

Precipitación de Esfalerita y Wurtzita por Bacterias Sulfato-Reductoras

/ JULIO CASTILLO (1,*), RAFAEL PÉREZ-LÓPEZ (1,2), MANUEL A. CARABALLO (1), JOSÉ M. NIETO (1)

(1) Departamento de Geología, Universidad de Huelva, Campus 'El Carmen', 21071, Huelva, España.

(2) Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua, IDAEA - CSIC, Jordi Girona 18, 08034, Barcelona, España.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias sulfato-reductoras (BSR) son una comunidad bacteriana muy importante dentro de la biodiversidad microbiana ya que al reducir los sulfatos a sulfuros permiten la precipitación e inmovilización de metales tóxicos solubles en forma de sulfuros metálicos insolubles. Esta capacidad ha fomentado su uso en las tecnologías de tratamiento de aguas tanto residuales como contaminadas con metales tóxicos. Sin embargo, la falta de tolerancia de las células bacterianas a altas concentraciones de metales pesados es uno de los principales factores que limitan su uso en biorremediación (Sani et al., 2001).

Caraballo et al. (2009) propuso un sistema de tratamiento pasivo alcalino para eliminar acidez y metales pesados de drenajes ácidos de mina (AMD) en la Faja Pirítica Ibérica (FPI). Sin embargo, los efluentes finales de este sistema de tratamiento, aunque con un pH neutro, continúan mostrando altas concentraciones de sulfatos (aprox. 3000 mg/L) y zinc (aprox. 260 mg/L). El objetivo principal de este trabajo es demostrar la eficacia de un tratamiento biológico con BSR para tratar este tipo de efluentes. La aplicación de un sustrato con BSR después de un tratamiento alcalino podría reducir por completo la movilidad de todos los metales en el AMD.

La única desventaja del uso de BSR es que concentraciones de zinc superiores a 210 mg/L son letales para estos microorganismos (Radhika et al., 2006). Teniendo en cuenta los objetivos

planteados, algunos experimentos de laboratorio se llevaron a cabo con el fin de buscar consorcios de BSR que puedan ser capaces de: (1) tolerar concentraciones de zinc de hasta 260 mg/L y (2) eliminar el zinc de las soluciones por precipitación de sulfuros insolubles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las comunidades de bacterias se obtuvieron a partir de tres muestras sólidas que actuaron como inóculos bacterianos. Dos muestras se tomaron en los sedimentos del AMD que drenan dos minas de la FPI: Mina Esperanza (ME) y Cueva de la Mora (CM), con 30 y 400 mg/L de Zn en solución, respectivamente. La otra muestra corresponde a unos lodos de depuradora (SS) de una planta municipal de tratamiento de aguas residuales localizada en el Algarve (Portugal).

El cultivo de enriquecimiento bacteriano se realizó como lo describe Martins et al. (2009). Posteriormente se transfirió a los experimentos de tolerancia y eliminación de zinc. Estos ensayos se llevaron a cabo durante 42 días a una concentración de Zn de 260 mg/L. El medio de cultivo utilizado fue el medio modificado MTM dopado con sulfato de zinc ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$; ca. 1100 mg/L) (Sani et al., 2001). Los ensayos se llevaron a cabo dentro de una cabina anóxica purgada con N_2 . La evolución temporal del sistema se monitorizó semanalmente analizando los parámetros físico-químicos (pH y Eh) y las concentraciones de azufre (total y especies sulfatadas) y zinc en solución. El crecimiento bacteriano se analizó

utilizando la técnica del número más probable (NMP). La caracterización mineralógica de los sólidos precipitados se realizó mediante microscopía electrónica de barrido con un espectrómetro de dispersión de energía (SEM-EDS) y difracción de rayos X (DRX). La DRX convencional resultó ser deficiente debido a la pequeña cantidad de muestra y la pobre cristalinidad. La micro-difracción de rayos X (μ -DRX) utilizando radiación sincrotrón ayudó a superar este inconveniente en la línea experimental ID18F del European Synchrotron Radiation Facility (ESRF, Francia).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados sugieren que la sulfato-reducción bacteriana se produjo en los experimentos satisfactoriamente. Las soluciones mostraron un aumento del pH desde el inicio a valores que oscilan entre 5.5 y 7.5, mientras que Eh disminuyó de 420 a -100 mV para el experimento con el inóculo SS, y 55 mV para los experimentos con los inóculos CM y ME.

Las concentraciones de azufre total en solución también disminuyeron, mostrando una tasa de eliminación media del 28% (de 467 a 337 mg/L). De este valor, las concentraciones de sulfato decrecieron un 83% (de 1400 a 233 mg/L). El descenso en las concentraciones de sulfato se correlaciona inversamente con un aumento en la población bacteriana. El conteo de BSR aumentó en los experimentos desde $6,5 \cdot 10^4$, $2,4 \cdot 10^4$ y $2 \cdot 10^4$ UFC/mL al comienzo hasta $1 \cdot 10^7$, $1,3 \cdot 10^6$ y $1,7 \cdot 10^6$ UFC/mL al final para

palabras clave: Bacterias sulfato-reductoras (BSR), Tolerancia al zinc, Nanopartículas de ZnS , Tratamiento, Drenaje ácido de mina

key words: Sulfate-reducing bacteria (SRB); Zinc tolerance; ZnS nanoparticles; Treatment; Acid mine drainage

los inóculos SS, ME y CM, respectivamente. No obstante, es importante resaltar que las poblaciones de BSR disminuyeron ligeramente en las primeras etapas del experimento con respecto al inicio. Después de 14 días de experimento, el conteo de BSR fue de $1,4 \cdot 10^4$, $3,7 \cdot 10^3$ y $1,6 \cdot 10^3$ CFU/mL para los inóculos SS, ME y CM, respectivamente. Finalmente, el descenso de la concentración de sulfato junto con el crecimiento final de las BSR fue concomitante con un descenso de las concentraciones de zinc con el tiempo. Después de 14, 35 y 42 días para los experimentos con inóculos SS, ME y CM, respectivamente, la tasa de eliminación de zinc en solución alcanzó valores próximos al 100%, es decir, las concentraciones disminuyeron desde 260 mg/L a valores inferiores al límite de detección.

La población de las BSR del inóculo SS creció 6 y 8 veces más que los inóculos CM y ME, respectivamente. La disminución que se produce durante las primeras semanas del experimento en las poblaciones de los tres inóculos podría estar causada por la toxicidad del Zn. Las generaciones iniciales de células probablemente luchan por crecer bajo altas concentraciones de Zn formando un biofilm como respuesta al stress. El biofilm debe actuar adsorbiendo zinc y haciéndolo menos biodisponible. El desarrollo del biofilm como un mecanismo de supervivencia ayuda a reducir los efectos de la toxicidad del zinc y las poblaciones de bacterias vuelven a aumentar en los experimentos. Sin embargo, la adaptación, una vez más, parece ser menos traumática en los inóculos SS debido a una menor tasa de muerte de

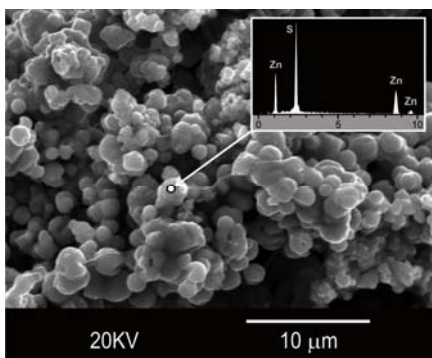


Fig 1. Imágenes de SEM de esferoides ZnS de acuerdo con el espectro de EDS de los experimentos de tolerancia y eliminación del zinc.

microorganismos. Por tanto, el consorcio de BSR del inóculo SS parece ser el más tolerante y eficaz en el proceso de eliminación del zinc.

Los productos sólidos finales en los experimentos de tolerancia y eliminación de zinc corresponden con un biofilm blanquecino perfectamente visible en muestras de mano. Imágenes de SEM revelan partículas esféricas con un diámetro $< 2,5 \mu\text{m}$ compuestas exclusivamente por azufre y zinc según los espectros de EDS (Fig. 1). Los patrones de μ -DRX basados en luz sincrotrón sugieren que los precipitados neoformados corresponden a dos formas polimórficas de ZnS: esfalerita y wurtzita. Los principales picos de DRX de las dos fases se superponen. Sin embargo, la wurtzita se identifica con un pico exclusivo en torno a $14,5^\circ 2\theta$ (para $\lambda = 0,443 \text{ \AA}$) correspondiente al plano (103) (Fig. 2a). Con el fin de garantizar la presencia de esfalerita en el espectro, la región comprendida entre $7,5$ y $9^\circ 2\theta$ se descompuso en curvas elementales de Gauss-Lorentz usando el software

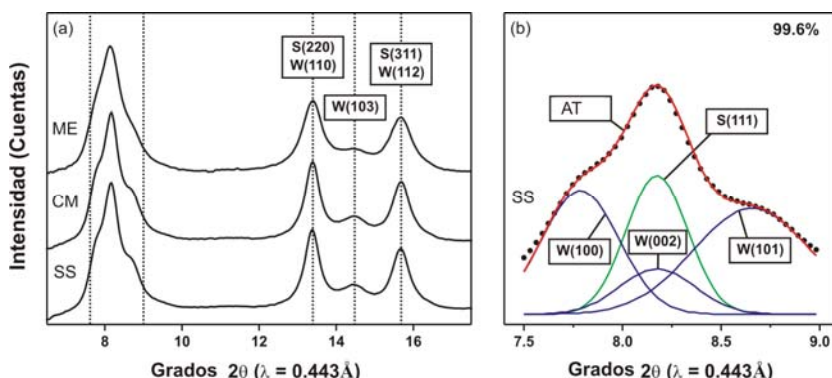


Fig 2. (a) los patrones de μ -DRX Sincrotrón basado en partículas de ZnS de los experimentos de la tolerancia de zinc. (b) Ejemplo de la descomposición del patrón de DRX de la experiencia de zinc-con la tolerancia del inóculo SS, rango angular de $7,5$ a $9^\circ 2\theta$. En (b), los picos esfalerita y wurtzita superpuestos se separaron numéricamente utilizando DECOMPXR (Lanson, 1993). S: Esfalerita, W: wurtzita, A.T: Ajuste teórico.

DECOMPXR (Lanson, 1993). La elevada calidad de los espectros es suficiente para descomponerlos sin necesidad de suavizado ni substracción del fondo. De esta forma, esta amplia región es el resultado de la suma de cuatro reflexiones elementales, las cuales pueden ser atribuidas a una reflexión principal correspondiente al plano (111) de esfalerita y a reflexiones menores correspondientes a los planos (100), (002) y (101) de wurtzita (Fig. 2b). El factor de confianza fue superior al 99% para todos los ajustes.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio son muy alentadores para el uso de BSR en el tratamiento de soluciones con concentraciones iniciales de zinc de hasta 260 mg/L. Las concentraciones de sulfato y zinc disminuyeron en el medio hasta la retirada completa de zinc como precipitados insolubles de esfalerita-wurtzita (ZnS) concentrados en agregados esféricos $< 2,5 \mu\text{m}$ de diámetro.

La retirada total del zinc en solución gracias a comunidades bacterianas nos hace plantear la utilización de estos procesos de biorremediación, junto con los sistemas pasivos alcalinos que existen, para el tratamiento de los AMD en los entornos mineros abandonados de la FPI.

REFERENCIAS

- Caraballo, M.A., Rötting, T.S., Macías, F., Nieto, J.M. and Ayora, C. (2009): Field multi-step limestone and MgO passive system to treat acid mine drainage with high metal concentrations. *Appl. Geochem.*, **24**, 2301-2311.
- Lanson, B. (1993): DECOMPXR, X-ray Decomposition Program, ERM, Poitiers, France.
- Martins, M., Faleiro, M.L., Barros R.J., Veríssimo, A.R., Barreiros, M.A. and Costa, M.C. (2009) Characterization and activity studies of highly metal resistant sulphate-reducing bacteria to be used in acid mine drainage treatment. *Journal of Hazardous Materials* **166**, 706-713.
- Radhika, V., Subramanian, S. and Natarajan, K.A. (2006): Bioremediation of zinc using *Desulfotomaculum nigrificans*: Bioprecipitation and characterization studies. *Water Res.*, **40**, 3628-3636.
- Sani, R.K., Peyton, B.M. and Brown, L.T. (2001): Copper-induced inhibition of growth of *Desulfovibriodesulfuricans* G20: assessment of its toxicity and correlation with those of zinc and lead. *Appl. Environ. Microb.*, **67**, 4765-4772.