

# MINERALOGÍA DEL PROCESO DE BIOOXIDACIÓN DE PIRITA PARA LA RECUPERACIÓN DE ORO

## PYRITE BIOOXIDATION'S MINERALOGY PROCESS TO GOLD RECOVERY

<sup>1</sup> Docente, Grupo de Investigación GARPE e IDEOGRAMA.

Coordinación de Investigación, Área de Mecánica.

<sup>2</sup> Docente, Grupo de Investigación IDEOGRAMA. Coordinación de Investigación, Área de Producción.

<sup>3</sup> Grupo de Investigación IDEOGRAMA. Coordinadora Semillero concepto.

<sup>4</sup> Docente, Grupo de Investigación en Gestión Ambiental, Área de Mecánica.

<sup>1,2,3,4</sup> Institución Universitaria Pascual Bravo - AA 6564. Medellín, Colombia

<sup>5</sup> Grupo de Mineralogía Aplicada y Bioprocesos (GMAB), Universidad Nacional de Colombia, Medellín AA 1027, Colombia.

<sup>1a</sup> Juan David Ospina Correa, <sup>2b</sup> Erica Mejía Restrepo, <sup>3a</sup> Laura Osorno Bedoya, <sup>4a</sup> Jim Giraldo Builes,

<sup>5a</sup> Marco Antonio Márquez Godoy.

### RESUMEN

Una muestra de concentrados de pirita, proveniente del sector minero de Marmato, Caldas (Colombia), con dos distribuciones de tamaño de partícula, pasante malla Tyler 200 y 325, se sometió a un proceso de biooxidación con *A. ferrooxidans* ATCC 23270. Las transformaciones mineralógicas que ocurrieron durante el proceso se monitorearon mediante el uso de microscopía electrónica de barrido (SEM/EDS), espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) y análisis químico. Los resultados experimentales mostraron que la lixiviación de hierro fue alrededor de 8 % (p/v) para ambas mallas y solo menos del 1 % (p/v) para los controles abióticos. El mecanismo de disolución de la pirita conlleva una continua liberación de H<sup>+</sup> al medio, lo cual se ve reflejado en la disminución del pH durante el proceso, 1,25 para la malla Tyler 200 y 1,05 para la malla Tyler 325. El potencial redox alcanza valores de 580 mV para la malla Tyler 200 y 530 mV para la malla Tyler 325 (vs Ag<sup>+</sup>/AgCl), sin implicar esto un estado avanzado de oxidación del mineral. Espectros de FTIR sugieren jarosita como principal producto de la oxidación del mineral.

### PALABRAS CLAVES:

Potencial redox, *A. ferrooxidans*, bioprocesos, SEM/EDS, FTIR

### ABSTRACT

A solid pyrite concentrate sample from Marmato (Caldas-Antioquia) submitted to biooxidation process with *A. ferrooxidans* ATCC 23270 using two distribution sizes, 200 and 325 Tyler mesh. The Mineralogical transformations that took place during the process were tested by Scanning Electron Microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM/EDX), Fourier Transform Infrared (FTIR) and chemical test. For both 200 and 325 Tyler mesh the iron lixiviation was about 8% (w/v) and lower than 1% (w/v) for the uninoculated controls. Pyrite's dissolution mechanism generates continuously release of H<sup>+</sup> to the solution. This implied a lower pH, near to 1,25 for 200 Tyler mesh and 1,05 to 325 Tyler mesh. The redox potential reached a maximum of 580 mV for the 200 Tyler mesh and 530 mV for the 325 Tyler mesh (vs. Ag<sup>+</sup>/AgCl). However, it could not indicate a high mineral oxidation state. FTIR spectra showed jarosite as principal process's product.

### KEYWORDS:

Redox potential, *A. ferrooxidans*, SEM/EDS, FTIR.

## 1. INTRODUCCIÓN

La oxidación de la pirita,  $\text{FeS}_2$ , sulfuro metálico más abundante sobre la superficie terrestre, es una de las principales causas de la generación de drenajes ácidos en minería (Kirby & Elder Brady, 1998; Johnson & Hallberg, 2005; Luptakova & Kusnierova, 2005), este proceso es fuertemente influenciado por la presencia de comunidades microbianas (Rawlings & Johnson, 2007). Entre las especies microbianas más estudiadas en los ambientes de minería están las especies quimiolitotróficas, hierro oxidantes, como *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Rawlings, 2001; Meruane & Vargas, 2003; Karavaiko et al., 2003), *Leptospirillum ferrooxidans* (Rawlings et al., 1999; Vardanyan & Akopyan, 2003; Harnett et al., 2006) y azufre oxidantes del género *Acidithiobacillus thiooxidans* (Suzuki et al., 1999). *A. ferrooxidans* es catalogado como el principal protagonista en la oxidación de la pirita (Murphy & Strongin, 2009). La oxidación de los iones  $\text{Fe}^{2+}$  en sistemas ambientales abióticos muestran una cinética lenta comparada con las velocidades de oxidación ante la presencia de *A. ferrooxidans*, la literatura internacional concuerda en que los valores pueden alcanzar órdenes de magnitud de  $10^6$  veces mayor comparados con ambientes abióticos (Murphy & Strongin, 2009).

Además de la presencia de microorganismos en los ambientes mineros, el mecanismo de disolución de

la pirita, gobernado fundamentalmente por su micro estructura y la correspondiente salida de  $\text{Fe}^{3+}$  a la solución, está determinado por la adherencia de *A. ferrooxidans* a la superficie del mineral, ya sea mediante el uso de películas poliméricas extracelulares (Sand et al., 1995) ó mediante enlaces directos con la superficie de la pirita (Silverman, 1967), lo que marca la diferencia en las cinéticas de oxidación entre los ambientes bióticos y abióticos antes mencionados (Murphy & Strongin, 2009).

Fowler et al. (1999, 2001) demostraron que el orden de reacción de los iones férricos en solución es el mismo con y sin bacterias, sin embargo con referencia a los  $\text{H}^+$ , el orden de la reacción es de -0,5 y -0,4 en ausencia y presencia de bacterias respectivamente; esto les permitió concluir que la actividad de *A. ferrooxidans* al interior de películas extracelulares conlleva un consumo de protones, generando un incremento del pH en las inmediaciones de las regiones de adherencia celular. En este escenario, un aumento del pH en la solución lixiviante, podría favorecer la velocidad de disolución del mineral (Fowler et al., 2001).

También, se ha documentado el aumento de la cinética de disolución de la pirita debido a la acción de iones  $\text{Fe}^{3+}$  en tanques agitados para potenciales redox  $\pm 620$  mV vs  $\text{Ag}^0/\text{AgCl}$  (Blight et al., 2000), sin embargo, los potencial redox alcanzados en algunos procesos a escala de laboratorio y procesos a escala industrial, cercanos a los 500-540 mV vs.  $\text{Ag}^0/\text{AgCl}$  no pueden explicar los estados avanzados de oxidación observados solo en térmicos del par  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  medidos en la solución (Blight et al., 2000).

El propósito de este trabajo fue definir cambios de fase y morfológicos en la pirita, asociados a la actividad oxidativa de *A. ferrooxidans* ATCC 23270 empleando dos tamaños de partícula, 200 y 325 malla Tyler bajo condiciones in vitro.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de pirita fueron obtenidas del sector minero de Marmato- Caldas (Colombia). El mineral fue sometido a un proceso de molienda en mortero de ágata y luego tamizado con el objetivo de garantizar dos distribuciones de tamaño de partícula pasante malla Tyler 200 ( $\sim 75\mu\text{m}$ ) y pasante malla Tyler 325 ( $\sim 45\mu\text{m}$ ). Luego, el mineral fue esterilizado por 90 minutos en un horno eléctrico a  $80\text{ }^\circ\text{C}$ . La caracterización mineralógica inicial fue hecha mediante difracción de rayos-X (DRX), espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) y microscopía electrónica de barrido con analizador de estados sólidos tipo EDS (SEM/EDS).

Los microorganismos empleados en este trabajo fueron *A. ferrooxidans* ATCC 23270. La adaptación de *A. ferrooxidans* fue realizada en medio T&K modificado (Tuovinen & Kelly, 1973), disminuyendo gradualmente la fuente de energía, sulfato ferroso, y aumentando el porcentaje en peso de mineral como fuente alterna de energía. El pH del medio se ajustó a 1,8 con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1N. Los experimentos de biooxidación se llevaron a cabo en erlenmeyer de 500 ml, con 300 ml de medio T&K modificado estéril a 15 psi por 30 min, conteniendo 30 g de mineral. Cada erlenmeyer se inoculó con 10% (v/v) de cultivo con una población bacteriana,  $10^7$  cel.mL<sup>-1</sup>, contadas en cámara de Neubauer. Los controles abióticos se les adicionó el inculo esterilizado en autoclave a 15 psi por 30 min. Todos los experimentos se corrieron por duplicado.

Los erlenmeyer fueron incubados a 180 rpm y  $30\text{ }^\circ\text{C}$  en un agitador orbital. Después de 24 horas de iniciado el proceso y luego durante cada cinco días por un periodo de 30 días, se tomó una muestra representativa de 15 ml de cada erlenmeyer, ésta fue centrifugada a 4000 rpm durante 15 minutos en un equipo marca DIAMOND/IEC DIVISION CU-5000, con el fin de separar la fase líquida de la fase sólida. La concentración de hierro ferroso, férrico y hierro total en la fracción líquida fue medida mediante el uso de un espectrofotómetro UV-visible GENESYS™ 10 usando el método de la 1,10'-fenatrolina (Standard Methods, 1999).

Con la fracción sólida se obtuvieron imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM), se elaboraron secciones pulidas del mineral tratado y se llevaron hasta pulido fino de  $0,05\ \mu\text{m}$ . Las imágenes de SEM fueron tomadas en un equipo marca JEOL JSM 5910 LV, con detector de estado sólido tipo EDS marca OXFORD para los análisis micro químicos. Algunas imágenes de SEM fueron tratadas mediante tratamiento digital de imágenes con la ayuda del software Image Pro-Plus para medir espesores de películas y patrones de corrosión. Espectros de FTIR fueron tomados en un equipo marca Shimadzu Advantage 8400, modo de transmitancia, con un total de 20 scans por muestra, resolución espectral de  $4\ \text{cm}^{-1}$  y un rango de barrido entre  $400 - 4000\ \text{cm}^{-1}$ , con apodización Happ-Henzel.

### 3. CARACTERIZACIÓN MINEROLÓGICA INICIAL

#### RESULTADOS



*Figura 1. En la figura 1 se puede apreciar imágenes de microscopía óptica de luz plana polarizada, modo luz reflejada (MOLPP/LR), para granos individuales de pirita (Py) con pequeñas inclusiones y fases acompañantes. (A) cristales anedrales de pirita con textura porosa y fracturada con pequeñas inclusiones de calcopirita (Cpy) y material de la ganga (material gris). (B) cristal anedral de pirita con inclusiones de esfalerita (Sph) al borde del grano y granos de la ganga intercrecidos con los cristales de pirita. (C) cristales eudrales de pirita con una textura muy poco fracturada y sin poros; se observan cristales de pirita crecidos dentro de material de la ganga.*

El grado de liberación de la pirita fue bastante alto (>90%), evidenciado por la observación predominante de granos mono-minerálicos. Además como una característica importante se puede anotar que en la observación al microscopio óptico no se observó la presencia de granos de oro libres o como inclusiones en los sulfuros presentes en el concentrado o en la ganga, sugiriendo la presencia de oro invisible en el concentrado de la mina. Con base en observaciones de secciones pulidas al microscopio óptico de luz plana polarizada, modo luz reflejada, método de conteo de puntos norma ASTM D 2799, 2009, se constató que las fases minerales predominantes, luego del proceso de concentración gravimétrica, fueron pirita (>90%), esfalerita (3%), galena (2%), calcopirita (2%) y cuarzo.

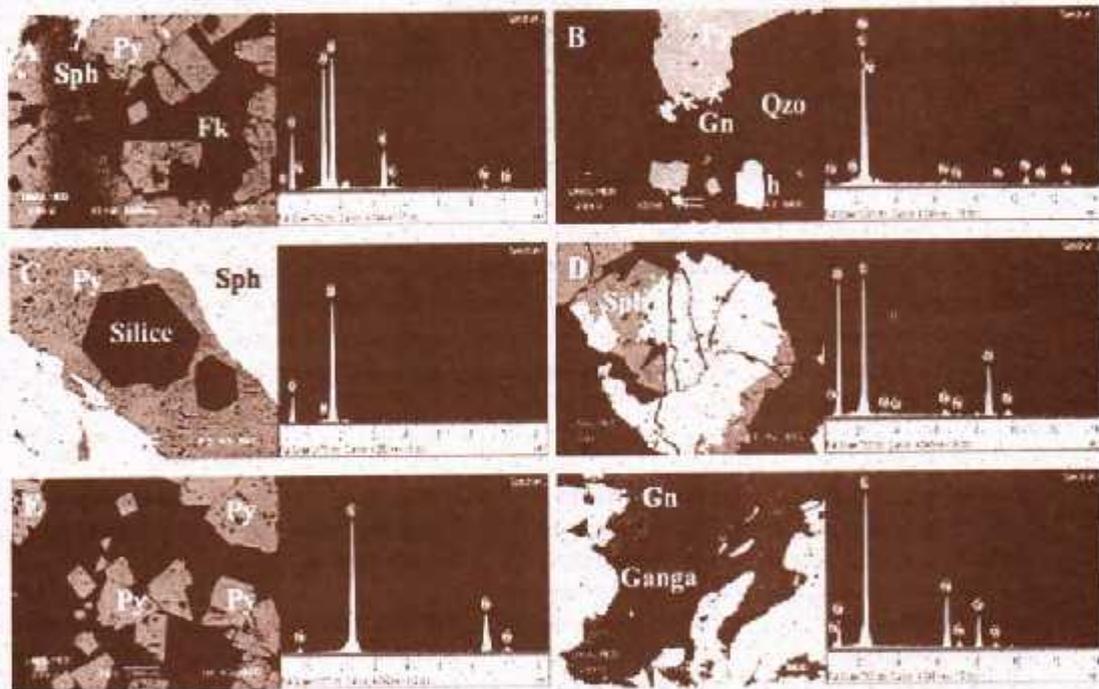
Las muestras, representativas del volumen de mineral a ser tratado por oxidación biológica, se observaron al SEM, figura 2, para tener una caracterización completa de los minerales

acompañantes del sulfuro de interés y poder interpretar los resultados de la oxidación desde un ámbito global.

De acuerdo a los análisis micro químicos realizados con SEM/EDX, figura 2, las proporciones de hierro y azufre, en promedio, varían entre 38 y 62 % atómico. Los granos de pirita mostraron pequeñas inclusiones de calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ), esfalerita disease ( $\text{ZnS}$ ), galena ( $\text{PbS}$ ), feldespato potásico ( $\text{Si}_3\text{O}_8\text{AlK}$ ), algunos óxidos de hierro, sílice y cuarzo. Algunos granos de pirita incorporaron hasta 0,5 % atómico de arsénico, aunque las proporciones de estos elementos en solución sólida son bajas, éstos también podrían haberse lixiviado durante el proceso de disolución del concentrado. Con base en los análisis micro químicos realizados al concentrado y realizando un re-cálculo en términos de las proporciones atómicas se calculó que la cantidad de hierro presente en solución para un 100% de biooxidación sería de aproximadamente 41.38 g/L.

Los difractogramas de rayos-X de las muestras molidas a pasante malla Tyler 200 y 325, figura 3, como material de partida para el proceso de biooxidación fueron identificados como minerales principales: pirita cúbica, galena cúbica, arsenopirita monoclinica, esfalerita cúbica y calcopirita tetragonal, siendo la pirita la

fase cristalina predominante en ambos concentrados, sin embargo la arsenopirita estuvo presente en mayor proporción en la malla Tyler 325. Los minerales de la ganga identificados fueron: silicatos - cuarzo.



*Figura 2. Imágenes de SEM/EDS, modo de electrones retro proyectados (BEC) para granos individuales de pirita (Py) con pequeñas inclusiones y fases acompañantes. (A) cristales eudral, subedrales y anedrales de Py, acompañado de pequeñas inclusiones de esfalerita (Sph), donde se observó una textura porosa, bordes definidos y perfilados. (B) cristales subedral de Py, donde se observó su intercrecimiento en una matriz de ganga, cuarzo. (C) cristal de Py en una fractura de esfalerita e intercrecido con un cristal hexagonal de silice. (D) cristal de Py anedral, muy fracturado y con intercrecimientos de esfalerita al interior del grano y al borde del mismo. (E) cristales eudrales y subedrales de Py en una matriz de ganga (F) cristales de Py con intercrecimiento de galena y esfalerita inmersos en una matriz de cuarzo.*

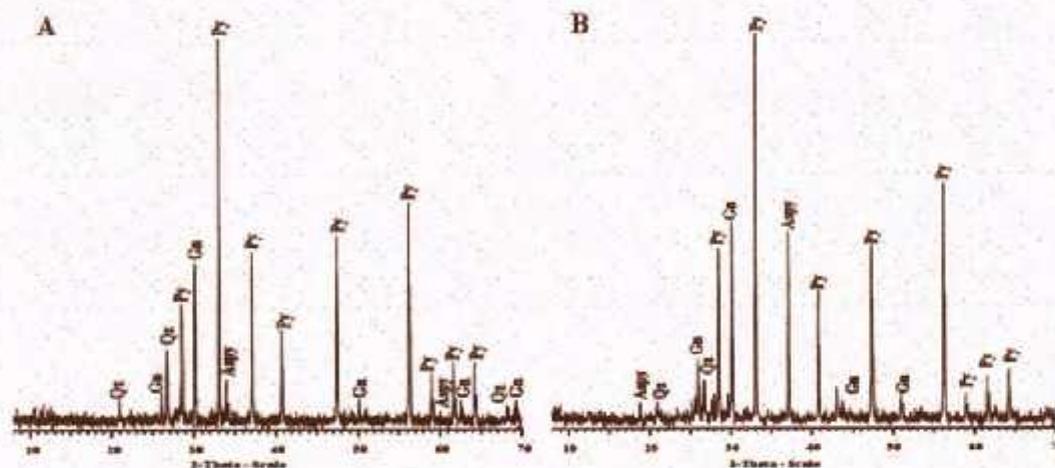


Figura 3. Difractogramas de rayos-X para las muestras molidas de pirita. A) malla Tyler 200. B) malla Tyler 325. Donde Pirita (Py) cuarzo (Qz) y arsenopirita (Aspy) con pequeñas cantidades de galena (Gn).

#### 4. ANÁLISIS QUÍMICOS

Los valores de pH para los tratamientos de biooxidación con *A. ferrooxidans* para la malla Tyler 200, figura 4, decrecieron hasta alcanzar valores de -1,2. El potencial de óxido reducción (eH), fue relativamente alto durante todo el proceso -590 mV y este comportamiento se mantuvo hasta el día 20 donde inicia su proceso de decaimiento paulatino hasta llegar a valores de -460 mV. Para la malla Tyler 325, los valores de pH presentaron un pequeño incremento en las etapas tempranas del proceso, desde 1,8 a 2,03 para luego presentar un rápido descenso durante todo el proceso hasta llegar a valores de -1,08. Aunque las tendencias fueron similares para los dos tamaños de partícula, la malla Tyler 325 alcanzó mayores niveles de acidez en pequeños

intervalos de tiempo. El potencial redox para la malla 325, presentó un comportamiento similar, en dinámica, al de la malla Tyler 200, sin embargo los valores alcanzados no fueron tan altos, -540mV, posiblemente porque los altos niveles de acidez alcanzados pueden generar cierto grado de estrés en los microorganismos. Estos valores de Eh indican que las bacterias presentaron una buena actividad oxidativa y respondieron favorablemente a las etapas de adaptación (Prayuenyong, 2002; Ballester, 2005). Además se observa una disminución en el potencial para los dos tamaños alrededor del día 20, lo que coincide con el comienzo de la fase de muerte celular de *A. Ferrooxidans* figura 4.

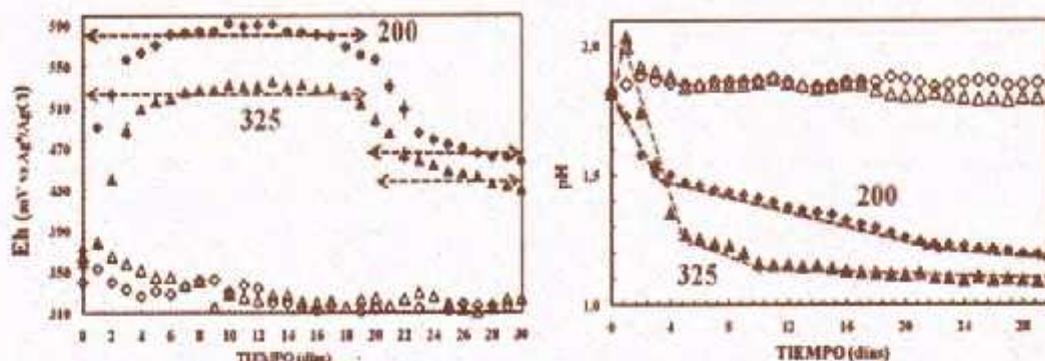


Figura 4. Cambios en el potencial redox (gráfico izquierdo) y en el pH (gráfico derecho) durante el proceso de disolución oxidativa de la pirita en la presencia de *A. ferrooxidans*. Símbolos:  $\blacklozenge$  y  $\blacktriangle$  pirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente.  $\diamond$  y  $\triangle$  controles abióticos de las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente.

Las variaciones en las concentraciones de hierro total disuelto ( $Fe_{total}$ ) y crecimiento de microorganismos no adheridos al sustrato mineral se muestran en la figura 5. Las curvas de concentración celular para las mallas Tyler 200 y 325 presentan una velocidad de crecimiento sin diferencia significativa entre ellas. Este resultado implica que el tamaño de partícula no afectan la velocidad de crecimiento de los microorganismos y que la pirita con mayor área superficial, malla Tyler 325, no mejoró la velocidad de crecimiento, ni la disminuyó, sugiriendo, también, que el proceso de adherencia a este material no es un paso determinante durante el proceso de disolución del mineral.

Luego de 24 horas de iniciado el proceso, la concentración de hierro ferroso, figura 6, indicativo indirecto del Eh y, por lo tanto, de la cinética de crecimiento bacteriano en solución, para la malla Tyler 200 fue de  $107 \text{ mgL}^{-1}$ , y para la malla Tyler 325 fue de  $510 \text{ mgL}^{-1}$ , lo que implica cinco veces la cantidad de ferroso en solución para la malla Tyler 325, sugiriendo una mayor disolución solo por el tamaño de partícula y un menor potencial redox. Este comportamiento mantuvo esta dinámica hasta el día 21 donde se incrementa la concentración del ion ferroso alcanzando valores de  $1593$  y  $1260 \text{ mgL}^{-1}$  para las mallas Tyler 200 y 325, respectivamente, y justamente para este punto la población bacteriana inicia su proceso de declive celular.

El comportamiento del hierro férrico en solución, para la malla Tyler 200 fue de  $410 \text{ mgL}^{-1}$ , y para la malla Tyler 325 fue de  $210 \text{ mgL}^{-1}$ , luego de 24 horas de iniciado el proceso, figura 7. Para el día 21 del proceso las concentraciones de ambas mallas presentaron casi el mismo valor  $3500 \text{ mgL}^{-1}$  y a partir de ese momento inicia su declive hasta el día 30 donde las concentraciones alcanzadas fueron de  $1984$  y  $2350 \text{ mgL}^{-1}$  para las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. Al comparar en el día 21 las concentraciones de ferroso y férrico se observó un punto de inflexión, que sugiere un comportamiento particular en el proceso, para ese momento inicia el proceso de disminución en la concentración celular y posiblemente el proceso de disolución catalizado por los microorganismos finalizó.

De la figura 6 se puede observar la alta interrelación que hay entre la actividad bacteriana y las curvas de potencial redox, pH y hierro en solución, pero es importante anotar que pese a que las condiciones para la disolución del mineral estaban dadas, el sistema no logró disolver el mineral, lo que le da al microorganismo un papel aun más relevante en estos procesos, ya que el papel fundamental de las bacterias no es solo catalizar procesos, sino que también son catalizadores que dependen del sustrato evaluado y las condiciones dadas.

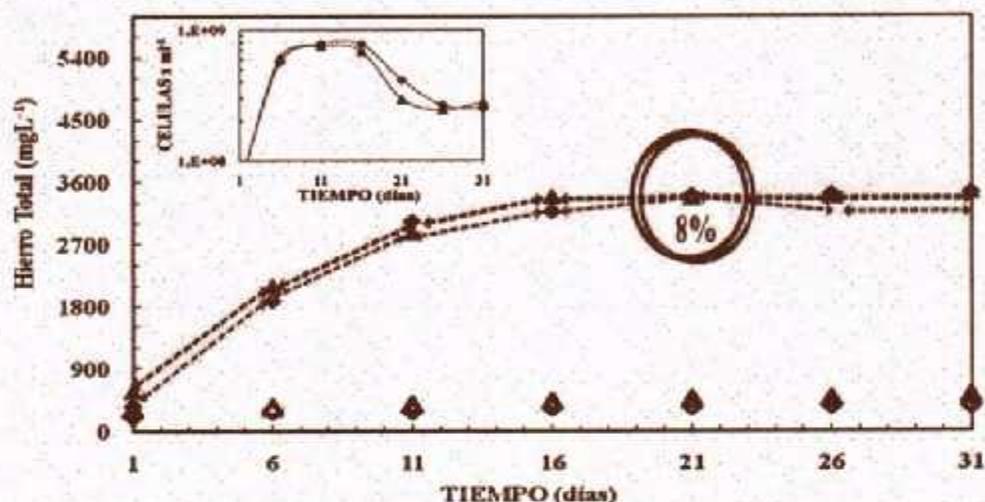


Figura 5. Concentración de hierro total (gráfico externo) y curva de concentración celular (gráfico interno) para *A. ferrooxidans*. Símbolos: ● y ▲ arsenopirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ○ y △ controles abióticos las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente.

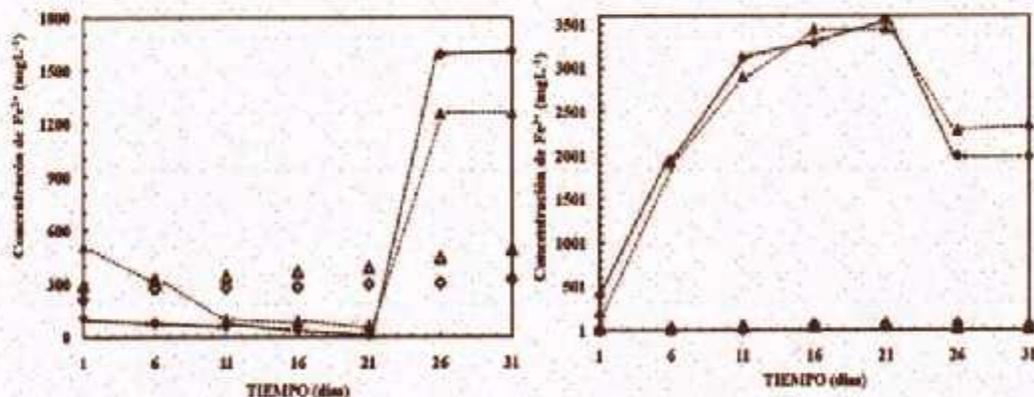


Figura 6. Concentración de hierro ferroso (gráfico izquierdo) y concentración de hierro férrico (gráfico derecho) para el proceso de disolución de la pirita por *A. ferrooxidans*. Símbolos: ● y ▲ pirita malla Tyler 200 y 325 respectivamente. ○ y △ controles estériles las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente.

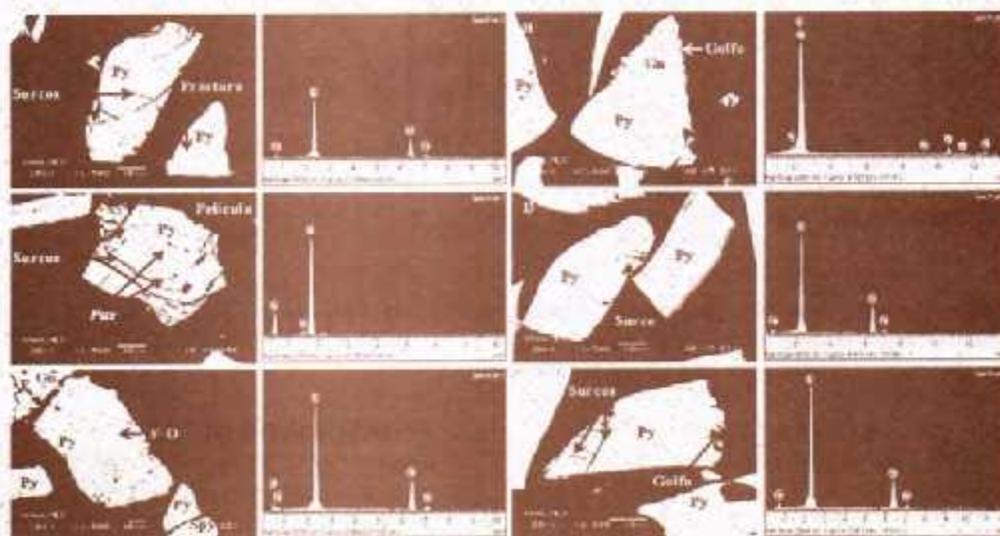
Caracterización mineralógica durante el proceso Microscopía electrónica de barrido (SEM/EDS).

Para los 5 primeros días del proceso se puede observar que la oxidación del sustrato malla Tyler

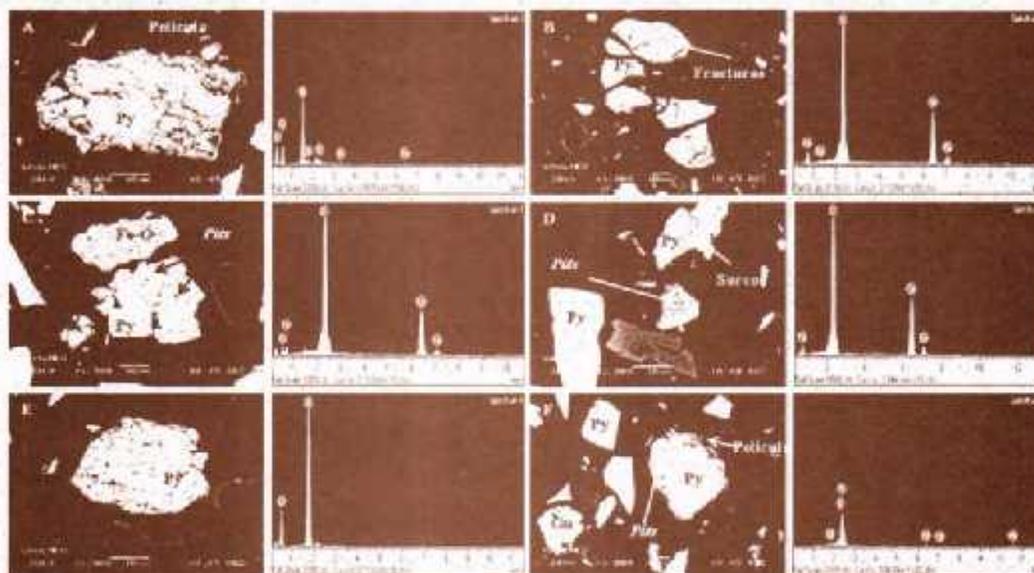
200 no fue marcada, pues como puede verse en la figura 7, se observó pocos golfos y pits de corrosión. También, se observó que la mayoría de los granos conservaban bordes bien definidos. Fue posible observar minerales que, como la galena, presentaron estados avanzados de

oxidación por pares galvánicos. Sobre algunos granos de pirita se observó la formación de óxidos de hierro. Para el sustrato malla Tyler 325, figura 8, a pesar de que los patrones de oxidación son similares a los observados en la malla Tyler 200, la cantidad de material con signos claros de oxidación fue mayor y el proceso de oxidación fue más definido y claro. Esto también se pudo apreciar en las curvas de potencial de oxido reducción y pH. Adicionalmente, fue evidente que los granos de menor tamaño presentaron mayor disolución, lo que puede ser respaldado por las curvas de disolución de hierro obtenidas para esta distribución de tamaños de partículas, donde en las etapas tempranas, y posiblemente debido a la mayor área superficial expuesta, hubo mayor disolución de hierro. Para el día 30 del proceso, en la malla Tyler 200, figura 9, la gran mayoría de los granos de pirita presentaron señales del proceso de disolución como golfos marcados de disolución, pits de corrosión en la mayoría de los granos y surcos. Como característica principal, fue difícil encontrar películas recubriendo granos, generalmente los productos de oxidación se

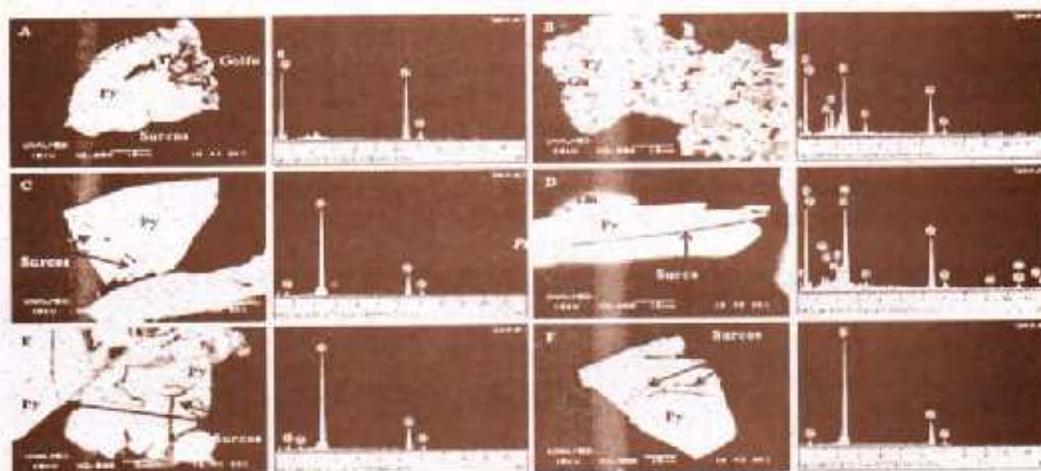
encontraron como agregados aislados. Los surcos (flechas) de oxidación, los cuales pueden ser interpretados como oxidación preferencial a lo largo de zonas energéticamente más favorables, se transformaron en gran medida en golfos de corrosión. Las imágenes a nivel general muestran un estado poco avanzado de oxidación superficial. Cabe anotar que, para esta última etapa del proceso, las condiciones de pH en el sustrato eran de -1.2 mientras que el Eh -470mV; sugiriendo un entorno oxidativo con un potencial medio-alto. Las películas de óxidos de hierro dejaron de ser tan evidentes y comunes como lo fueron en las etapas tempranas del proceso. También, se observaron agregados individuales de jarosita. Para el día 30 del proceso y la malla Tyler 325, figura 10, se pudo observar un estado de oxidación más avanzado comparado con la otra distribución de tamaños, mostrando la formación de surcos más prolongados y golfos de corrosiones de mayor tamaño. Las figuras 11 y 12 muestran los controles abióticos para el día 30 del proceso. En las imágenes no se aprecian cambios drásticos en el mineral.



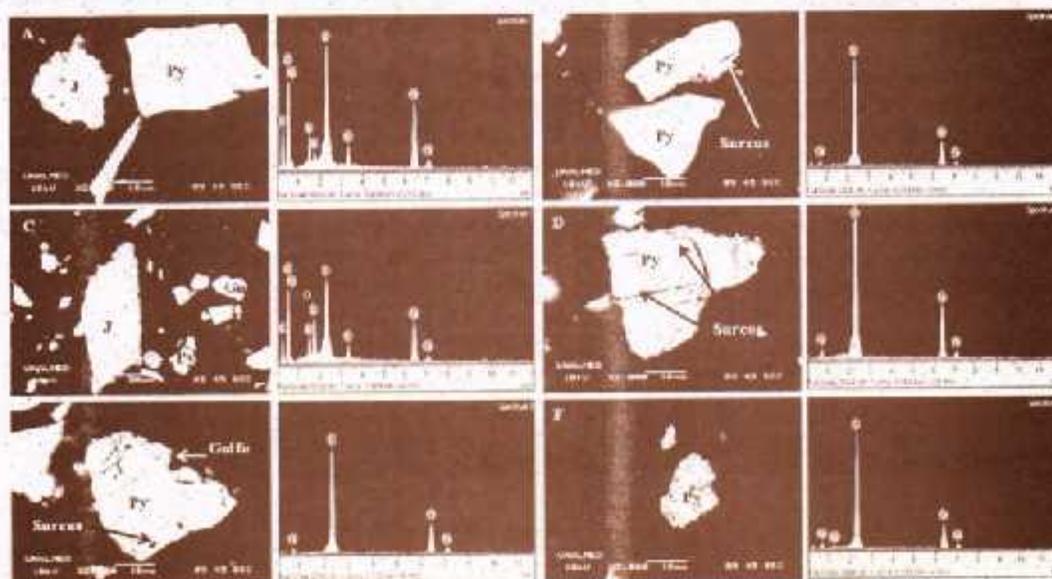
*Figura 7. Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 200, donde se observó granos individuales de mineral después de cinco días de iniciado el proceso. (A) se aprecia un grano de pirita (Py) fracturado, con algunos golfos de corrosión, los EDS no muestran la formación de películas superficiales. (B) imagen donde se muestra un efecto galvánico entre un cristal de Py y un cristal de galena (Gn), donde el mineral disuelto fue este último. (C) Cristal de Py subedral con una amplia gama de pits y surcos de corrosión. (D) Cristales cúbicos de pirita sin signos marcados de corrosión. (E) Cristal subedral de pirita en donde se manifiesta la formación de una película de óxido de hierro. (F) Cristal de Py donde se inicia la formación de golfos de corrosión.*



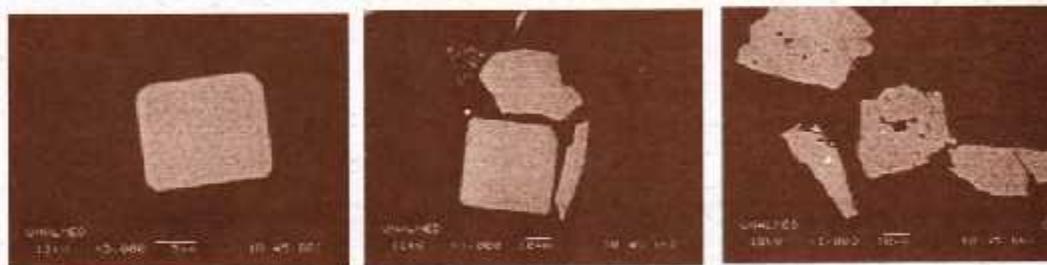
*Figura 8. Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 325, donde se observan granos individuales de mineral después de cinco días de iniciado el proceso. (A) se aprecia un grano anedral de pirita recubierto de una película. Los EDS sugieren una composición similar a la de una jarosita; (B) Cristales subedrales de Py que presentaron fracturas y algunos pits de corrosión; (C) Cristal anedral de Py en avanzado estado de deterioro acompañado por un óxido de hierro; (D) panorama general de los estados de corrosión presentes en las muestras donde se sugiere que el proceso de disolución inicia por lo granos más pequeños; (E) cristal subedral de pirita en donde se manifiesta la corrosión por pits que sufre las cristales durante el proceso de disolución; (F) cristal subedral de Py donde se inicia la formación de golfos de corrosión y películas de sulfatos. También es evidente el proceso de disolución de los sulfuros acompañantes. Qz: cuarzo*



**Figura 9.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 200, donde se observan granos individuales de mineral después de treinta días de iniciado el proceso; (A) cristal eudral de Py con un golfo de corrosión muy pronunciado en el que se depositó una capa de un óxido de hierro; (B) agregado de jarosita (fase J) donde se observan restos de cristales de Py y galena (Gn); (C) cristal de Py donde se marca la iniciación de los surcos de corrosión. El diámetro de los surcos no sobrepasó las  $0,5\mu\text{m}$ ; (D) cristal de Py con surcos de corrosión muy marcados y con restos de Gn depositada sobre uno de sus bordes; (E) cristal subedral de pirita en donde se manifestó la formación de una película de óxido de hierro. (F) cristal de Py subedral donde se marca como los surcos se fueron transformado en golfos de corrosión.



**Figura 10.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC) para la malla Tyler 325, donde se observan granos individuales de mineral después de treinta días de iniciado el proceso. (A) cristal cuedral de Py al lado de un agregado de jarosita; (B) cristales subcubrales con pocas señales de oxidación; (C) agregado de jarosita ricos en aluminio y silicio; (D) cristal subcubral de pirita en estado avanzado de corrosión. (E) cristal de Py subcubral con la misma topografía observada durante todo el proceso para ambas distribuciones de tamaños de partícula empleadas; (F) grano anedral de Py de granulometría muy pequeña en un estado muy avanzado de corrosión.



**Figura 11.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC), malla Tyler 200, para los controles abióticos después de 30 días de proceso.



**Figura 12.** Imágenes de SEM, modo de electrones retroproyectados (BEC), malla Tyler 325, para los controles abióticos después de 30 días de proceso.

Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

En la figura 13 se presentan los espectros de FTIR del seguimiento del proceso para ambas mallas, éstos fueron tomados los días 1, 10, 20 y 30 del proceso, luego se superpusieron para observar el crecimiento de las bandas formadas. Por medio de estos espectros se pudo observar que las bandas correspondientes a la fase jarosita, así como las bandas de agua estructural ó grupos hidroxilos presentan un crecimiento durante el proceso. En general, para ambas mallas, se observó una serie

de bandas típicas como las bandas alrededor de las frecuencias 1190 y 1085  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes al modo vibracional  $\nu_1$  de la jarosita; 628 y 475  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes al modo vibracional  $\nu_4$  y  $\nu_2$  de la jarosita respectivamente (Music et al, 1998; Sasaki, 1997; Baron & Palmer, 1996; Lazaroff et al, 1982; Ivarson, 1973; Adler & Kerr, 1965). Las bandas en 3411 y 1635  $\text{cm}^{-1}$  son interpretadas como pertenecientes al modo vibracional  $\nu_{\text{OH}}$  de

las deformaciones asociadas al agua estructural ( $\delta_{H_2O}$ ) en las jarositas (Music et al, 1994; Sasaki, 1997; Baron & Palmer, 1996; Lazaroff et al, 1982; Ivarson, 1973; Adler & Kerr, 1965). La banda  $420\text{ cm}^{-1}$  (Sharma y Wadhwa, 1997; Saikia et al, 2007), correspondiente a la pirita, presenta un aumento, indicando un aumento relativo debido a la disolución de minerales acompañantes, apreciable en ambos grupos de espectros, sin embargo, se considera de poca representatividad para evaluar la oxidación bacteriana del mineral por su cercanía al límite de detección del equipo ( $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ ). Las bandas en  $3198$  y  $1426\text{ cm}^{-1}$  fueron interpretadas como pertenecientes a la

vibración  $\nu_{NH}$  y a la deformación del  $NH_4^+$  en la amoniojarosita, respectivamente (Sasaki, 1997; Lazaroff et al, 1982; Ivarson, 1973). Las bandas en  $2935$  y  $2847\text{ cm}^{-1}$  se interpretaron como grupos alifáticos con el carbono total presente en la superficie de la célula (Naumann et al., 1996; Sharma & Hanumantha Rao, 2005; Xia et al., 2008).

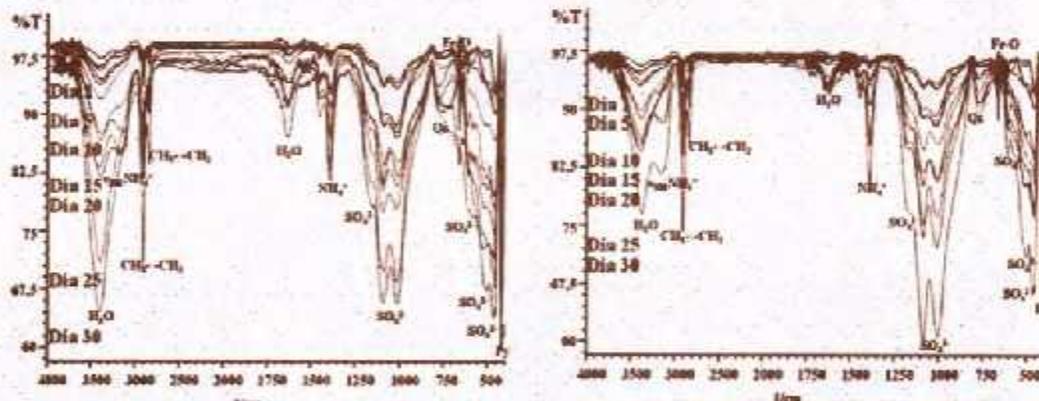


Figura 13 Espectros de FTIR para las muestras provenientes del proceso de biooxidación. Ensayos con *A. ferrooxidans* para las mallas Tyler 200 y 325 respectivamente. Símbolos:  $SO_4^{2-}$ : Jarosita,  $NH_4^+$ : Amonio-jarosita,  $CH_2$  /  $CH_3$ : Grupos alifáticos, Py: Pirita, Fe-O: Goetita.

## 5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Dado que las condiciones fueron las mismas en los experimentos con y sin bacterias, controles abióticos, el efecto del crecimiento bacteriano sobre la disolución de la pirita fue determinado por comparación directa de las cantidades de hierro total que salieron a la solución para ambos procesos. Los resultados muestran claramente que la presencia de bacterias incrementa la velocidad de disolución de la pirita, esta

disolución es superior a la alcanzada por la disolución química, bajo las mismas condiciones experimentales. La figura 3 muestra que la velocidad a la cual las bacterias aumentan la disolución del mineral, no es dependiente del tamaño de partícula empleado.

Sin embargo la figura 2 indica que el pH de la solución disminuye durante el curso del proceso, generando la mayor disolución del mineral, para ambas mallas, para el día 21, día en el cual el pH

de la solución estaba en  $-1.2$ ; de lo que se infiere una dependencia de la velocidad de disolución

con el potencial redox y el pH de la solución (McKibben et al, 1986; Williamson et al, 1994). Con respecto a las nuevas fases formadas a raíz del proceso de biooxidación, fueron encontrados básicamente sulfatos de hierro, principalmente jarosita. Adicionalmente, cambios morfológicos y texturales tanto en los sulfuros como en las nuevas fases formadas fueron evidenciados. El aumento en las concentraciones de Fe total en solución durante los primeros días, se vio evidenciado en los granos de pirita, mediante SEM, en la generación de golfos de corrosión, además del inicio de la formación de surcos de corrosión desde los bordes de los granos hacia su interior, surcos cuyo espesor no sobrepasaba 1  $\mu\text{m}$ . La presencia de patrones de oxidación en la pirita en forma de surcos, canales o caminos mencionados, puede ser interpretada como el producto de reacciones que ocurren entre las células adheridas y la superficie del sulfuro.

Patrones de corrosión sobre pirita, de formas y dimensiones celulares, han sido identificados en diferentes estados de desarrollo y han sido correlacionados con la actividad bacteriana, en donde una especie de cápsula de EPS alrededor de la bacteria, en contacto con la superficie del sulfuro, facilita el aumento de las reacciones de oxidación en dicha interfase, generando los pits observados (Tributsch & Rojas-Chapana, 2004; Sand et al.1995). Es sabido que el aumento local en la disolución del sulfuro en proximidades a las células adheridas, ocurre ya sea vía un mecanismo directo o indirecto (Rawlings et al, 1999) y, en este sentido, las interacciones entre este tipo de microorganismo (oxidante de Fe y compuestos reducidos de S) y la superficie de los sulfuros, juega un papel importante en los procesos de disolución oxidativa (Katrina et al, 2001).

En el presente trabajo, las estructuras de corrosión en forma de canales observadas en la pirita, se asemejan a aquellas reportadas por

Bennet y Tributsch (1978) sobre cristales sintéticos de pirita oxidados en presencia de *A. ferrooxidans* durante dos años. Tal y como lo explican estos autores, con base en el monitoreo de los diferentes estados de desarrollo de los pits dichos surcos o canales inician con la formación de cadenas conformadas por pequeños pits en forma de bastones y los canales son el producto de una oxidación posterior, intensificada químicamente, a lo largo de las cadenas. Algunos de los surcos de oxidación presentes pueden coincidir con planos de clivaje, lo cual puede ser el resultado de la oxidación a lo largo de zonas que son potencialmente más favorables, siendo químicamente más reactivas, al tener una energía superficial más elevada y por lo tanto, son más fácilmente oxidadas.

De otro lado, como Bennet y Tributsch (1978) señalaron, *A. ferrooxidans* puede tener la capacidad de discernir las regiones más favorables de la superficie del mineral, para obtener su fuente de energía y seleccionar el sitio de ataque en función de la mayor disponibilidad de nutrientes. El hecho de observar que dichos surcos presenten anchos que en general no superan 1  $\mu\text{m}$  y que sus contornos son suaves, puede llevar a pensar en que el ataque directo por las bacterias está jugando un papel importante para esta etapa. Sin embargo, los resultados obtenidos por Katrina et al. (2001) mostraron que, aun en controles abióticos y en presencia de  $\text{Fe}^{2+}$ , se dio la formación de pits de disolución con formas de bastones y de medidas similares a las células de *A. ferrooxidans*, utilizadas sobre pirita, concluyendo que la formación de estos pits se debe a características intrínsecas o heredadas del mineral y no necesariamente está relacionado con la actividad de las células adheridas.

## 6. AGRADECIMIENTOS

A las Subdirecciones de Biotecnología, Energía y Minería de Colciencias por su apoyo incondicional. Al Laboratorio de Biomineralogía de la Universidad Nacional de Colombia. A las empresas ARGOS, CDI S.A. y Prominerales S.A. por creer en nosotros. A las administraciones de los municipios de Titiribí (Antioquia) y Marmato (Caldas) por su apoyo. Al DIME y a la Dirección de Laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín. A la empresa Centricol. Al Grupo de Mineralogía Aplicada y Bioprocesos de la Universidad de Colombia. A la Institución Universitaria Pascual Bravo por su interés en el desarrollo de nuevas tecnologías.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Addler, H.H. & Kerr, P.F. Variations in infrared spectra. molecular symmetry of sulfate minerals. *The American Mineralogist*. Vol.50:132-147. 1965.
- ASTM D2799 - II Standard Test Method for Microscopical Determination of the Maceral Composition of Coal. 2009.
- Ballester, A. 2005. Mecanismo de la biolixiviación. Fundamentos y perspectivas de las tecnologías mineras. Valparaiso: Ediciones Universitarias de Valparaiso, pp. 9-24.
- Baron, D. & Palmer, C.D. Solubility of jarosite at 4-35°C. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, vol. 60, pp. 185-195. 1996.
- Bennett, J.C. & Tributsch, H. J. Bacterial leaching patterns on pyrite crystal surfaces. *Bacteriol*. 134:310-317. 1978.
- Blight K., Ralph D.E. & Thurgate S. Pyrite surfaces after bio-leaching: a mechanism for bio-oxidation. *Hydrometallurgy*. Vol. 58. Pp 227-237. 2000.
- Fowler T.A., Holmes P.R. & Crundwell F.K. Mechanism of Pyrite Dissolution in the Presence of *Thiobacillus ferrooxidans* Applied and Environmental Microbiology. Pp 2987-2993. 1999.
- Fowler T.A., Holmes P.R. & Crundwell F.K. On the kinetics and mechanism of the dissolution of pyrite in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans* *Hydrometallurgy*. Vol. 59. Pp 257-270. 2001.
- Harnett K. A., Kock Gökseel, D., Klock J.-H., Gehrke T. & Sand W. Adhesion to metal sulfide surfaces by cells of *A. ferrooxidans* *Acidithioballus thiooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans* *Hydrometallurgy*. Vol. 83. Pp 245-254. 2006.
- Ivarson K.C. Microbiological formation of basic ferric sulfates. *Canadian Journal of Soil Science* 53 Pp 315-323. 1973.
- Johnson D. Barrie & Hallberg Kevin B. Acid mine drainage remediation options: a review. *Science of the Total Environment*. Vol 338. Pp 3-14. 2005.
- Karavaiko Grigorií, Turova Tatyana P., Kondrateva Tamara F., Lysenko Anatoli M., Kolganova Tatyana V., Ageeva Svetlana N., Muntyan Lyudmila N. & Pivovarova Tatyana A. Phylogenetic heterogeneity of the species *A. ferrooxidans* *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Vol 53. Pp 113-119. 2003.
- Katrina J. E, Hu, Bo, Hamers, R. & Banfield, J. A. new look at microbial leaching patterns on sulfide minerals. *FEMS*

- Microbiology Ecology 34. Pp197-206. 2001.
- Kirby Carl S. & Elder Brady Jennifer A. Field determination of  $Fe^{2+}$  oxidation rates in acid mine drainage using a continuously-stirred tank reactor. Applied Geochemistry, Vol. 13. No. 4. Pp. 509-520. 1998.
- Lazaroff, N.; Sigal, W. & Wasserman, A. Iron oxidation and precipitation of ferric hydroxysulfates by resting *Thiobacillus ferrooxidans* cells. Applied Environmental Microbiology, Vol. 1. Pp924-938. 1982.
- Luptakova Alena & Kusnierova Maria. Bioremediation of acid mine drainage contaminated by SRB. Hydrometallurgy. Vol 77. Pp 97-102. 2005.
- McKibben, M. A., & H. L. Barnes. Oxidation of pyrite in low temperature acidic solution: rate laws and surface textures. Geochim. Cosmochim. Acta 50. Pp 1509-1520. 1986.
- Meruane Gabriel & Vargas Tomas. Bacterial oxidation of ferrous iron by *A. ferrooxidans* in the pH range 2.5-7.0. Hydrometallurgy. Vol 71. Pp 149-158. 2003.
- Murphy Riley & Strongin Daniel R. Surface reactivity of pyrite and related sulfides. Surface Science Reports. Vol 64. Pp 1-45. 2009.
- Music, S., Orehovec, Z. & Popovic, S. Structural properties of precipitates formed by hydrolysis of  $Fe^{3+}$  ions in  $Fe_2(SO_4)_3$  solutions. Journal of Materials Science. Vol.29:1991-1998. 1994.
- Naumann D. & Helm D. Identification of some bacterial cell components by FT-IR spectroscopy. FEMS Microbiology Letters 126: 75-79. 1995.
- Prayouenyong P. Coal biodesulphurization. Journal Science Technology 24, 493-507. 2002.
- Rawlings D. E., Tributsch H. & Hansford G. S. Reasons why '*Leptospirillum*'-like species rather than *Thiobacillus ferrooxidans* are the dominant iron-oxidizing bacteria in many commercial processes for the biooxidation of pyrite and related ores. Microbiology. Vol 145. Pp 5-13. 1999.
- Rawlings D.E. & Johnson B.D. Biomining. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2007.
- Rawlings Douglas E. The molecular genetics of *Thiobacillus ferrooxidans* and other mesophilic, acidophilic, chemolithotrophic, iron- or sulfur-oxidizing bacteria. Hydrometallurgy. Vol 59. Pp 187-201. 2001.
- Sand, W., Gerke, T., Hallmann, R. & Schippers, A. Sulfur chemistry, biofilm, and the (in)direct attack mechanism\* a critical evaluation of bacterial leaching. Applied Microbiology and Biotechnology (Historical Archive). Vol.43: Pp 961 - 966. 1995.
- Sasaki, K. Raman study of the microbially mediated dissolution of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. The Canadian Mineralogist, vol. 35, Pp. 999-1008. 1997.
- Sasaki, K., Konno, H. Characterization of argentojarosite formed from biologically oxidized  $Fe^{3+}$  ions. The Canadian Mineralogist Vol. 38: Pp 45-56. 2000.
- Sharma P.K. & Hanumantha K. Rao. Miner. Surface Characterisation of bacterial cells relevant to mineral industry. Metal Process., 22(1), Pp 31-37. 2005.
- Sharma, D., Wadhwa, G. Demineralization of coal by stepwise bioleaching: a comparative

- study of three Indian coals by Fourier Transform Infra-Red and X-ray diffraction techniques. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 13: 29-36. 1997.
- Silverman Melvin P. Mechanism of Bacterial Pyrite Oxidation. *Journal of Bacteriology*. Pp 1046-1051. 1967.
- Suzuki Isamu, Lee Douglas, Mackay Byron, Harahuc Lesia, & Oh Jae Key. Effect of Various Ions, pH, and Osmotic Pressure on Oxidation of Elemental Sulfur by *Thiobacillus thiooxidans*. *Applied and Environmental Microbiology*. Pp 5163-5168. 1999.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA-AWWA-WPCF, 20TH Ed. 1999.
- Tributsch, H. & Rojas-Chapana, J. Metal sulfide semiconductor electrochemical mechanisms induced by bacterial activity. *Electrochimica Acta*. 45: Pp4705-4716. 2000.
- Tuovinen, O., Kelly, D. Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Arch. Microbiol*, 88: 285-298. 1973.
- Vardanyan N. S. & Akopyan V. P. *Leptospirillum*-Like Bacteria and Evaluation of Their Role in Pyrite Oxidation. *Microbiology*, Vol. 72. No. 4. Pp. 438-442. 2003.
- Williamson, M. A., & J. D. Rimstidt. The kinetics and electrochemical rate-determining step of aqueous pyrite oxidation. *Geochim. Cosmochim. Acta* 58. Pp 5443-5454. 1994.
- Xia L., Liu J., Xiao L., Zeng J., Li B., Geng M. & Qiu G. Single and cooperative bioleaching of sphalerite by two kinds of bacteria—*Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*. 18, Pp 190-195. 2008.