pp. 342-348. © Pleiades Publishing, Ltd..
 14. Olson, G. J., Brierley, J. A., Brierly, C. L. (2003). Bioleaching review. *Applied Microbiology Biotechnology* **63**:249-257
 15. Ossa, D., Márquez, M. (2005). Biooxidación de sulfuros mediante cepas nativas de acidófilos compatibles con *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Y thiooxidans. Mina de oro El Zancudo. Colombian Biotechnology. Vol 7. **2**: 55-66
 16. Pehlke, R. D. (1982). Unit processes of extractive metallurgy. P 193. 5th edition. New York: Elsevier North Holland Publishing Co..
 17. Quin, W., Ynag, C., Lai, S., Wang, J., Liu, K., Zhang, B. (2013) Bioleaching of chalcopyrite by moderately thermophilic microorganisms. *Bioresource Technology*. 129. 200-208
 18. Rawlings, D. E. (2008). High level of arsenic resistance in bacteria present in biooxidation tanks used to treat gold-bearing arsenopyrite concentrates: A review. Elsevier. Vol 18: 1311-1318
 19. Rodríguez, I., Blázquez, M. L., Ballester, A., González, F., Muñoz, J.A. (2001). La biolixiviación al comienzo del siglo XXI. *Rev. Metal*. 37. 617-627
 20. Silverman, M.P. and Lundgren, D.G. (1959). Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Bacteriol.* **77**: 642-647
 21. Vakylabad, A. B., (2011). A comparison of bioleaching ability of mesophilic and moderately thermophilic culture on copper bioleaching from flotation concentrate and smelter dust. *International journal of mineral processing*. 101 (2011) 94-99