



UNIVERSIDAD ARGENTINA DE LA EMPRESA
FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS EXACTAS

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS
BACTERIANAS CON POTENCIAL EN BIOMINERÍA

PROYECTO FINAL DE LA LICENCIATURA EN
BIOTECNOLOGÍA

Alumno:

Barrio, Jose Luis – LU: 1024995

Tutor:

Olivelli, Melisa Soledad. (UADE)

Co-Tutor:

Gargarello, Romina. (UADE)

Fecha de entrega final: 04/07/2022

- 2022 -

Lugar de Trabajo

UADELabs – INTEC, el trabajo se desarrolló bajo el marco del PID P19T05 y contó con la financiación necesaria a partir de ese proyecto.

Agradecimientos

A Melisa y a Romina por darme la oportunidad de realizar mi tesis de grado en la facultad y por guiarme durante todo el proyecto.

Al SEGEMAR (Servicio Geológico Minero Argentino) por brindar las cepas de referencias para los estudios, las muestras minerales y los datos complementarios de los distintos ensayos realizados para la tesis.

A AySA (Agua y Saneamientos Argentino) por permitirme formarme como profesional y por realizar los ensayos complementarios por Espectroscopia Atómica ICP-OES de los metales obtenidos por biolixiviación de los distintos minerales estudiados.

A Leticia por acompañarme en muchos momentos importantes de mi vida y por motivarme constantemente a crecer como persona.

A mi hermano Nicolas y mi hermana Yanina, por ayudarme para que pudiera estudiar en mis comienzos en la facultad.

A mi abuela Mamina, por criarme, cuidarme, quererme, fomentar mi desarrollo personal, profesional y por preocuparse de que pudiera tener lo mejor en todo momento.

A mis amigos Esteban y Andrés, por estar siempre en los mejores y en los peores momentos.

Índice General

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS CON POTENCIAL EN BIOMINERÍA	1
Agradecimientos.....	2
Índice General	3
Índice de Figuras	5
Índice de Tablas.....	7
Resumen	8
Abstract	9
Capítulo 1	10
Introducción	10
1.1) Contexto actual sobre el uso de metales y su extracción.....	10
1.2) Situación de la minería en la Argentina	11
1.3) Descripción de algunos sitios mineros de interés en Argentina	16
1.3.1) Complejo Volcánico Farallón Negro - Yacimiento Los Viscos	17
1.3.2) Complejo Minero El Aguilar - Yacimiento Aguilar.....	19
1.4) Consecuencias de la minería	22
1.5) Ventajas de la biominería.....	23
1.6) Situación actual de la biominería en la Argentina.....	25
1.7) Hipótesis del trabajo.....	26
1.8) Objetivos del trabajo	26
Capítulo 2	27
Aislamiento de cepas bacterianas con potencial biolixivante y ensayos en batch.....	27
2.1) Introducción a la biominería	27
2.2) Biolixiviación.....	28
2.2.1) Mecanismos de lixiviación bacteriana	29
2.3) Biooxidación	31
2.4) Procesos indirectos de lixiviación	33
2.5) Microorganismos aislados y utilizados en la biominería.....	33
2.5.1) Metabolismo energético de los microorganismos	35
2.5.2) Resistencia a los metales	36
2.5.3) Ingeniería genética en la biominería	37
2.5.4) Acidithiobacillus ferrooxidans	37
2.5.5) Acidithiobacillus thiooxidans.....	39
2.6) Proceso de extracción de metales a escala industrial utilizando biorreactores.....	39
2.6.1) Proceso BIOX™	39
2.7) Objetivos específicos	42

2.8) Materiales y métodos	42
2.8.1) Descripción de los minerales a utilizar.....	42
2.8.2) Metodologías de aislamiento.....	43
2.8.3) Cinética de crecimiento de las cepas utilizadas en los ensayos.....	44
2.8.4) Metodologías de lixiviación y biolixiviación en batch.....	45
2.8.5) Conductividad, pH y cuantificación de metales	47
2.9) Ensayos de biolixiviación realizados en batch agitados.....	48
2.9.1) Optimización de las condiciones de biolixiviación en batch agitados utilizando el mineral de Los Viscos	48
2.9.2) Biolixiviación en batch del mineral Los Viscos.....	49
2.9.3) Biolixiviación en batch agitados y sin agitar utilizando una arena con magnetita	50
2.9.4) Biolixiviación con ácido biogenerado en batch agitados utilizando matas de cobre.....	51
2.10) Resultados y discusión	52
2.10.1) Secuenciación y morfología de las cepas nativas aisladas del mineral Los Viscos.....	52
2.10.2) Cinética de crecimiento de las cepas utilizadas en los ensayos.....	53
2.10.3) Ácido sulfúrico biogenerado obtenido de los biorreactores	56
2.10.4) Optimización de las condiciones de biolixiviación en batch agitados utilizando el mineral de Los Viscos	57
2.10.5) Biolixiviación en batch del mineral Los Viscos.....	60
2.10.6) Biolixiviación en batch agitados y sin agitar utilizando una arena con magnetita	64
2.10.7) Biolixiviación con ácido biogenerado en batch agitados utilizando matas de cobre.....	66
2.11) Conclusiones generales de los aislamientos y ensayos en batch	69
Capítulo 3	71
Ensayos de lixiviación en pilas.....	71
3.1) Introducción	71
3.2) Lixiviación de minerales en pilas.....	72
3.3) Biolixiviación de minerales en pilas	73
3.4) Los procesos GEOCOAT y GEOLEACH de biolixiviación en pilas	74
3.5) Biooxidación en pilas de lixiviación con minerales de sulfuro que contienen oro.....	76
3.6) Objetivos específicos	77
3.7) Materiales y métodos	77
3.7.1) Conductividad, pH y cuantificación de metales	80
3.7.2) Pila de lixiviación con el mineral de Los Viscos	80
3.7.3) Pila de lixiviación con las matas de cobre.....	81
3.8) Resultados y discusión	81
3.8.1) Pila de lixiviación con el mineral de Los Viscos	81
3.8.2) Pila de lixiviación con las matas de cobre.....	84

3.9) Conclusiones generales de la biolixiviación en pilas	87
Capítulo 4	88
Conclusiones y perspectivas de trabajo futuro	88
4.1) Conclusiones generales y alcance	88
Referencias	90
Referencias de páginas web.....	115
Anexos.....	118
Anexo I: Datos de secuenciación del gen de ARNr 16S (Región V3-V4) de los microorganismos aislados..	118
Anexo II: Datos de Espectroscopia Atómica ICP-OES de los distintos metales de interés lixiviados (AySA)	119
Anexo III: Análisis y resultados de DRX y FRX	121

Índice de Figuras

Figura 1. Mapa - Minería metalífera, operaciones y proyectos avanzados. Argentina 2020 1er Semestre	13
Figura 2. Principales operaciones mineras en la Argentina Año 2019	15
Figura 3. Procesos de beneficio del mineral en planta (en porcentaje) - Año 2016	16
Figura 4. Esquema simplificado del Complejo Volcánico Farallón Negro y localización del yacimiento Los Viscos	19
Figura 5. Ubicación de la Mina Aguilar	20
Figura 6. Diagrama de flujo típico de un proceso BIOX™ - Biomining (2006, Springer)	40
Figura 7. Muestras obtenidas al final de los ensayos de biolixiviación (optimización)	49
Figura 8. Muestras durante el transcurso del segundo ensayo en batch	50
Figura 9.1. Muestras cultivadas con AF ^{Min} y 50 gr de arena en agitación	51
Figura 9.2. Muestras cultivadas con AF ^{Min} y 20 gr de arena sin agitación	51
Figura 10.1. Cinética de crecimiento de las bacterias AT ^{Ref} en medio 0K y 1 gr de azufre	53
Figura 10.2. Variación del pH a lo largo del ensayo con AT ^{Ref}	53
Figura 11.1. Cinética de crecimiento de las bacterias AT ^{Min} en medio 0K y 1 gr de azufre	54
Figura 11.2. Variación del pH a lo largo del ensayo con AT ^{Min}	54
Figura 12.1. Cinética de crecimiento de las bacterias AF ^{Ref} en medio 9K	54
Figura 12.2. Variación del pH a lo largo del ensayo con AF ^{Ref}	54
Figura 13.1. Cinética de crecimiento de las bacterias AF ^{Min} en medio 9K	55
Figura 13.2. Variación del pH a lo largo del ensayo con AF ^{Min}	55
Figura 14.1. Reactor batch cerrado con agitación vertical y burbujeo de aire esterilizado utilizado para obtener ácido biogenerado	56
Figura 14.2. Ácido biogenerado obtenido	56
Figura 15.1. Reactor Airlift con burbujeo de aire esterilizado utilizado para obtener ácido biogenerado	57
Figura 15.2. Reactor Airlift contaminado	57

Figura 16.1. Reactor Airlift en el inicio de su puesta en marcha	59
Figura 16.2. Reactor Airlift a los 10 días de su funcionamiento	59
Figura 17. Gráfico de conductividad de las muestras con un 3% de densidad de pulpa del mineral Los Viscos y 1% de azufre	61
Figura 18. Gráfico de pH de las muestras con un 3% de densidad de pulpa del mineral Los Viscos y 1% de azufre	62
Figura 19. Gráfico de cobre lixiviado en las muestras con un 3% de densidad de pulpa del mineral Los Viscos y 1% de azufre	62
Figura 20. Gráfico de hierro lixiviado en las muestras con un 3% de densidad de pulpa del mineral Los Viscos y 1% de azufre	63
Figura 21.1. Cultivo de AF ^{Min} en medio 2K (día 0)	64
Figura 21.2. Cultivo de AF ^{Min} en medio 2K (día 10)	64
Figura 22.1. Resultados de Fe lixiviado (mg/L) de los cultivos con arena y agitación durante los 35 días de ensayo	65
Figura 22.2. Resultados de D.O (600 nm) de los cultivos con arena y agitación durante los 35 días de ensayo	65
Figura 22.3. Resultados de pH de los cultivos con arena y agitación durante los 35 días de ensayo	65
Figura 23.1. Tratamiento con 2 % de mineral (izquierda) y con 1 % del mineral (derecha), ambos con ácido biogenerado	67
Figura 23.2. Blanco (medio 0K con 1% de mineral) (izquierda) y tratamiento con ácido biogenerado y 1% de mineral (derecha)	67
Figura 23.3. Tratamientos con ácido sulfúrico industrial. A la izquierda se encuentra el tratamiento con 1 % de mineral y la derecha con 2 % del mineral	67
Figura 24.1. Gráficos de cinética de la conductividad de los distintos tratamientos del desecho de mata de cobre	67
Figura 24.2. Gráficos de cinética del pH de los distintos tratamientos del desecho de mata de cobre	67
Figura 25.1. Gráficos de lixiviación del cobre de los distintos tratamientos del desecho de mata de cobre	68
Figura 25.2. Gráficos de lixiviación del hierro de los distintos tratamientos del desecho de mata de cobre	68
Figura 26. Circuito típico de lixiviación en pilas	71
Figura 27.1. Cápsulas de café y filtros lavados utilizados para formar los soportes de las pilas	79
Figura 27.2. Pilas de lixiviación (matas de cobre y Los Viscos)	79
Figura 28.1. Pila con el mineral Los Viscos y solución lixiviada en el vaso de precipitado	80
Figura 28.2. Pila con el mineral Los Viscos. En la parte superior del mineral mezclado con la perlita se observa el azufre molido	80
Figura 29.1. Pila de lixiviación con el desecho de matas de cobre vertiendo la solución lixivante sobre el vaso de precipitado	81
Figura 29.2. Pila de lixiviación con el desecho de matas de cobre (vista superior)	81
Figura 30.1. Gráficos de conductividad con el mineral Los Viscos (Pila de lixiviación).	82
Figura 30.2. Gráficos de pH con el mineral Los Viscos (Pila de lixiviación).	82
Figura 31.1. Gráficos de cobre lixiviado con el mineral Los Viscos (Pila de lixiviación).	82

Figura 31.2. Gráficos de hierro lixiviado con el mineral Los Viscos (Pila de lixiviación).	82
Figura 32.1. Gráficos de conductividad con el desecho de matas de cobre (Pila de lixiviación).	85
Figura 32.2. Gráficos de pH con el desecho de matas de cobre (Pila de lixiviación).	85
Figura 33.1. Gráficos de cobre lixiviado con el desecho de matas de cobre (Pila de lixiviación).	85
Figura 33.2. Gráficos de hierro lixiviado con el desecho de matas de cobre (Pila de lixiviación).	85

Índice de Tablas

Tabla I. Medios de cultivos utilizados para los aislamientos y ensayos de biolixiviación de las cepas bacterianas <i>At. ferrooxidans</i> y <i>At. thiooxidans</i>	43
Tabla II. Cepas bacterianas utilizadas en los ensayos de biolixiviación	44
Tabla III. Condiciones de lixiviación y biolixiviación en batch agitados analizadas	46
Tabla IV. Ensayos de biolixiviación en batch agitados utilizando el mineral de Los Viscos	48
Tabla V. Ensayos de biolixiviación en batch agitados utilizando un 3% p/v del mineral Los Viscos	50
Tabla VI. Ensayos de biolixiviación en batch agitados realizados con las matas de cobre	52
Tabla VII. Cinética del pH durante el experimento	57
Tabla VIII. Cinética de la conductividad (mS) durante el experimento	58
Tabla IX. Análisis de metales y sulfatos en la solución al final del tratamiento	58
Tabla X. Resultados de pH, conductividad, Cu y Fe de los cultivos en batch con 3% de densidad de pulpa del mineral Los Viscos y 1% de azufre	61
Tabla XI. Cultivos en batch en agitación con 50 gr de arena en 100 mL de medio 0K e inoculados con AF ^{Min}	65
Tabla XII. Cultivos en batch sin agitación con 20 gr de arena en 100 mL de medio 0K e inoculados con AF ^{Min}	65
Tabla XIII. Concentración de cobre y hierro de 1 gr del desecho de mata de cobre utilizado para los ensayos de biolixiviación	66
Tabla XIV. Dimensiones de las pilas de lixiviación utilizadas	79
Tabla XV. Datos de Espectroscopia Atómica ICP-OES de los distintos metales de interés lixiviados (AySA)	119

Resumen

Aislamiento y caracterización de cepas bacterianas con potencial en biominería

La biominería utiliza microorganismos y explota su metabolismo, para recuperar metales a partir de minerales y otras fuentes. Se apoya en los procesos de biolixiviación y biooxidación mediante los cuales los microorganismos solubilizan los metales a través de ataques oxidantes y/o ácidos. Se trata de una alternativa con beneficios sobre los procesos convencionales de extracción como: buenos rendimientos y rentabilidades en la recuperación de metales a partir de minerales de baja ley, menor contaminación ambiental y menores requerimientos de infraestructura y recursos. Los microorganismos aptos más utilizados son aislados generalmente de sitios termales vinculados a la actividad volcánica, pasivos mineros y lugares contaminados con metales pesados.

En el presente trabajo se aislaron, caracterizaron y aplicaron bacterias nativas de minerales sulfurosos de baja ley provenientes del noroeste argentino para la extracción de metales. Se evaluó su efectividad con diversas metodologías y con diferentes minerales. Se lograron aislar cepas bacterianas de minerales que contienen oro, plata, manganeso, cobre y plomo, que se identificaron como *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans* por secuenciación del gen de ARNr 16S (Región V3-V4). Para evaluar la efectividad de las cepas aisladas en la extracción de metales, se realizaron ensayos comparativos con cepas de referencia de *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans*. También, con la cepa de referencia *At. thiooxidans* se produjo ácido biogenerado en biorreactores, que se utilizó en ensayos de biolixiviación para la extracción de metales.

Las técnicas utilizadas para la extracción de metales fueron: cultivos en batch agitados y pilas de lixiviación. Se determinó el pH, conductividad y concentración de distintos metales de interés, durante los ensayos, para evaluar la efectividad de los procesos. Los resultados obtenidos en batch con las cepas bacterianas y/o con el ácido biogenerado fueron satisfactorios, logrando lixiviar diversos metales como: Ag; Co; Cu; Mn; Pb y Zn. En las pilas de lixiviación se obtuvieron buenos rendimientos en la extracción de distintos metales de interés comercial. Los mejores rendimientos obtenidos con la cepa *At. thiooxidans* aislada son: Ag (25 mg/L <); Co (10 mg/L <); Cu (427 mg/L); Mn (20 mg/L <); Ni (71,2 mg/L); Pb (30 mg/L <) y Zn (50 mg/L <).

Abstract

Isolation and characterization of bacterial strains with potential in biomining

Biomining uses microorganisms and exploits their metabolism, to recover metals from minerals and other sources. It relies on bioleaching and biooxidation processes through which microorganisms solubilize metals through oxidative and/or acid attacks. It is an alternative with benefits over conventional extraction processes such as: good yields and profitability in the recovery of metals from low-grade minerals, less environmental pollution and lower infrastructure and resource requirements. The most used suitable microorganisms are generally isolated from thermal sites linked to volcanic activity, mining liabilities and places contaminated with heavy metals.

In the present work, native bacteria of low-grade sulfurous minerals from the Argentine northwest were isolated, characterized and applied for metal extraction. Its effectiveness was evaluated with various methodologies and with different minerals. Bacterial strains were isolated from minerals containing gold, silver, manganese, copper, and lead, which were identified as *At. thiooxidans* and *At. ferrooxidans* by sequencing the 16S rRNA gene (Region V3-V4). To evaluate the effectiveness of the isolated strains in metal extraction, comparative tests were carried out with reference strains of *At. thiooxidans* and *At. ferrooxidans*. Also, with the reference strain *At. thiooxidans* biogenerated acid was produced in bioreactors, which was used in bioleaching assays for metal extraction.

The techniques used for the extraction of metals were: agitated batch cultures and leach heaps. The pH, conductivity, and concentration of different metals of interest were determined during the assays to evaluate the effectiveness of the processes. The results obtained in batch with the bacterial strains and/or with the biogenerated acid were satisfactory, managing to leach various metals such as: Ag; Co; Cu; Mn; Pb and Zn. In the leach heaps, good yields were obtained in the extraction of different metals of commercial interest. The best yields obtained with the isolated *At. thiooxidans* strain are: Ag (25 mg/L <); Co (10 mg/L <); Cu (427mg/L); Mn (20 mg/L <); Ni (71.2 mg/L); Pb (30 mg/L <) and Zn (50 mg/L <).

Capítulo 1

Introducción

1.1) Contexto actual sobre el uso de metales y su extracción

Los metales obtenidos de rocas y minerales constituyen un recurso utilizado desde hace miles de años por diferentes civilizaciones. Los minerales son sustancias químicas inorgánicas naturales, con composición química definida y propiedades físicas constantes, que están compuestos por diversos elementos químicos y tienen una estructura sólida y cristalina, aunque generalmente se ven como agregados simples de aspecto de piedra, denominándose rocas.

La extracción de rocas y minerales se realiza en lugares denominados yacimientos, en donde la explotación es factible y rentable debido a una alta concentración de minerales o rocas de interés. Los minerales pueden extraerse de las siguientes formas (Lavandaio. 2014; Secretaría de Minería - CEPXXI (Centro de estudios para la producción), [en línea]):

1. **Extracción a cielo abierto:** se desarrolla en la exterioridad del terreno debido a que el yacimiento aflora en la superficie y se realiza mediante la eliminación de la vegetación y de las capas superiores de rocas, generando enormes hoyos en el lugar de la mena.
2. **Extracción subterránea:** es el caso más complejo y costoso en general, que se desarrolla por debajo de la superficie del terreno mediante la construcción de túneles o galerías para poder llegar a los yacimientos.
3. **Extracción de sedimento en el lecho del río.**

En algunos establecimientos mineros la forma de extracción puede ser una combinación de las metodologías mencionadas, desarrollando en consecuencia una extracción mixta (Lavandaio. 2014; Secretaría de Minería - CEPXXI (Centro de estudios para la producción), [en línea]).

Una forma de clasificar y agrupar a los minerales es la siguiente (CAEM - Cámara Argentina de Empresarios Mineros, [en línea]; Secretaría de Minería - CEPXXI (Centro de estudios para la producción), [en línea]):

- 1) **Minerales metálicos:** son aquellos que contienen metales como: hierro, plomo, zinc, cobre, molibdeno, plata, oro y el litio. Se dividen en básicos, ferrosos, preciosos y radioactivos.
- 2) **Minerales no metálicos:** son aquellos que no contienen metales, como: calizas, arenas, arcillas, sal común, yeso, sales de potasio y boratos, bentonitas, piedras semipreciosas y muchos otros, utilizados como insumos básicos en diversas industrias.
- 3) **Minerales industriales y rocas de aplicación:** se utilizan para la construcción y la ornamentación, como los pórfidos, piedras lajas, mármoles, granitos y granulometrías.

Las sociedades requieren una base productiva y de industrialización de los minerales para su desarrollo. Debido a esto la demanda y el consumo mundial de metales aumenta a un ritmo acelerado, potenciado por el crecimiento de la población mundial, la expansión de las infraestructuras industriales en los países en desarrollo y los avances tecnológicos (Roberts 1990; Yellishetty *et al.* 2011). Esto acelera el agotamiento de las reservas naturales de metales (Tcha y Takashina. 2002), cuya principal fuente de extracción son minerales de alta ley (Rauch y Pacyna. 2009), ya que la extracción resulta poco eficiente y costosa para minerales de baja ley.

Como consecuencia de esta demanda y del agotamiento de los recursos, varias organizaciones predicen que ciertos elementos se agotarán de la superficie terrestre dentro de algunas décadas y muchos metales entrarán en la zona de peligro de escasez (Rosa y Rosa. 2011; Swart y Dewulf. 2013).

En la actualidad se producen más de 3.200 millones de toneladas de metales al año (World Economic Forum, [en línea]), para generar una amplia gama de productos de interés utilizados en la vida cotidiana, algunos de los más importantes son: dispositivos eléctricos o electrónicos; materiales de construcción; medios de transporte, y distintas aplicaciones en la medicina (Bernardelli *et al.* 2017).

1.2) Situación de la minería en la Argentina

La geología de los depósitos identificados en nuestro país es la siguiente: los más numerosos y principales son los depósitos epitermales y pórfiros, en un segundo grupo están los asociados a sedimentos (incluyendo salares), brechas polimetálicas, metasomáticos y vetas,

entre otros. Los principales metales objeto de exploración son: oro, plata, cobre, litio, potasio, uranio, estaño y aquellos metales asociados como molibdeno, plomo, zinc, boro y vanadio, entre otros. (Centro de Información Minera de Argentina - CIMA, [en línea]).

Según el informe sobre la Minería en la Argentina, realizado por la Secretaría de Minería para el 1^{er} Semestre del 2020, la minería metalífera que comprende a los minerales metálicos está caracterizada por operaciones y proyectos en los que los principales productos son: oro, plata, cobre, plomo y zinc. Están en funcionamiento 8 establecimientos donde el metal principal es el oro, acompañado de plata; 4 en donde el producto mayoritario es plata, siendo el coproducto el oro en 3 de ellas, y plomo y zinc en la restante; y 1 depósito con producción combinada de plomo, plata y zinc. Se están construyendo 3 minas de oro de distinta escala, que se sumarían a la producción en corto plazo. No hay operaciones de cobre en la actualidad, sin embargo, existen 7 proyectos en etapa avanzada, varios de los cuales pueden ser considerados de clase mundial por sus dimensiones y contenido metálico (figura 1). Argentina tiene potencial para hacer crecer su capacidad productiva ya que cuenta con un total de 33 proyectos con recursos identificados de este tipo y más de 250 prospectos u ocurrencias minerales en zonas con alto potencial geológico. Las operaciones mineras de oro generan aproximadamente el 60% de los beneficios en el país, un 10 % son de los concentrados de plata y sus minerales y el 30% restante son para el hierro, cobre, plomo y zinc, y molibdeno.

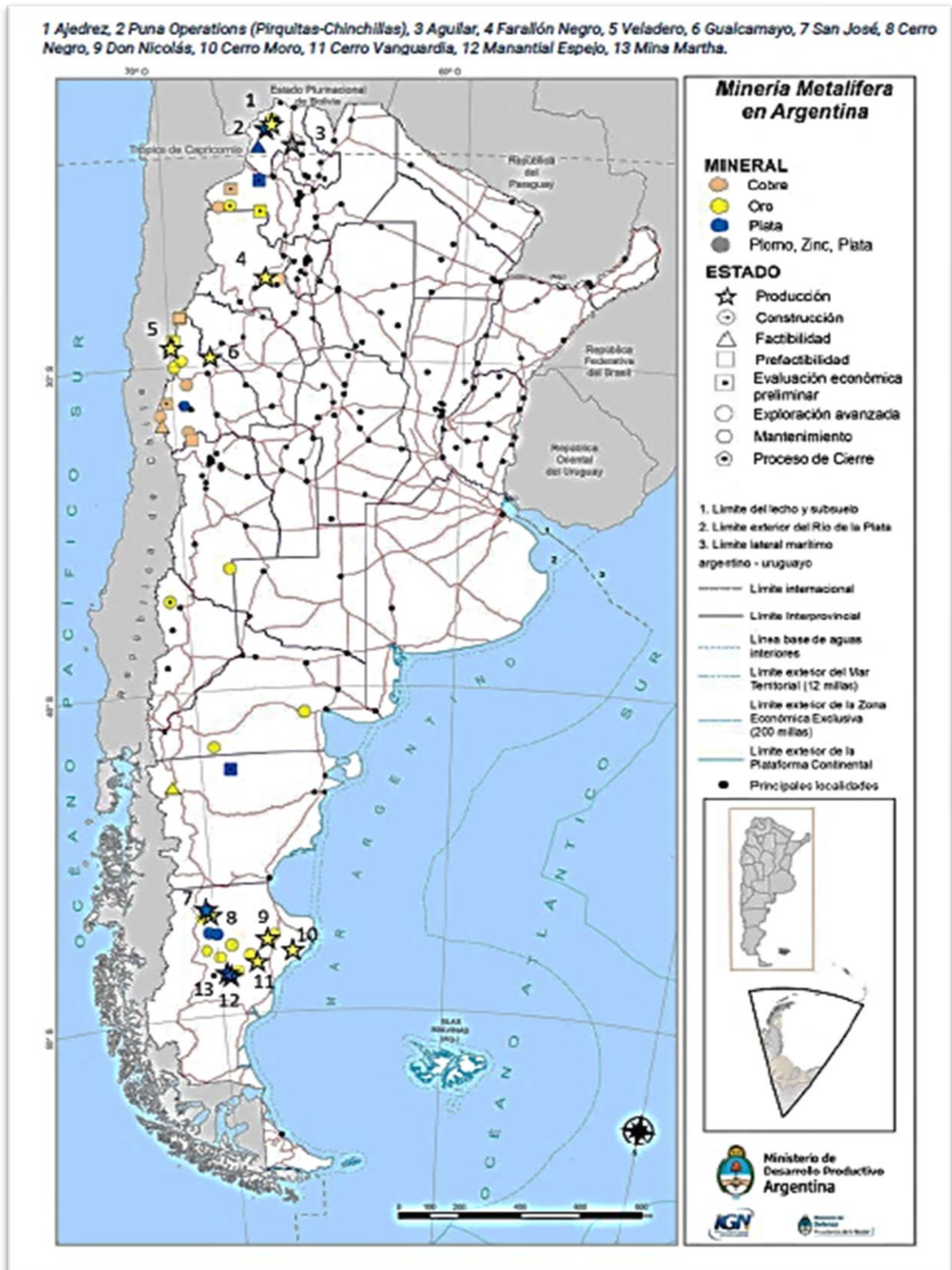


Figura 1. Mapa - Minería metalífera, operaciones y proyectos avanzados. Obtenido del Informe de Minería Argentina 2020 1er Semestre - Secretaría de Minería y Ministerio de Desarrollo Productivo

El mineral metálico útil o de interés, llamado mena, está frecuentemente mezclado con otras sustancias denominadas ganga. En estos casos, a la actividad extractiva se suma una planta industrial que procesa el material extraído y separa el mineral útil del resto, que luego es transportado a su lugar de uso o de industrialización. Este proceso genera un producto que es el concentrado y un material sobrante, llamado cola o relave, que se almacena en un lugar seguro previamente establecido: el dique de colas (Lavandaio. 2014; Secretaría de Minería - CEPXXI (Centro de estudios para la producción), [en línea]).

La aplicación de determinados procesos, a los que se somete el mineral extraído para su posterior utilización o transformación y comercialización, se denomina beneficio de los minerales. Se trata de un conjunto de operaciones por medios físicos, químicos, fisicoquímicos, térmicos y mecánicos aplicados a la roca extraída para separar los componentes valiosos de los no deseados (Censo Nacional a la Actividad Minera, [en línea]).

Los procesos de beneficio en planta son un grupo de actividades que aprestan el mineral para su comercialización o reindustrialización. Entre estos procesos se encuentran la calcinación, clasificación (lavado, zarandeo, cribado, etc.), concentración gravimétrica, conminución (trituración, molienda y troceado), electrolisis, evaporación, extracción por solvente, flotación, fundición, lixiviación en pila/valle, lixiviación por agitación, etc. Algunos ejemplos de los procesos de beneficio aplicados en las principales operaciones mineras durante el año 2019 en la Argentina pueden verse en la figura 2. En la figura 3 pueden observarse las proporciones de cada proceso de beneficio del mineral en planta, para todas las mineras en la Argentina durante el año 2016 (Censo Nacional a la Actividad Minera, [en línea]).

MINERÍA EN ARGENTINA. MINERÍA EN ARGENTINA.

	PROYECTO	COMPAÑÍA (OPERADORA)	METAL	MÉTODO	PROCESO DE BENEFICIO
1.	Chinchillas-Pirquitas	SSR Mining / Golden Arrow Resources Puna Operations Inc	Plomo (Pb) Zinc (Zn) Plata (Ag)		
2.	Mina Aguilar	Glencore Plc. Compañía Minera Aguilar	Plata (Ag) Plomo (Pb) Zinc (Zn)		
3.	Olaroz	Orocobre / Toyota Tsusho / JEMSE SALES DE JUJUY S. A.	Litio (Li)		
4.	Fénix	Livent Corp. MINERA DEL ALTIPLANO S.A.	Litio (Li)		
5.	Farallón Negro	YMAD YACIMIENTOS MINEROS AGUA DE DIONISIO	Oro (Au)		
6.	Veladero	Barrick Gold Corp / Shandong Gold MINERA ARGENTINA GOLD S.R.L	Oro (Au) Plata (Ag)		
7.	Gualcamayo	Mineros S.A. MINAS ARGENTINAS S.A.	Oro (Au)	 	
8.	Casposo	Austral Gold Limited TROY RESOURCES ARGENTINA LTD	Plata (Ag) Oro (Au)		
9.	San José	Hochschild Mining Plc / McEwen Mining Inc. MINERA SANTA CRUZ S.A.	Plata (Ag) Oro (Au)	 	
10.	Cerro Negro	Newmont-Goldcorp OROPLATA S.A.	Oro (Au) Plata (Ag)		
11.	Don Nicolás	CIMINAS MINERA DON NICOLÁS	Oro (Au) Plata (Ag)	 	
12.	El Tranquilo	Patagonia Gold Plc. / Fomlucruz PATAGONIA GOLD S.A.	Oro (Au) Plata (Ag)		
13.	Cerro Moro	Yamana Gold Inc. ESTELAR RESOURCES LIMITED ARGENTINA	Oro (Au) Plata (Ag)	 	
14.	Cerro Vanguardia	AngloGold Ashanti Ltd / Fomlucruz CERRO VANGUARDIA S.A.	Oro (Au) Plata (Ag)	 	
15.	Mina Martha	Hunt Mining Corp. CERRO CAZADOR S.A.	Plata (Ag) Oro (Au)		
16.	Manantial Espejo	Panamerican Silver Corp MINERA TRITON ARGENTINA S.A.	Plata (Ag) Oro (Au)		
17.	Río Turbio	YACIMIENTO CARBONIFERO RIO TURBIO	Carbón (C)		

MÉTODO			PROCESO DE BENEFICIO			
Cielo Abierto	Subterránea	Bombeo	Flotación	Lixiviación por agitación	Lixiviación en pilas	Evaporación

Figura 2. Principales operaciones mineras en la Argentina Año 2019 - Centro de Información Minera Argentina

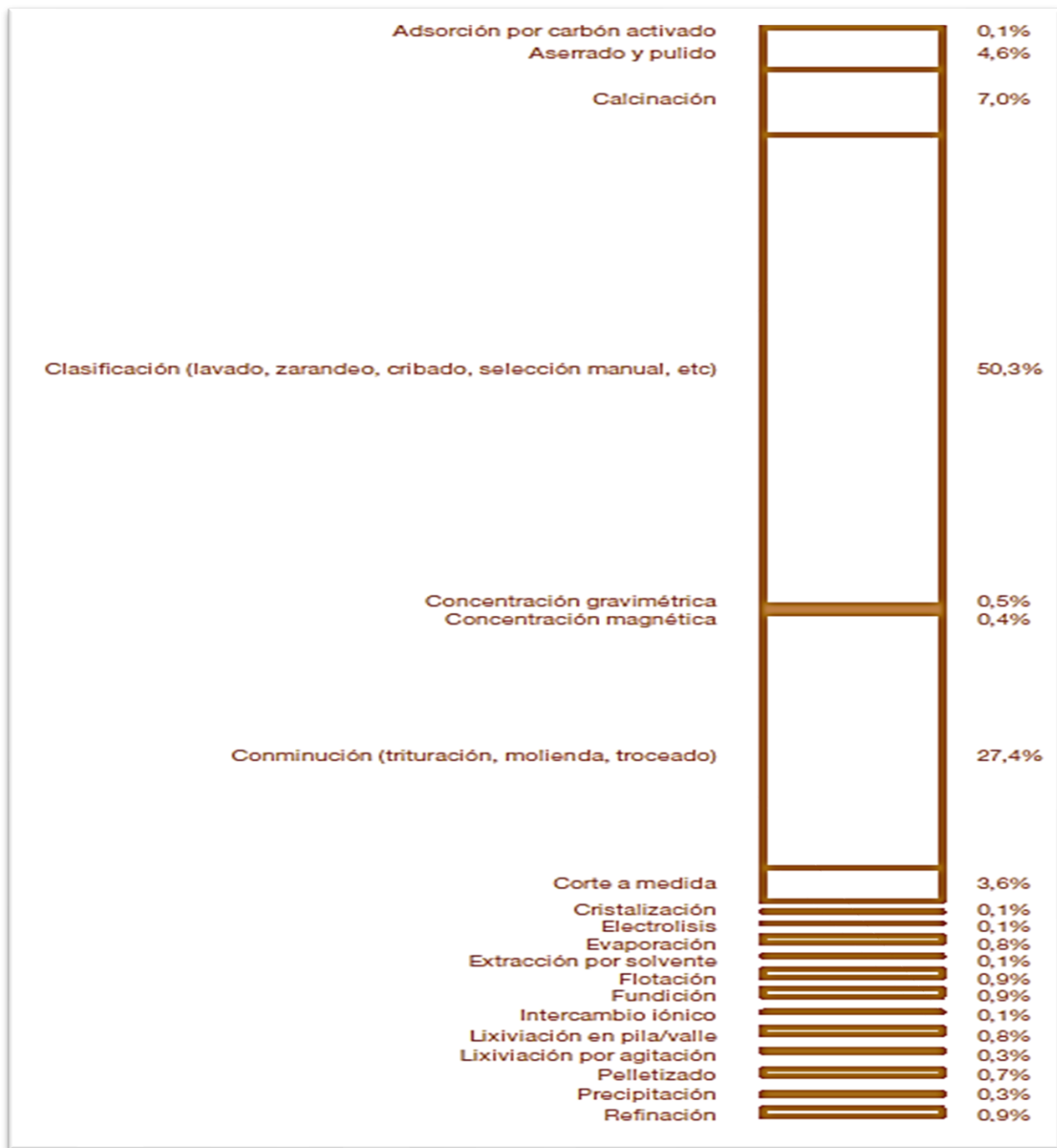


Figura 3. Procesos de beneficio del mineral en planta (en porcentaje) - Año 2016. Obtenido del Censo Nacional a la Actividad Minera - CENAM17 - Resultados Estadísticos 2016

1.3) Descripci3n de algunos sitios mineros de inter3s en Argentina

Antes de mencionar los sitios de extracci3n de minerales que se utilizaron para aislar y evaluar la aplicaci3n de microorganismos nativos en la biolixiviaci3n de minerales, es importante tener en cuenta que, en muchos otros lugares en el mundo, esta b3squeda se enfoca

en sitios termales vinculados a la actividad volcánica, pasivos mineros y lugares contaminados con metales pesados (Marsh y Norris. 1983; Huber y Stetter. 1989; Fuchs *et al.* 1995; Gómez *et al.* 1996; Bernardelli *et al.* 2017). Estos sitios se caracterizan por condiciones ambientales de alta acidez y presencia de metales, que resultan más apropiadas como hábitat de microorganismos potencialmente eficientes para los procesos biohidrometalúrgicos (Giaveno Filippa. 2010; Bernardelli *et al.* 2017).

En el noreste argentino existen depósitos mineros metalíferos importantes, como Farallón Negro, un depósito de la compañía YMAD (Yacimientos Mineros de Agua de Dionisio) y la Mina Aguilar, que pertenece a la compañía Glencore. (Lavandaio y Catalano. 2004; Carrizo *et al.* 2016; Centro de Información Minera de Argentina - CIMA, [en línea]).

1.3.1) Complejo Volcánico Farallón Negro - Yacimiento Los Viscos

El distrito (YMAD) en el Distrito de Hualfín, Departamento Belén, provincia de Catamarca, se encuentra a una altura promedio de 2.600 m sobre el nivel del mar y tiene una superficie de 344 Km². Está ubicado entre los paralelos 27° 15' y 27° 25' de latitud Sur y los meridianos 66° 31' y 66° 45' de longitud Oeste, en el Complejo Volcánico Farallón Negro que tiene forma de óvalo y cubre una superficie de alrededor de 255 Km². (Ovejero. 2007; Martínez *et al.* 2014).

El autor del primer informe técnico sobre los yacimientos del Complejo Volcánico Farallón Negro que incluye un plano de los principales sistemas vetiformes fue Peirano (1944). Malvicini y Llambías (1963) estudiaron la génesis de los yacimientos Farallón Negro, Alto de la Blenda y Los Viscos. Sister (1965) realizó el mapa geológico del Complejo a escala 1:20.000. Sasso y Clark (1999) estudiaron la evolución magmática hidrotermal y tectónica del Complejo Farallón Negro y sus implicancias para la metalogenia. Gutiérrez *et al.* (2006) aplicaron un método geoestadístico para determinar los niveles de exposición de los distintos yacimientos en el distrito (YMAD). Fogliata y Hagemann (2010) realizaron una revisión de los distintos sistemas de oro en Argentina, indicando que la producción combinada de los yacimientos Farallón Negro y Alto de la Blenda hasta el año 1999 fue de 479.286 t con 61,1 g/tn de Au y 112 g/tn de Ag (Ovejero. 2007; Martínez *et al.* 2014).

En el Complejo Volcánico Farallón Negro se ubican depósitos y prospectos de tipo pórfidos de Cu-Au y epitermales vetiformes de Au-Ag (Llambías. 1970; Ovejero. 2007). Entre los yacimientos vetiformes se destacan Alto de la Blenda y Farallón Negro, el último de oro, plata y manganeso, con extracción subterránea y método de explotación de corte y relleno, cuya planta comenzó a funcionar en el año 1977, y desde 1987 cuenta con una planta de refinación del metal, instalada en la ciudad de Catamarca. (Lavandaio y Catalano. 2004; Latino Minería, [en línea])

La planta posee un circuito de trituración, molienda, cianuración, precipitación y fusión y se utilizan dos procesos para la recuperación de los metales: la lixiviación por agitación donde se trata el mineral con mayores contenidos de oro y la lixiviación en pilas: donde se procesa el mineral con contenidos menores (Lavandaio y Catalano. 2004; Latino Minería, [en línea]).

Este proyecto ha sido objeto de estudios a fines de la década de 1990 con el fin de lograr mayores rendimientos económicos en la recuperación del oro y la plata de los minerales de baja ley y además se están estudiando tecnologías alternativas de extracción más eficientes, como la biolixiviación (Lavandaio y Catalano. 2004).

El yacimiento Los Viscos, también se ubica dentro del distrito (YMAD) y contiene minerales de baja ley de oro, plata, manganeso, cobre y plomo (Malvicini y Llambías. 1963; SIGAM, [en línea]). La (figura 4) muestra un esquema de la zona.

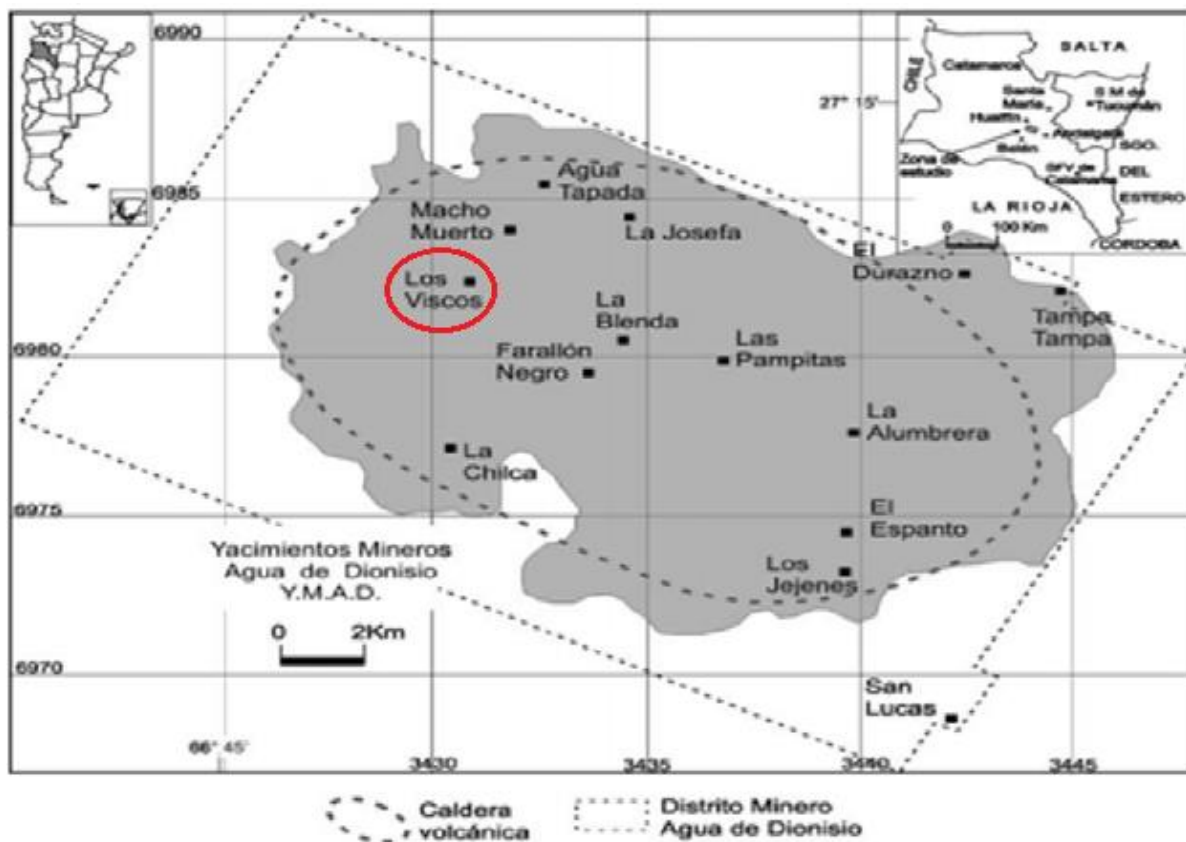


Figura 4. Esquema simplificado del Complejo Volcánico Farallón Negro y localización del yacimiento Los Viscos (Círculo rojo) (Modificado de NIVELES DE EXPOSICIÓN DE YACIMIENTOS DEL DISTRITO MINERO AGUA DE DIONISIO (YMAD) (Gutiérrez *et al.* 2006)

1.3.2) Complejo Minero El Aguilar - Yacimiento Aguilar

La Mina Aguilar inició sus operaciones en 1936 manteniéndose en actividad ininterrumpida hasta finales del 2020 y fue uno de los establecimientos mineros metalíferos de plomo, plata y cinc subterráneo más importantes del país. (Lavandaio y Catalano. 2004; El Cronista, [en línea]).

El complejo minero El Aguilar, yacimiento y planta concentradora de plomo y zinc, se encuentra en el noroeste de la provincia de Jujuy, en el Departamento de Humahuaca, aproximadamente a 23° 12' S de latitud, 65° 42' W de longitud, a una distancia aproximada de 270 km de San Salvador de Jujuy, al oeste de la ciudad de Humahuaca (Ver figura 5), con un rango de elevación comprendido entre los 3.950 y 4.750 metros sobre el nivel del mar (Sureda y Martin. 1990; Martin *et al.* 1994). En el 2005 el complejo minero fue adquirido por Glencore International Inc (AR Zinc S.A, [en línea]).

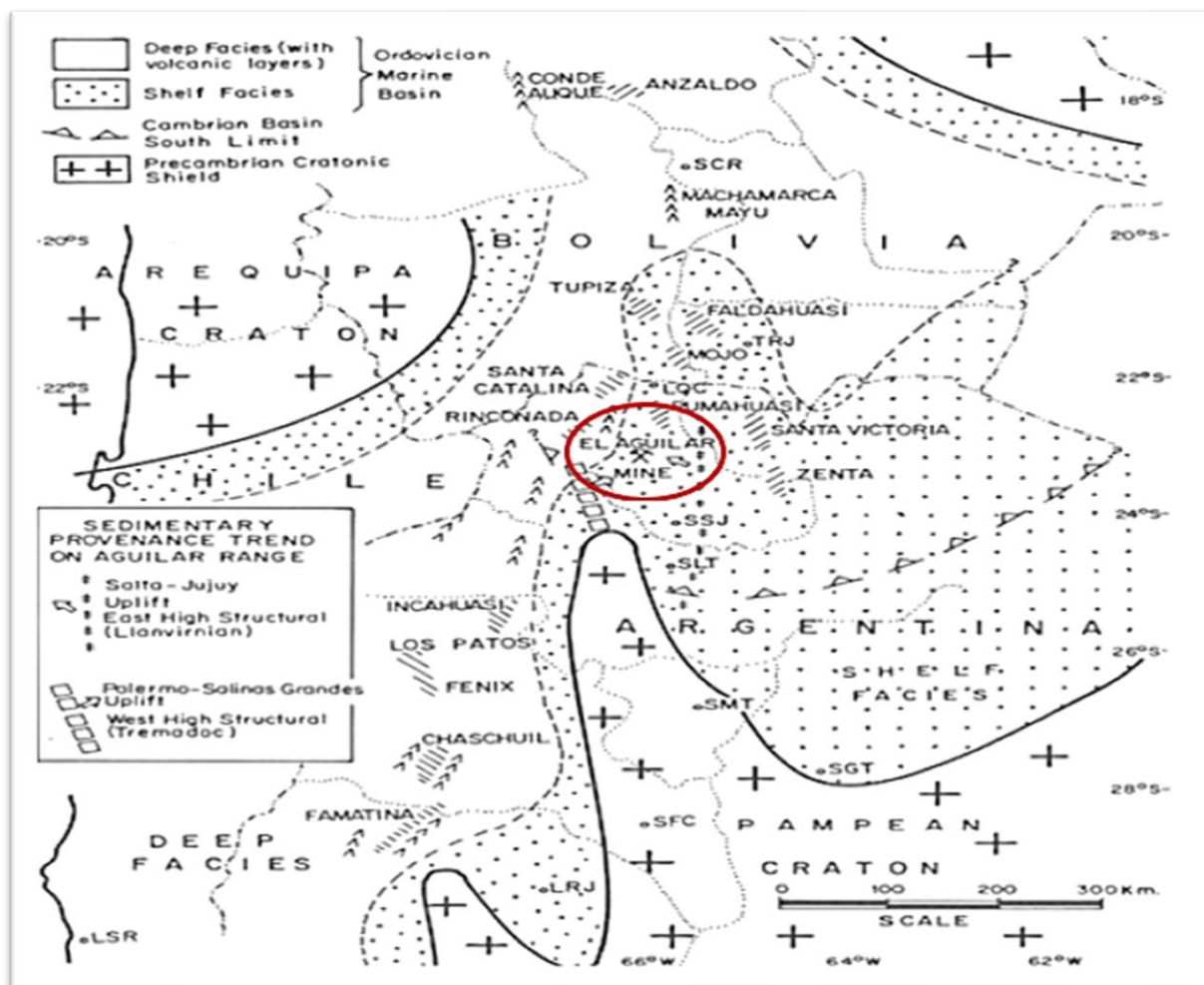


Figura 5. Ubicación de la Mina Aguilar (Círculo en rojo) – Modificado de An Ordovician Sediment-Hosted Stratiform Lead-Zinc Deposit in the Central Andes – (Sureda y Martín. 1990)

Numerosos trabajos geológicos hacen referencia a la mina El Aguilar. Los trabajos más recientes incluyen a Brodtkorb *et al.* (1978), Sureda y Amstutz (1981), Alonso *et al.* (1982), Martín *et al.* (1986, 1987), Sureda y Martín (1990), Gemmell *et al.* (1992), Martín *et al.* (1994) y Sureda *et al.* (1994), y describen la geología general, los registros paleontológicos y la génesis del mineral.

En 1994, la Mina Aguilar tenía unas reservas probables de unas 30 Mt con una ley media de 6.2% Zn, 5.5% Pb y entre 60 y 110 g/t Ag (Martín *et al.* 1994), equivalentes a unas 2.2 Mt de concentrados de Zn-Pb. Las reservas posibles ascendían a 60 Mt con el 18% Zn + Pb, lo que la convertía en la mayor mineralización de Zn-Pb de Sudamérica. La producción era del orden de 2000-2200 t/día con 4.1% Pb, 6.1% Zn y 90-110 g/t Ag (Locutura *et al.* 1998).

El método de extracción del mineral era subterráneo y se complementaba con un rajo, requiriendo la construcción de túneles, chimeneas y galerías. Luego, se implementó el sistema de rampa y se cambió a corte y relleno, utilizando en sus últimos tiempos la perforación con equipamiento electrohidráulico y explosivos de alta seguridad para realizar la voladura (Mining Press, [en línea]; Dirección Nacional de Minería, [en línea]).

Los minerales extraídos eran sometidos a los procesos de trituración, molienda, clasificación, flotación y concentración. (Mining Press, [en línea]; Dirección Nacional de Minería, [en línea])

En la planta de tratamiento se aplicaba una trituración primaria a los minerales de sulfuros polimetálicos. El material triturado era llevado por medio de camiones a un depósito intermedio o a un punto de descarga directa, que integraba un sistema de alimentación de la planta de trituración secundaria y terciaria (Mining Press, [en línea]; Dirección Nacional de Minería, [en línea]).

Para la molienda se utilizaban molinos semiautógenos, que operaban en medio acuoso formándose una pulpa con 80% de sólidos en peso. Luego, el material era clasificado, las partículas de mayor tamaño volvían a un molino de bolas, mientras que las de tamaño adecuado estaban constituidas por una pulpa con un contenido de 45% en sólidos, que pasaban a un circuito de flotación. En la etapa de molienda se acondicionaba la pulpa mediante la incorporación de reactivos que facilitaban la flotación del plomo, permitiendo que las partículas que contengan galena puedan adherirse a las burbujas de aire, mientras que las partículas restantes se mojaban y se hundían en la masa acuosa (Mining Press, [en línea]; Dirección Nacional de Minería, [en línea]).

En el circuito de flotación se comenzaba con la flotación de galena, principal portador de plomo y plata, y se terminaba con la flotación de esfalerita y/o marmatita, sulfuros portadores de zinc (Mining Press, [en línea]; Dirección Nacional de Minería, [en línea]).

Luego se realizaba una decantación en espesadores y se utilizaba el proceso de filtración, que separaba el contenido de agua de los concentrados de plomo y zinc que se habían producido, recuperando parte del fluido para su reutilización (Mining Press, [en línea]; Dirección Nacional de Minería, [en línea]).

El mineral concentrado de plomo-plata era enviado a la fundición Palpalá (Jujuy) instalada en 1999 con una capacidad de producción aproximada de 1.000 t mensuales de metal

y el concentrado de zinc era enviado a la planta AR Zinc ubicada en Fray Luis Beltrán, Santa Fe, donde se obtenía cinc electrolítico, ácido sulfúrico y cadmio. (Lavandaio y Catalano. 2004; Mining Press, [en línea]).

1.4) Consecuencias de la minería

La actividad minera impacta en los ambientes naturales, generando su degradación debido a los procesos convencionales de explotación metalífera y como agravante, se utilizan grandes volúmenes de agua para los procesos mineros. Este impacto en ciertas ocasiones puede ser irreversible (Gómez Lende. 2016, 2018).

Los desechos generados por la actividad minera, especialmente las aguas residuales, contienen contaminantes peligrosos como: metales pesados, cianuros y metaloides (Johnson y Hallberg. 2005; Sheoran y Sheoran. 2006). Estos desechos pueden afectar negativamente diversos medios como el suelo, las aguas superficiales y subterráneas, así como a los organismos vivos (Gómez Lende. 2016, 2018).

Una de las peores consecuencias de la actividad minera metalífera es la generación de los drenajes mineros ácidos (DMA). Estos drenajes pueden formarse por procesos antropogénicos o geoquímicos naturales (Neculita *et al.* 2007) y se producen por la acción del agua, la humedad y el oxígeno sobre sulfuros metálicos que normalmente acompañan a las mineralizaciones metalíferas y las soluciones ácidas resultantes por la generación de sulfatos incorporan a los metales pesados de la mena. Si bien la cinética de oxidación de los sulfuros es lenta, es factible que en la naturaleza se conjuguen diferentes variables que pueden acelerar la solubilización de metales hasta niveles alarmantes (Edwards *et al.* 2000). Entre los factores más importantes que catalizan la oxidación e incrementan la velocidad de disolución de los sulfuros se pueden mencionar la temperatura y la presencia de microorganismos acidófilos (du Plessis *et al.* 2007).

Como los DMA pueden incorporarse a la red fluvial, la dispersión de sus contenidos aumenta y pueden influir inclusive lejos de su lugar de origen (Equeenuddin *et al.* 2010; Yesilnacar y Kadiragagil. 2013), lo que dificulta su resolución y además pueden generarse mucho tiempo después de que las actividades extractivas han finalizado. Los ríos y acuíferos afectados por este tipo de contaminación se caracterizan por su acidez, por el alto

contenido en sulfatos y metales pesados de sus aguas y por el contenido metálico de sus sedimentos (Johnson y Hallberg. 2005; Hallberg. 2010).

Las impurezas contenidas en los minerales tratados y posteriormente en el concentrado ocasionan problemas cuando se procesan por fundición, como las emisiones peligrosas que generan contaminación atmosférica y la calidad del metal como producto final. Impurezas típicas que impactan negativamente en el proceso de fundición son el arsénico, el antimonio y el bismuto (Villarroel. 1999). La concentración de arsénico en estos procesos proporciona un fuerte impulso hacia métodos de lixiviación y biolixiviación de concentrados que no se vean afectados por el arsénico (Dopson y Lindstrom. 1999; Casiot *et al.* 2003; du Plessis *et al.* 2007).

Estos factores negativos que influyen en el medioambiente han generado una presión social muy fuerte en los últimos años, con el objetivo de disminuir el impacto ambiental de la minería y en algunos casos evitar su actividad. (Saade Hazin. 2013; Gómez Lende. 2016, 2018).

1.5) Ventajas de la biominería

La biominería utiliza procesos biohidrometalúrgicos que aprovechan y explotan el metabolismo de microorganismos para separar las partículas de metal de las impurezas de forma natural, ya que para su crecimiento utilizan como fuente de energía principalmente dos elementos que suelen estar presentes en los minerales: el azufre y el hierro. Esta capacidad metabólica y la alta tasa de adaptación de los microorganismos permite la solubilización de metales de interés contenidos en fuentes minerales por medio de un ataque oxidante y/o ácido en distintas condiciones (Giaveno Filippa. 2010; Bernardelli *et al.* 2017). Al final del proceso se obtienen soluciones concentradas de metales, a partir de la cual se pueden recuperar con técnicas clásicas como la extracción por solventes y electroobtención utilizadas por la minera Codelco en Chile para el cobre (CODELCO EDUCA, [en línea]).

Los procesos biohidrometalúrgicos presentan grandes ventajas: son robustos, selectivos, de menor costo que los fisicoquímicos, requieren menor inversión de capital, menor infraestructura y recursos, son fácilmente operables y escalables, generan una menor contaminación ambiental durante el proceso y tienen buenos rendimientos y rentabilidades en

la recuperación de metales a partir de minerales de baja ley en comparación con los métodos convencionales (Rodríguez *et al.* 2001; Ho Lock. 2004).

En las últimas décadas se incrementó la utilización industrial de técnicas incluidas en la biohidrometalurgia, destacándose la biolixiviación y la biooxidación de minerales (Calegari *et al.* 2018). La biolixiviación presenta algunos beneficios desde un enfoque ambiental en comparación con los métodos convencionales utilizados en la minería, como: evitar la producción de relaves que son los desechos tóxicos de los procesos mineros y evitar la emisión de vapores de azufre y arsénico a la atmósfera desde los hornos de fundición ya que los microorganismos pueden metabolizar estas impurezas (Rodríguez *et al.* 2001). El proceso de biooxidación ha demostrado tener importantes ventajas frente a otros métodos de pretratamiento como la tostación o la oxidación en autoclave y ha catapultado la aplicación de los procesos biohidrometalúrgicos debido a que es eficiente, se realiza a temperaturas moderadas, tiene bajos costos de operación e instalación, genera poco impacto ambiental y requiere un menor consumo de energía (Giaveno Filippa. 2010; Natarajan. 2018).

La biolixiviación en tanques es particularmente efectiva en la neutralización de concentrados de lixiviación y para producir efluentes aceptables para el medioambiente (Broadhurst. 1992; Schaekers. 1998). Además, este proceso puede utilizarse para tratar el trióxido de arsénico producido y recuperado como un polvo seco del gas desprendido durante el tostado de concentrados que contienen arsenopirita (van Aswegen *et al.* 2007). El proceso de biooxidación también puede utilizarse para tratar el arsénico, oxidando con éxito el As (III) a As (V) en los biorreactores (Osei-Owusu. 2001; van Niekerk. 2001), cuya disposición es difícil y costosa debido a su toxicidad para todos los organismos vivos. El arsénico puede entonces precipitarse en presencia de sulfato férrico como arseniato férrico, que es estable durante la neutralización y adecuado para su disposición en presas de relaves convencionales.

Una consideración técnica importante, al comparar los concentrados de las tecnologías de lixiviación, es el nivel de oxidación de azufre requerido: si bien la oxidación parcial de azufre durante el proceso de lixiviación del concentrado puede representar un ahorro operacional en el consumo de oxígeno; resulta en un residuo oxidable con costos asociados, ya que su disposición y control puede generar ácido cuando se acumulan en los relaves (du Plessis *et al.* 2007). La biolixiviación en tanques para la obtención de concentrados permite oxidar completamente el azufre a sulfato (Gericke *et al.* 2001).

Pese a las ventajas mencionadas, a la relevancia que están tomando los mecanismos de biolixiviación, biooxidación, las investigaciones y aplicaciones que continúan desarrollándose, el impacto de estas tecnologías en las operaciones comerciales aún sigue siendo relativamente bajo (Brierley. 2008; Bernardelli *et al.* 2017). Además, se continúan utilizando procesos convencionales altamente contaminantes como la pirometalurgia, el proceso más utilizado para el tratamiento de minerales que contienen oro (Saavedra y Cortón. 2014; Chemistry Libretexts: Principles of Extractive Metallurgy, [en línea]).

1.6) Situación actual de la biominería en la Argentina

En Argentina no se están aplicando los procesos de biolixiviación y/o biooxidación a nivel industrial aún con los intentos de incorporar a la minería como una base importante de la economía y en la mayoría de los casos solo se aplican procesos físicos de preparación de los concentrados para su posterior traslado a otros países como Australia y Canadá, que cuentan con estas tecnologías de mayor rendimiento para la recuperación de metales (Pogliani. 1999; Universidad Nacional de La Plata - Facultad de Ciencias Exactas, [en línea]).

A nivel de laboratorio se están realizando muchas investigaciones, ya que es importante estudiar y evaluar la aplicación de organismos extremófilos nativos en distintos minerales regionales para la obtención de metales por diferentes procesos de biolixiviación. Un posible campo de aplicación para la biohidrometalurgia y de interés para la minería, sería tratar los recursos minerales con contenido de oro que hay en Argentina. Es relevante realizar estudios sobre la factibilidad técnica y viabilidad económica de aplicar la biooxidación, en particular con consorcios extremófilos nativos, como pretratamiento de los minerales con contenido de oro para su posterior recuperación por el proceso de cianuración. (Giaveno Filippa. 2010; XIV Jornadas Argentinas de Tratamiento de Minerales. 2018).

1.7) Hipótesis del trabajo

En función de todos los antecedentes expuestos se plantean las siguientes hipótesis de trabajo, para brindar más información sobre los procesos biológicos eficientes y sustentables de la biominería:

- Los minerales de yacimientos metalíferos contienen microorganismos que pueden ser aislados.
- Las cepas bacterianas aisladas de minerales metálicos de baja ley son eficientes en la recuperación de metales de interés comercial, utilizando los procesos de biolixiviación y biooxidación.
- Los procesos biohidrometalúrgicos aplicados a los minerales metálicos, con las cepas bacterianas estudiadas, son adecuados para la recuperación de metales de interés comercial.

1.8) Objetivos del trabajo

Esta tesis se enfocará en el aislamiento y caracterización de cepas nativas con potencial aplicación en la recuperación de metales de interés comercial, presentes en minerales metálicos de baja ley, como alternativa a los procesos convencionales.

Para evaluar la eficiencia de los procesos biohidrometalúrgicos y de las cepas bacterianas estudiadas, se desarrollarán cultivos en batch y pilas de biolixiviación, a fin de estudiar la potencialidad de escalado de estos procesos, aplicados a diferentes tipos de minerales metálicos.

A continuación, se mencionan los objetivos específicos de este trabajo:

- 1) Aislar y caracterizar cepas bacterianas extremófilas con potencial aplicación en procesos de biolixiviación, a partir de minerales sulfurosos que contienen oro, plata, y otros metales de interés como manganeso, a partir de minerales metálicos de baja ley.
- 2) Obtener ácido biogenerado por medio de un biorreactor para su aplicación en la extracción de metales de interés a partir de los minerales estudiados.
- 3) Realizar ensayos de biolixiviación en batch agitados y en pilas, de los minerales mencionados, bajo diferentes condiciones de cultivo, utilizando diferentes cepas bacterianas y el ácido biogenerado obtenido en el objetivo 2.

Capítulo 2

Aislamiento de cepas bacterianas con potencial biolixivante y ensayos en batch

2.1) Introducción a la biominería

La biominería es conocida por utilizar microorganismos para la recuperación de metales a partir de minerales y otras fuentes. Varios de estos microorganismos oxidantes de hierro y azufre se descubrieron por primera vez en operaciones de lixiviación en vertederos. Se estima que los inicios de su aplicación ocurrieron en la década de 1960, cuando se estudió en detalle el proceso de recuperación de metales retenidos en minerales sulfurosos y la recuperación de cobre de minerales con cantidades muy bajas de metal para poder ser accesibles por la minería convencional o procesados por fundición convencional (Hsu y Harrison. 1995; Bosecker. 1997; Brandl. 2001; Brierley y Brierley. 2001; Rawlings y Johnson. 2007). Luego, se aplicó la biolixiviación a menas sulfuradas conteniendo oro en matrices de pirita o arsenopirita refractaria, relaves, al tratamiento de efluentes mineros y a procesos de biorremediación (Jain y Sharma. 2004; Bernardelli. 2017).

Dependiendo de las características del mineral y del valor comercial de los metales a ser extraídos, varias metodologías de procesamiento pueden ser utilizadas para la lixiviación de metales. Las más utilizadas en la biominería debido a sus ventajas con las alternativas tradicionales son: los biorreactores de tanque agitado y las pilas de lixiviación (Pogliani. 1999; Rawlings y Johnson. 2007; Rathna y Nakkeeran. 2020)

Los biorreactores fueron aplicados por primera vez en procesos para recuperar metales de alto valor económico que justificaban los costos, como el oro o el uranio, obtenidos por lixiviación bacteriana de minerales refractarios triturados y molidos, en condiciones de crecimiento y control rigurosas y por lo tanto más costosas (Bruynesteyn y Duncan. 1971; Torma. 1989; McCready y Gould. 1990; Morin. 1995; Rawlings y Silver. 1995; Bosecker. 1997; Rawlings. 1998; Morin y D'Hugues. 2007).

Los tanques agitados pueden incrementar significativamente la velocidad del proceso en comparación con las pilas, debido a la agitación continua y al proceso de molienda del mineral que aumenta la superficie expuesta, disminuyendo los tiempos a unos pocos días.

Los de mayor tamaño contienen más de 1.000.000 de litros y pueden procesar más de 2000 toneladas diarias de concentrado (Pogliani. 1999; Bernardelli. 2017).

Cuando el metal a recuperar no justifica realizar procedimientos que encarezcan el proceso como la molienda o la agitación, se utiliza la metodología de las pilas de lixiviación (Pogliani. 1999; Bernardelli. 2017).

Estos procesos a escala industrial están firmemente establecidos en los cinco continentes con la excepción de Europa. Existen casos de éxito de estas tecnologías en Australia, Canadá, Chile, China, Ghana, Finlandia y Uganda (Rawlings y Johnson. 2007; Bernardelli. 2017). En particular, la empresa Codelco en Chile recupera cobre de los yacimientos con una eficiencia del 90% mientras que las técnicas convencionales recuperan el 60% (Beckel. 2001; Domic. 2001, 2007). La recuperación de cobre a partir de minerales sulfurados de baja ley es el objetivo central de las principales aplicaciones comerciales de biolixiviación en el mundo (Badilla. 2005; Gentina y Acevedo. 2013; Johnson. 2014). En la actualidad alrededor del 15% del cobre y el 5% del oro que se producen a nivel mundial son obtenidos a partir de procesos biológicos (Bernardelli. 2017).

El enorme crecimiento de los métodos biohidrometalúrgicos en los últimos 20 años está directamente asociado a la posibilidad de utilizar el proceso de biooxidación como pretratamiento de minerales refractarios de oro y al incremento de su precio en el mercado (Bernardelli. 2017; U.S Geological Survey, [en línea]). A pesar del espectacular incremento del precio de los metales, su producción mundial no ha crecido en la misma medida. (Giaveno Filippa. 2010).

A continuación, se describen los procesos de biolixiviación y biooxidación utilizados para la obtención de metales en la biohidrometalurgia, los microorganismos utilizados y cómo se aplican estos procesos a escala industrial en los tanques agitados. Estos procesos fueron utilizados posteriormente con distintos minerales en los ensayos en batch.

2.2) Biolixiviación

La biolixiviación es un proceso de solubilización de metales que realizan los microorganismos que crecen asociados a minerales y ocurre en condiciones naturales. Se utiliza en la industria minera para la solubilización y recuperación de metales como cobre, plomo, cobalto, níquel, zinc y uranio, a partir de la acción y metabolismo de diferentes

microorganismos (Rawlings y Silver. 1995) como hongos, levaduras (Ehrlich y Rossi. 1990; Rezza *et al.* 2001) o bacterias (van Aswegen. 1993; Brierley. 1994, 1997; Kelly y Wood. 2000; Brierley y Brierley. 2001), lo que permite aprovechar depósitos insolubles de metales o minerales sulfurados de baja ley. También se utiliza para mejorar el proceso de extracción de metales preciosos como el oro y la plata contenidos en sulfuros refractarios y para el tratamiento de aguas residuales (Jain y Sharma. 2004).

Cuando se involucran mecanismos de lixiviación bacteriana en operaciones mineras hay que considerar el metabolismo de los microorganismos para tratar con fuentes minerales de sulfuros y evaluar cuidadosamente las nuevas condiciones de entorno establecidas en la operación de lixiviación (CODELCO EDUCA, [en línea]). Es necesario evaluar la composición mineral, el ambiente químico, la coexistencia e interacción simbiótica de diferentes especies bacterianas y condiciones físicas como la temperatura y la presión (Tributsch y Rojas-Chapana. 2007).

Cuando ocurren problemas en los procesos de biolixiviación, estos se deben generalmente a parámetros físicos o al diseño e ingeniería del proceso y no a los microorganismos utilizados. Esta solidez se debe a varios factores interrelacionados: uno de los más importantes es que no se requieren condiciones estériles, ya que el microorganismo más rápido dominará el proceso y es probable que sea el más deseable (Rawlings. 2007).

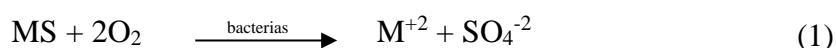
Si existen problemas en la lixiviación debido a limitaciones en las bacterias utilizadas, pueden utilizarse los microorganismos más aptos disponibles e intentar mejorarlos ejerciendo una presión de selección sobre la población, seleccionando aquellos que se adapten mejor a las condiciones requeridas para el proceso industrial (Rawlings. 2007).

2.2.1) Mecanismos de lixiviación bacteriana

Se han propuesto dos mecanismos que intervienen en la lixiviación bacteriana con distintos minerales, la lixiviación directa y la indirecta (Rossi. 1990; Bosecker. 1997; Lawrence. 1997; Sand *et al.* 2001; Ehrlich y Newman. 2009). Estos mecanismos se describen a continuación (Ho Lock. 2004):

Lixiviación Directa

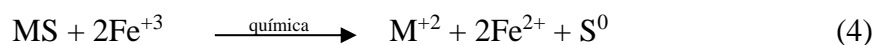
El mecanismo directo propone la solubilización del mineral sulfurado debido a la interacción directa de la bacteria sobre el mineral, que oxida biológicamente a los sulfuros inorgánicos y a los compuestos de azufre a sulfatos. El proceso se describe en la siguiente reacción, donde MS representa a un metal sulfurado y M representa un metal bivalente:



Se ha comprobado que en estos microorganismos los exopolímeros participan en la adherencia a la superficie de los minerales y en los procesos de ataque a los sulfuros (Donati *et al.* 1996; Giaveno y Donati, 2001; Sand *et al.* 2001; Falco *et al.* 2003; Gatti *et al.* 2003; Yang *et al.* 2008; Bevilaqua *et al.* 2010).

Lixiviación Indirecta

El mecanismo indirecto propone la solubilización del mineral sulfurado por oxidación de este con un producto intermedio, el ion férrico. En este mecanismo el azufre elemental y el ion ferroso son oxidados por la bacteria, operando en un ciclo de oxidación-reducción del hierro (Ho Lock. 2004).



El hierro férrico necesario para las reacciones de lixiviación depende de la oxidación del hierro ferroso y de la aireación del mineral (Rawlings. 2007). El hierro férrico es el principal lixivante en la solubilización de la mayoría de los minerales (Rohwerder *et al.* 2003; Rawlings. 2007), produciendo un alto potencial redox en el medio (Nemati *et al.* 1998; Meruane *et al.* 2002). Para cumplir esta función se requiere que el hierro férrico esté en solución.

Dado que el hierro siempre está presente en ambientes de lixiviación natural, es posible que tanto la lixiviación indirecta como la directa ocurran de manera simultánea (CODELCO EDUCA, [en línea]).

El ácido sulfúrico generado en la solubilización del mineral sulfurado mantiene el pH a niveles favorables para el desarrollo de las bacterias acidófilas (Baker-Austin y Dopson, 2007). Es esencial para los procesos de biolixiviación que los microorganismos puedan crecer a pH bajo y tolerar altas concentraciones de ácido (Elbehti *et al.* 2000; Brasseur *et al.* 2002). Por otra parte, los protones también tienen una participación directa en la solubilización de ciertos minerales (Rohwerder *et al.* 2003), ya que rompen enlaces químicos del azufre y mantienen los complejos de Fe^{3+} , hidróxidos de hierro y óxidos de hierro en solución, ya que el hierro férrico es casi insoluble a pH neutro, mientras que en soluciones ácidas ($\text{pH} < 2,5$) su solubilidad aumenta considerablemente (Tributsch y Rojas-Chapana, 2007). Además, el hierro ferroso se oxida espontáneamente a hierro férrico cuando se airea, a menos que el pH sea bajo (Rawlings, 2005).

2.3) Biooxidación

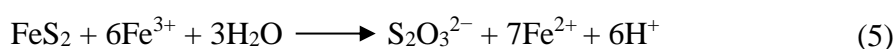
En algunos casos, el metal no puede disolverse por la acción de los microorganismos oxidantes del hierro y/o azufre, ya que se necesita una oxidación más energética de la que los microorganismos pueden aportar, pero es posible utilizar esa acción microbiana como pretratamiento de los minerales de oro para mejorar la eficiencia de extracción y que el metal de interés pueda ser lixiviado con mayor facilidad (Bernardelli *et al.* 2017). Este proceso destruye la matriz sulfurada y libera a los metales de los sulfuros y arsenosulfuros que suelen ocluirlo (van Aswegen *et al.* 1988; Loayza y Ly, 1999). Cuando la acción microbiana aumenta la exposición del elemento a recuperar y no disuelve la especie de interés, pero la libera, el proceso se denomina biooxidación. La comprensión actual es que la biooxidación es un proceso químico en el que el hierro férrico y los protones son responsables de las reacciones de lixiviación dependiendo del tipo de mineral (Rawlings, 2011).

Es importante destacar que la oxidación del azufre es una parte importante de la biooxidación de minerales debido a la generación de sulfatos solubles. El ácido sulfúrico es el responsable del entorno de pH bajo en el que tienen lugar las reacciones de oxidación de minerales (Rawlings, 2011). Estas reacciones son altamente exotérmicas y esta energía puede aprovecharse durante el proceso.

Se ha propuesto en base a la biooxidación una perspectiva química que permite dividir a los minerales en dos amplias categorías: los minerales insolubles en ácido que se

solubilizan mediante su oxidación con el hierro férrico, como la Pirita (FeS_2), Molibdenita (MoS_2) y Tungstenita (WS_2) y los minerales ácido solubles que se oxidan por la acción combinada del hierro férrico y los protones, como la Blenda (ZnS), Galena (PbS), Arsenopirita (FeAsS), Calcopirita (CuFeS_2) y Hauerita (MnS_2) (Schippers y Sand. 1999; Rohwerder *et al.* 2003).

A continuación, se muestra un ejemplo de oxidación de la pirita (FeS_2) (Rawlings. 2007), en donde el hierro y azufre están fácilmente disponibles:



La reacción y velocidad de oxidación de la pirita es mejorada en gran medida por las bacterias (Bond *et al.* 2000; Dong *et al.* 2020), que recolectan parte de la energía química, que de otro modo se disipará en forma de calor. (Tributsch y Rojas-Chapana. 2007)

Garrels y Thompson (1960) estudiaron la oxidación de la pirita por la acción de ion férrico en reactores batch, utilizando nitrógeno para asegurar que el ion férrico fuese el único oxidante y observaron que la velocidad de lixiviación de la pirita disminuye al aumentar las concentraciones de H^+ e ion ferroso y aumenta con concentraciones del ion férrico cada vez más elevadas. De sus resultados concluyeron que la velocidad de oxidación de la pirita es principalmente una función del potencial de oxidación de la solución, es menor con la disminución de la relación $[\text{Fe}^{+3}]/[\text{Fe}^{+2}]$ y es independiente del contenido total de hierro. (Velasco Saragoni. 2009).

Cuando se observa la variación de la razón $[\text{Fe}^{+3}]/[\text{Fe}^{+2}]$, para una misma concentración de hierro total, el aumento de esta razón provoca el aumento de los potenciales redox (Meruane. 2002). Es necesario asegurar que la relación $[\text{Fe}^{+3}]/[\text{Fe}^{+2}]$ sea lo más alta posible para alcanzar un máximo potencial y, por lo tanto, la mayor corriente de corrosión para lograr una lixiviación del mineral más rápida. (Rossi. 1993, Malik *et al.* 2001, Ackil *et al.* 2007, Cardona *et al.* 2009)

Para el caso de los minerales sulfurados de cobre, la temperatura y la relación $[\text{Fe}^{+3}]/[\text{Fe}^{+2}]$ (expresada como potencial redox) (Boon *et al.* 1998) son los principales factores que influyen en su disolución.

2.4) Procesos indirectos de lixiviación

El contacto entre las bacterias y el mineral es importante, aunque no esencial, ya que los microorganismos producen una capa de exopolisacáridos cuando se unen a un mineral (Sand et al. 1995), que sirve como un espacio en donde las reacciones de disolución del mineral tienen lugar de manera más eficiente que en la solución. Este aumento de la eficiencia se debe en parte a que las condiciones dentro de la capa de exopolisacáridos (por ejemplo, concentración de hierro férrico, potencial redox y pH) son sustancialmente diferentes en comparación con las de la solución del entorno (Rawlings. 2007).

Los procesos indirectos permiten evitar una serie de inconvenientes en la aplicación de la lixiviación bacteriana por interacción directa, como: inhibición bacteriana parcial o total provocada por las altas concentraciones en los lixiviados de los metales a recuperar o por otras especies minoritarias tóxicas para estos microorganismos, brusca finalización del proceso de disolución por cubrimiento de la superficie del mineral por subproductos sólidos e imposibilidad de regulación de los parámetros críticos para el crecimiento dentro de la masa del mineral (Pogliani. 1999).

2.5) Microorganismos aislados y utilizados en la biominería

El aislamiento e identificación de microorganismos y consorcios altamente resistentes a entornos de acidez (acidófilos), metales pesados y otras condiciones extremas (extremófilos), permite la generación de procesos más sustentables en el campo de la minería. Estos microorganismos se encuentran generalmente en minerales y sedimentos con alto contenido de compuestos reducidos de azufre y hierro, formando parte de la flora nativa microbiana. También se encuentran íntimamente relacionados a la generación de drenajes ácidos en las minas (Bernardelli *et al.* 2017). Existen extremófilos capaces de crecer en temperaturas muy bajas hasta temperaturas superiores a 120 °C (Norris. 1990; Franzmann *et al.* 2005), presiones muy bajas o superiores a la atmosférica, bajo diferentes tipos de radiaciones, en entornos con valores de pH entre 0,5 y 11, concentraciones muy elevadas de sales y de metales pesados y otras condiciones extremas (Antranikian *et al.* 2005; Ferrer *et al.* 2007; Jia *et al.* 2013; Reed *et al.* 2013).

Los acidófilos extremos crecen en un entorno de pH bajo, mientras que el pH celular interno es casi neutro (Cox et al. 1979; Rawlings. 2007). Los más conocidos

involucrados en la oxidación de minerales con sulfuros se pueden ubicar en uno de los tres grandes grupos en base a sus rangos de temperatura para el crecimiento y a sus relaciones evolutivas. Estas son las proteobacterias mesófilas (temperatura óptima de 20 a 40 °C), los termófilos moderados Gram-positivos (40 a 60 °C) y las arqueas termófilas (por encima de 60 °C). Esta agrupación es conveniente pero no totalmente precisa. Algunos organismos muestran considerables superposiciones en sus rangos de temperatura para el crecimiento y algunos grupos filogenéticamente coherentes tienen especies activas en amplios rangos de temperatura (Norris. 2007).

Dentro de los microorganismos más utilizados para la biolixiviación en procesos de biohidrometalurgia se encuentran las bacterias quimioautotróficas y mesófilas *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans* (Johnson. 1998; Kelly y Wood. 2000; Hallberg y Johnson. 2001; Rawlings. 2002), debido a las siguientes propiedades metabólicas: crecer en base a la oxidación de compuestos inorgánicos, su condición de acidófilos, su alta resistencia a los metales pesados y su adaptación a concentraciones crecientes de estos metales en relativamente pocas generaciones. Por otro lado, su mantenimiento y aplicación es de bajo costo, ya que utilizan el dióxido de carbono como fuente de carbono, sus requerimientos nutricionales son básicos, pueden crecer a temperaturas relativamente moderadas y no requieren una gran inversión en infraestructura. Todas estas características las hacen ideales para la recuperación de los siguientes metales, en distintos procesos de biolixiviación con distintos minerales: cobre (Schnell. 1997; Brierley y Brierley. 2001); oro (Aswegen. 1993; Brierley. 1994, 1997; Brierley *et al.* 1995); uranio (McCready y Gould. 1990; Khalid *et al.* 1993); cobalto (Briggs y Millard. 1997; D'Hugues *et al.* 1999) y níquel y zinc (Dew y Miller. 1997).

Aunque los primeros microorganismos asociados a los procesos de biolixiviación eran esencialmente mesófilos o termófilos moderados, se empezaron a detectar termófilos en las aplicaciones industriales y, en particular, en los tanques agitados, ya que los procesos de biolixiviación y biooxidación son altamente exotérmicos (Demergasso *et al.* 2005; Karavaiko *et al.* 2005; Rawlings. 2005). Debido a esto, una variante en la biominería es utilizar microorganismos termófilos moderados, con un rango óptimo de temperatura entre 45 y 55 °C, como *Acidithiobacillus caldus*, *Acidimicrobium*, *Sulfobacillus* y *Ferroplasma*, e incluso termófilos extremos con temperaturas óptimas entre 60 y 85 °C, como las arqueas de los géneros *Sulfolobus*, *Acidianus* y *Metallosphaera*. La incorporación de estos microorganismos provoca

un incremento notable en las velocidades del proceso, reduciendo significativamente el tiempo necesario para alcanzar rendimientos aceptables. (Norris *et al.* 2000; Plumb *et al.* 2002; Holmes y Bonnefoy. 2007).

La naturaleza autótrofa de los acidófilos que dominan los bioprocesos industriales acelerando la disolución de minerales en ambientes ácidos es una característica clave de su utilidad. Sin embargo, hay otros microorganismos que pueden tener un gran impacto en el proceso general por sus interacciones positivas o negativas con los procariontes oxidantes del mineral. En su mayoría son heterótrofos e incluyen eucariotas (protozoos, microalgas y hongos), así como bacterias y arqueas (Johnson y Hallberg. 2007).

Está comprobado que en general los consorcios compuestos por varias especies microbianas suelen ser más eficaces en los procesos de biolixiviación de metales que los cultivos puros, debido a esto, es importante entender cómo cada especie se desarrolla, interacciona y coopera dentro de estas comunidades microbianas (Okibe y Johnson. 2004; Holmes y Bonnefoy. 2007). Estos consorcios contienen especies indispensables capaces de oxidar hierro (II) y/o azufre y otras que contribuyen a su funcionamiento adecuado. Por ejemplo: algunos heterótrofos evitan la inhibición del proceso de lixiviación, ya que utilizan ácidos orgánicos de cadena pequeña como fuente de energía que son inhibidores de muchos microorganismos lixiviantes. Otros pueden contribuir directamente a la oxidación del mineral, como los acidófilos oxidantes del hierro heterótrofos obligados (Johnson y Roberto. 1997).

La identificación de estos microorganismos y la investigación de sus interacciones en las operaciones de biolixiviación es estudiada por la ecología microbiana y debe considerarse para comprender y mejorar los procesos de biolixiviación (Holmes y Bonnefoy. 2007).

2.5.1) Metabolismo energético de los microorganismos

Los miembros de los dominios Arquea y Bacteria pueden oxidar los compuestos de azufre inorgánico reducido o RISC (del inglés Reduced Inorganic Sulfur Compounds) que sirven como donantes de electrones. La energía obtenida durante la oxidación la utilizan para la fijación del dióxido de carbono y el crecimiento celular, en donde el oxígeno es el aceptor de electrones más favorable energéticamente. Estos compuestos de azufre se oxidan

principalmente a sulfato. Los RISC de origen natural están presentes en los minerales que contienen sulfuro, que están expuestos en la superficie. (Rawlings. 2007).

Se ha demostrado que varios géneros de bacterias participan en el ciclo del azufre y en la biomineralización. En algunos casos, tanto el azufre reducido como el hierro Fe^{2+} se utilizan como fuentes de energía, mientras que algunos procariontes pueden oxidar solo una de estas especies (Tributsch y Rojas-Chapana. 2007). Las bacterias acidófilas, incluida *At. ferrooxidans* y *At. thiooxidans*, oxidan el azufre mediante un sistema que es diferente al de la mayoría de las otras bacterias (Friedrich *et al.* 2005).

Los iones metálicos solubles están presentes con frecuencia en concentraciones bastante elevadas en entornos muy ácidos. Los iones metálicos que existen en más de un estado de oxidación y que tienen potenciales redox más negativos que el par redox O_2 / H_2O tienen el potencial de servir como donantes de electrones para las bacterias acidófilas. Sin embargo, siempre que esté presente el hierro férrico, es difícil demostrar inequívocamente que la oxidación biológica del metal es la responsable en oposición a la oxidación química del metal por el hierro férrico (Rawlings. 2007).

2.5.2) Resistencia a los metales

Se han analizado los niveles de resistencia de varias bacterias acidófilas y arqueas al As^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} y Ni^{+} (Dopson *et al.* 2003).

Los altos niveles de resistencia a los iones metálicos y de otro tipo dentro de una especie dada muestran una variación considerable entre cepas. Es probable que la adaptación a altos niveles de metales tras la exposición a un metal sea responsable de gran parte de la variación entre cepas. La experiencia sugiere que al ejercer presión selectiva sobre una población de microorganismos para que crezcan en presencia de un ion metálico, el nivel de resistencia a la mayoría de los metales se puede mejorar significativamente; sin embargo, en algunos casos, este proceso puede llevar mucho tiempo (Rawlings. 2007).

El aumento de la resistencia a los iones metálicos puede deberse a dos fuentes principales: la aparición de mutaciones en genes que ya están presentes en la célula (Sugio *et al.* 2003) o la adquisición de nuevos genes de otros organismos resistentes a los metales, a través del denominado acervo genético horizontal (Shiratori *et al.* 1989; Tuffin *et al.* 2005). Muchas

investigaciones sugieren que la resistencia a los metales se debe a una combinación de ambos mecanismos (Rawlings. 2007).

2.5.3) Ingeniería genética en la biominería

Es ampliamente aceptado que las poblaciones microbianas nativas y asociadas a los minerales y/o a las condiciones en las que se realizarán las operaciones de biolixiviación y/o biooxidación, son más eficientes que aquellos microorganismos con modificaciones genéticas, ya que han tenido millones de años de evolución en su ambiente natural, generando una amplísima diversidad de microorganismos que se han adaptado a crecer en una enorme variedad de condiciones, incluyendo aquellas extremas (Holmes y Bonnefoy. 2007; Giaveno Filippa. 2010; Bernardelli. 2017). Debido a esto, generalmente se descarta cualquier intento de mejora genética y la búsqueda de extremófilos o de comunidades extremófilas constituye el punto de partida para mejorar procesos biotecnológicos de interés, hacer más eficientes los procesos industriales o incluso generar nuevos procesos (Giaveno Filippa. 2010).

2.5.4) *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Acidithiobacillus ferrooxidans es una bacteria acidófila, bacilo gram negativa, quimioautotrófica, con forma de bastoncito redondeado en sus extremos, no esporulado, que a veces presenta un flagelo polar que le otorga movilidad. Tiene un tamaño de 0,5 a 1 μm de ancho por 1 a 2 μm de largo y puede encontrarse solo o asociado de a pares. Su temperatura óptima de crecimiento es de 30 a 35 °C, aunque esto es variable dependiendo del tipo de cepa. El intervalo de pH al cual puede crecer es de 1,2 a 6,0, siendo su intervalo óptimo de crecimiento de 1,5 a 2,3 (Curutchet. 1996; Pogliani. 1999). Es una bacteria autótrofa estricta, debido a que puede fijar el CO₂ atmosférico mediante un ciclo de Calvin convencional (Norris. 1990). Sus requerimientos nutricionales son básicos, a base de compuestos simples de nitrógeno, fósforo, potasio y elementos a concentraciones de trazas, como magnesio y calcio (Tuovinen *et al.* 1971; Rawlings. 2007; CODELCO EDUCA, [en línea]).

En cuanto a su metabolismo energético, es una bacteria aeróbica, aunque no estricta, ya que es capaz de reducir el hierro (III) como último aceptor de electrones en condiciones anaeróbicas acopladas a la oxidación de S⁰ o formiato (Holmes y Bonnefoy. 2007).

La gran variedad de moléculas de citocromo c que se han detectado en *At. ferrooxidans* podrían reflejar la versatilidad de esta bacteria para utilizar una amplia variedad de aceptores de electrones (Yarzabal *et al.* 2002; Rawlings. 2007).

At. ferrooxidans también puede catalizar la oxidación de S⁰, sulfuro y compuestos reducidos de azufre como tiosulfato, tetrionato y sulfito, que se oxidan a sulfato, generando ácido sulfúrico (Holmes y Bonnefoy. 2007). Algunos de los minerales de sulfuro que es capaz de oxidar son: Pirita y Marcasita (FeS₂); Pirrotita (FeS); Calcopirita (CuFeS₂); Covelina (CuS); Enargita (CuAsS₂); Molibdenita (MoS₂); Arsenopirita (FeAsS); Esfalerita (ZnS); Galena (PbS) y Cobaltito (CoAsS). (Rawlings. 2007; CODELCO EDUCA, [en línea]). También puede catalizar la oxidación del hierro (II) a hierro (III) (Kupka y Kupsakova. 1999). Para ambos casos utiliza al oxígeno como aceptor final de electrones.

La oxidación de Fe (II) por *At. ferrooxidans* se puede considerar que procede en una reacción "cuesta abajo" y "cuesta arriba", aunque ambas vías están interconectadas por naturaleza. En la ruta "cuesta abajo", los electrones extraídos biológicamente del Fe (II) proceden, a través de una serie de portadores de electrones, desde la membrana externa hasta el citoplasma, donde se utilizan para reducir el O₂ a agua, consumiendo protones en el proceso. La mayoría de los protones consumidos entran en la célula a través del complejo ATP sintetasa incorporado en la membrana interna. El ATP se genera utilizando esta fuerza motriz de protones o PMF (del inglés Proton Motive Force) generada por el tremendo gradiente de protones a través de la membrana interna y los electrones de la oxidación del hierro se utilizan únicamente para neutralizar los protones entrantes (Holmes y Bonnefoy. 2007).

Para la fijación de CO₂, N₂ y otros procesos anabólicos necesarios, *At. ferrooxidans* tiene que regenerar los nucleótidos de piridina reducidos NADPH y NADH. Para regenerarlos, los electrones tienen que ser empujados desde el Fe (II) al NAD(P) contra el gradiente de potencial redox. Esta transferencia de electrones "cuesta arriba" requiere energía que probablemente es proporcionada por la PMF y este flujo de electrones puede considerarse algo similar a una mitocondria que trabaja a la inversa. Además, la hidrólisis del ATP a través de la ATP sintetasa que trabaja a la inversa puede usarse para generar un gradiente de protones electroquímico que puede proporcionar algo de la fuerza para empujar los electrones "cuesta arriba" (Holmes y Bonnefoy. 2007).

2.5.5) *Acidithiobacillus thiooxidans*

Acidithiobacillus thiooxidans es una proteobacteria acidófila, bacilo gram negativa, quimiolitótrofa, con forma de varilla corta, con una longitud menor al μm y un ancho de $0,3 \mu\text{m}$, posee generalmente un flagelo polar que le confiere movilidad superior. Su temperatura óptima de crecimiento es de 30 a $35 \text{ }^\circ\text{C}$, aunque esto es variable dependiendo del tipo de cepa. El intervalo de pH al cual puede crecer es de $0,5$ a 6 unidades de pH, siendo su intervalo óptimo de crecimiento dentro del intervalo $2,0$ a $3,5$. (Curutchet. 1996; Pogliani. 1999).

Es una bacteria con capacidad de crecer en medios extremos de pH, sales y metales. Es autótrofa estricta, debido a que puede fijar el CO_2 atmosférico mediante un ciclo de Calvin convencional (Norris. 1990). En cuanto a su metabolismo energético, es una bacteria aeróbica que puede catalizar la oxidación del azufre elemental y en algunos casos compuestos reducidos del azufre. De estos compuestos obtiene su energía, utilizando al oxígeno como aceptor final de electrones y generando ácido sulfúrico en el proceso. Sus requerimientos nutricionales son básicos, a base de compuestos simples de nitrógeno, fósforo, potasio y elementos a concentraciones de trazas, como magnesio y calcio. (Tuovinen *et al.* 1971; Rawlings. 2007; CODELCO EDUCA, [en línea]).

Algunos de sus sustratos oxidables son: S^0 ; $\text{S}_2\text{O}_3^{-2}$; $\text{S}_4\text{O}_6^{-2}$. No es capaz de oxidar concentrados de piritita (FeS_2) o calcopiritita (CuFeS) y tampoco es capaz de oxidar al hierro (II) (Barret *et al.* 1993; Rawlings. 2007; CODELCO EDUCA, [en línea]).

Las células de *At. thiooxidans* difieren de las de *At. ferrooxidans* en su bajo contenido de guanina-citosina (GC), la proporción de GC para *At. ferrooxidans* es de 58% y para *At. thiooxidans* es de 52% (Pogliani. 1999).

2.6) Proceso de extracción de metales a escala industrial utilizando biorreactores

2.6.1) Proceso BIOX™

El desarrollo de este proceso comenzó a finales de la década de 1970, en el área de investigación de procesos de Gencor, en Johannesburgo, Sudáfrica. Luego de la puesta en marcha de varios proyectos a lo largo de los años, en 1998 se puso en marcha en Perú la planta Tamboraque (Loayza y Ly. 1999) y concluyó lo que podría considerarse como la primera

generación de plantas comerciales BIOX™. El año 2005 marcó el desarrollo y la puesta en marcha de una nueva generación de plantas BIOX™, para tratar concentrados de mineral de oro refractario (van Aswegen *et al.* 2007).

La robustez, la simplicidad de la operación, el mayor cuidado y respeto al medio ambiente y la rentabilidad de esta tecnología se ha demostrado en todas las operaciones. El proceso BIOX™ ha sido un éxito técnico y económico, y ofrece ventajas reales sobre los procesos convencionales para minerales refractarios, como el tostado y la oxidación a presión (Stephenson y Kelson. 1997). Cabe destacar que la recuperación del oro mejoró del 27% con el concentrado sin tratar a más del 98% con el tratamiento (Stephenson y Kelson. 1997; van Aswegen *et al.* 2007). En la figura 6 puede verse un diagrama de flujo típico de este proceso.

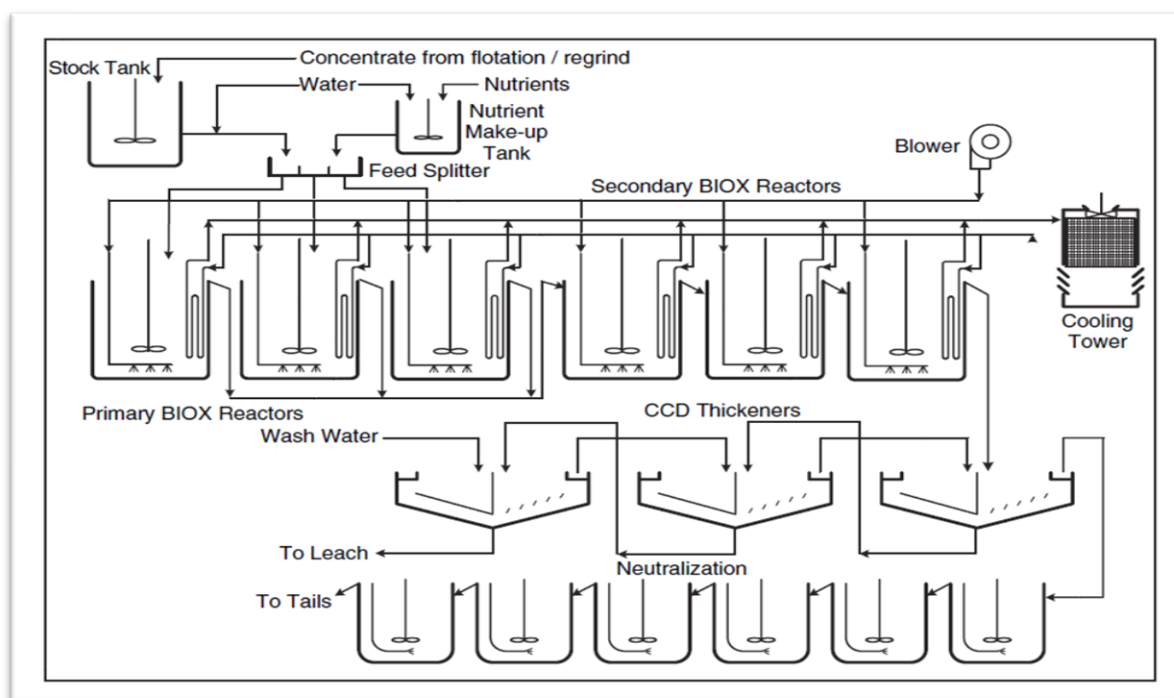


Figura 6. Diagrama de flujo típico de un proceso BIOX™ - Biomining (2006, Springer)

El proceso utiliza una población mixta de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* para descomponer la matriz mineral de sulfuros, liberando así el oro ocluido para el proceso de cianuración posterior. El cultivo mixto de bacterias mesófilas utilizado en el proceso puede operar a temperaturas que oscilan entre 30 y 45 °C. La temperatura de la pulpa en reactores comerciales se regula entre 40 y 45 °C. Es importante controlar la temperatura y el pH dentro de rangos estrechos

preestablecidos para optimizar la tasa de oxidación del sulfuro, pero también es necesario para mantener el correcto equilibrio de las especies bacterianas (van Aswegen *et al.* 2007; Johnson. 2014).

Las bacterias requieren suficiente dióxido de carbono para promover el crecimiento celular. Este se obtiene de los carbonatos en los minerales y del aire añadido al proceso. Un contenido mínimo de carbonato del 2% en el concentrado de flotación es usualmente requerido para garantizar que se disponga de suficiente dióxido de carbono. Si no hay carbonato presente, debe agregarse piedra caliza (CaCO_3) o aire enriquecido con CO_2 (g) a los reactores primarios (van Aswegen *et al.* 2007; Johnson. 2014).

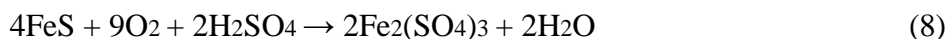
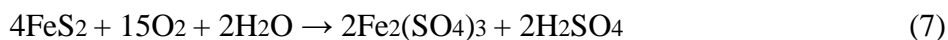
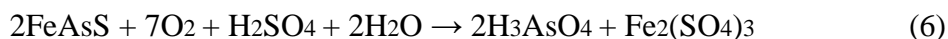
La disolución del carbonato también tiene un efecto importante sobre el pH: ante una baja proporción de sulfuro-carbonato, la etapa primaria del proceso se vuelve consumidora del ácido y el grado de precipitación aumenta, dando lugar a la formación de capas en la superficie de los minerales de sulfuro. La formación de estos recubrimientos puede resultar en tasas de oxidación más bajas, lo que a su vez reduce la liberación del oro en el proceso de cianuración. La presencia de carbonato, en altas proporciones de sulfuro-carbonato es beneficiosa, no solo para la producción de CO_2 , sino también para reducir los requisitos de cal para controlar el pH durante la biooxidación (van Aswegen *et al.* 2007).

Los nutrientes se agregan a los reactores primarios en forma de sales de nitrógeno, fósforo y potasio, para promover el crecimiento bacteriano. El concentrado, generalmente, presenta concentraciones bajas de los nutrientes requeridos por los microorganismos durante el proceso, lo cual permite reducir sus tasas de adición cuando la operación es estable en la planta (van Aswegen *et al.* 2007).

El proceso BIOX™ se puede integrar con otros procesos metalúrgicos para aumentar la capacidad de tratamiento de una planta existente, siendo una opción rápida y de bajo costo o bien para eliminar ciertos contaminantes como el arsénico del material que se está tratando, desde el concentrado hasta las operaciones de fundición (van Aswegen *et al.* 2007).

Reacciones químicas y la influencia del mineral

Las reacciones de oxidación de los principales minerales sulfurosos suelen estar presentes en los minerales refractarios y pueden resumirse de la siguiente manera (van Aswegen *et al.* 2007):



Estas reacciones requieren una gran cantidad de oxígeno para la oxidación de los sulfuros. Debido a esto, es necesario inyectar y dispersar grandes volúmenes de aire en la suspensión.

2.7) Objetivos específicos

A fin de determinar las condiciones óptimas de crecimiento, adaptabilidad y biolixiviación de las cepas bacterianas estudiadas, se pretende:

- Realizar cultivos de enriquecimiento con 1% p/v de densidad de pulpa y medios de cultivo minerales específicos, para el potencial aislamiento de las cepas *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans*.
- Generar curvas de crecimiento de los microorganismos aislados a fin de caracterizarlos metabólicamente y realizar la comparación con las cepas de referencia.
- Armar y utilizar un reactor airlift para la producción de ácido sulfúrico biogenerado a partir de la cepa de *At. thiooxidans* de referencia.
- Realizar ensayos de biolixiviación en batch bajo diferentes condiciones de cultivo.

2.8) Materiales y métodos

2.8.1) Descripción de los minerales a utilizar

Se utilizaron minerales metálicos de 2 depósitos mineros importantes del noroeste argentino y una arena utilizada en el proceso de fracking de petróleo que contiene magnetita.

El primer mineral proveniente de Farallón Negro - Yacimiento Los Viscos se utilizó para el aislamiento y caracterización de cepas bacterianas extremófilas de *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans*. Luego se utilizó en ensayos de biolixiviación para la recuperación de metales de interés.

El segundo mineral utilizado para la recuperación de metales proviene de la Mina Aguilar. En este caso, el material utilizado fue un producto intermedio (matas de cobre) del proceso de fundición para obtener plomo metálico a partir de un concentrado de plomo. Las matas de cobre que se generaban en la planta de fundición solo se acumulaban para su disposición.

Se utilizó un tercer mineral, una arena que contiene magnetita. Se realizaron ensayos de biolixiviación de la magnetita como tratamiento biológico, para solubilizar el hierro y poder separarlo de las partículas silíceas.

2.8.2) Metodologías de aislamiento

Para el aislamiento de *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans* se utilizó la técnica de dilución y enriquecimientos sucesivos en medio líquido.

Los medios de cultivos utilizados para los aislamientos, crecimientos y ensayos de biolixiviación con las bacterias estudiadas fueron los siguientes: 0K, 1K, 2K y 9K. Su composición se muestra en la Tabla I.

Los medios de cultivo con sales basales y la solución de hierro fueron esterilizados con filtros de 0,22 μm , a fin de evitar la oxidación del Fe^{+2} .

Tabla I. Medios de cultivos utilizados para los aislamientos y ensayos de biolixiviación de las cepas bacterianas *At. ferrooxidans* y *At. thiooxidans*

Composición (g/L)	Medios de cultivo			
-	0K	1K	2K	9K
K₂HPO₄	0,5	0,5	0,5	0,5
MgSO₄ – 7H₂O	0,5	0,5	0,5	0,5
(NH₄)₂SO₄	2,00	2,00	2,00	2,00
KCl	0,10	0,10	0,10	0,10
CaCl₂	0,01	0,01	0,01	0,01
FeSO₄ – 7H₂O	-	5,00	10,00	45,00
pH final de las soluciones: 2,5 a 3,0 (Llevado con H ₂ SO ₄ al 10% v/v)				

Como fuente de microorganismos se utilizó el mineral de Los Viscos. Los cultivos de enriquecimiento se realizaron con una proporción de 1% p/v del mineral y medios de cultivo minerales específicos para las cepas *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans*. *At.*

thiooxidans fue aislada en medio 0K, mientras que *At. ferrooxidans* fue aislada por enriquecimientos, primero en medio 1K, luego en 2K y finalmente en 9K, para habituarla y permitir su crecimiento. Luego, se realizó la caracterización morfológica de las bacterias aisladas mediante microscopía óptica.

Las cepas aisladas y otras cepas de referencia obtenidas del SEGEMAR (Tabla II) fueron utilizadas en los ensayos de biolixiviación.

Tabla II. Cepas bacterianas utilizadas en los ensayos de biolixiviación

Cepa bacteriana	Fuente	Identificación
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	SEGEMAR	AT ^{Ref}
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	SEGEMAR	AF ^{Ref}
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	Mineral Los Viscos	AT ^{Min}
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	Mineral Los Viscos	AF ^{Min}

Las cepas aisladas fueron identificadas por secuenciación del gen de ARNr 16S (Región V3-V4) con la metodología Sanger. La extracción del ADN y la secuenciación del gen fueron realizadas por Macrogen Corea (dos muestras por duplicado). Las muestras consistían en cultivos concentrados por filtración en medio 0K.

Para el procesamiento de los datos de secuenciación obtenidos de las regiones hipervariables V3-V4 del gen del ARNr 16S se utilizó el programa informático Blast del NCBI y sus bases de datos.

2.8.3) Cinética de crecimiento de las cepas utilizadas en los ensayos

La cepa *At. thiooxidans* de referencia (AT^{Ref}) y la del mineral Los Viscos (AT^{Min}), fueron cultivadas de forma individual en 100 mL de medio 0K con 1% p/v de azufre. Se utilizó un 5% v/v de inóculo previamente adaptado en medio 0K que se encontraba en fase estacionaria (sin variaciones en el pH). Las células utilizadas como inóculo fueron centrifugadas y resuspendidas en medio 0K.

La cepa *At. ferrooxidans* de referencia (AF^{Ref}) y la del mineral Los Viscos (AF^{Min}) fueron cultivadas de forma individual en 100 mL de medio 9K. Se utilizó un 5% v/v de inóculo previamente adaptado en medio 9K que se encontraba en fase estacionaria (sin

variaciones en el pH). Las células utilizadas como inóculo fueron centrifugadas y resuspendidas en medio 9K.

Las cinéticas de crecimiento se realizaron en batch agitados neumáticamente a una velocidad de agitación de 180 rpm y a temperatura ambiente (20 a 30 °C). El conteo de bacterias en solución se realizó utilizando un microscopio óptico con el objetivo 100X y una cámara de Neubauer. Para el conteo se extrajo un volumen de 0,5 ml del cultivo. La cuantificación se realizó diluyendo previamente las muestras obtenidas en un F:10 y utilizando un volumen de 10 µL para la lectura.

Se utilizó la siguiente ecuación para determinar la cantidad de bacterias contenidas en los 10 µL, en donde C_s (células/mL) es la concentración de células en la suspensión:

$$C_s = \text{Cantidad de células observadas} * 10000 * \text{Factor de dilución} \quad (9)$$

También se determinó el pH de los cultivos durante la cinética de crecimiento por titulación con Na(OH) 0.01N, utilizando a la fenolftaleína como indicador y se midió la variación del pH con pHmetro para validar los datos.

2.8.4) Metodologías de lixiviación y biolixiviación en batch

En estos ensayos se estudió de forma individual la lixiviación de cada mineral de interés, bajo diversos tratamientos. Los minerales estudiados fueron los siguientes: el mineral de Los Viscos, las matas de cobre y la arena con magnetita. Los distintos tratamientos aplicados a los minerales fueron los siguientes: cepas de referencia obtenidas del SEGEMAR (AT^{Ref} y/o AF^{Ref}), cepa aislada del mineral Los Viscos (AF^{Min}), ácido biogenerado (0.08M), ácido sulfúrico comercial (0.08M), medio 0K y medio 1K.

Los ensayos de biolixiviación se realizaron en batch agitados neumáticamente a una velocidad de agitación de 180 rpm y temperatura ambiente (20 a 30 °C). Para estos ensayos se utilizaron Erlenmeyers de 250 mL y 500 mL. Las condiciones de lixiviación analizadas fueron las siguientes (Tabla III):

Tabla III. Condiciones de lixiviación y biolixiviación en batch agitados analizadas

Condición	Mineral Los Viscos (gr)	Arena con Magnetita (gr)	Matas de cobre (gr)	Azufre (gr)	Medio 0K (mL)	Medio 1K (mL)	Ácido biogenerado (0.08 M) (mL)	Ácido sulfúrico (0.08 M) (mL)	Cepas	Densidad de pulpa (p/v)
1	50	-	-	-	250	-	-	-	-	20%
2	50	-	-	-	-	-	250	-	-	20%
3	50	-	-	-	225	-	25	-	-	20%
4	1	-	-	-	100	-	-	-	-	1%
5	1	-	-	1	100	-	-	-	-	1%
6	1	-	-	1	100	-	-	-	AT ^{Ref}	1%
7	3	-	-	1	100	-	-	-	-	3%
8	3	-	-	1	100	-	-	-	AT ^{Ref}	3%
9	1	-	-	-	-	100	-	-	-	1%
10	1	-	-	-	100	-	-	-	AT ^{Ref}	1%
11	1	-	-	-	100	-	-	-	AF ^{Ref}	1%
12	6	-	-	2	200	-	-	-	-	3%
13	6	-	-	2	200	-	-	-	AF ^{Ref}	3%
14	6	-	-	2	200	-	-	-	AF ^{Ref} y AT ^{Ref}	3%
15	-	50	-	-	100	-	-	-	AF ^{Min}	50%
16	-	20	-	-	100	-	-	-	AF ^{Min}	20%
17	-	-	2	-	200	-	-	-	-	1%
18	-	-	2	-	-	-	200	-	-	1%
19	-	-	2	-	-	-	-	200	-	1%
20	-	-	4	-	-	-	200	-	-	2%
21	-	-	4	-	-	-	-	200	-	2%

El crecimiento de los cultivos se siguió fundamentalmente por la determinación de metales en solución, por la variación del pH y la conductividad.

Se utilizaron medios de cultivos puros en fase estacionaria (sin variaciones en la conductividad y en el pH) que fueron centrifugados, para posteriormente utilizar el precipitado resultante de células. Las células obtenidas fueron lavadas y resuspendidas en los respectivos medios de cultivo frescos para su posterior inoculación en las distintas condiciones de ensayo. Para todos los ensayos se utilizaron 5 mL de inóculo por cada 100 mL de volumen final.

La producción de ácido sulfúrico biogenerado para los ensayos de lixiviación se realizó en un reactor batch cerrado con agitación vertical y burbujeo de aire esterilizado, utilizando la cepa AT^{Ref} en medio 0K con azufre. Para su puesta a punto se utilizó un Erlenmeyer de 10 L, que contenía 2 L de medio 0K y 20 gr de azufre molido. Se agregó una punta de espátula de tiosulfato de sodio en el medio 0K, para eliminar el cloro del agua corriente con la que se preparó el medio. Este ácido se utilizó para evaluar el efecto que tiene su aplicación directa sobre minerales de interés en la lixiviación de metales.

Se evaluó el crecimiento bacteriano en el biorreactor por el aumento de la acidez en el medio de cultivo. El ácido sulfúrico biogenerado obtenido se filtró y fue valorado por titulación con Na(OH) (0.01N), utilizando como indicador a la fenolftaleína.

Luego se armó un reactor airlift con burbujeo de aire esterilizado, con una capacidad de 20 L, para permitir una mayor producción de ácido sulfúrico biogenerado. Para su puesta a punto se utilizaron 20 L de medio 0K, 2 kg de azufre molido y luego se inoculó con AT^{Ref}.

Una vez finalizado los ensayos de lixiviación, se enviaron los residuos minerales de algunas muestras, para analizarlos por difracción de rayos X (DRX) y fluorescencia de rayos X (FRX) (Ver anexo III). Las muestras fueron preparadas obteniendo los sólidos por centrifugación y posterior secado a 50°C en estufa durante 24 horas.

2.8.5) Conductividad, pH y cuantificación de metales

La determinación de las concentraciones de Cu y Fe de las muestras para los diferentes ensayos con distintos minerales, se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica (AA), con un equipo ICP Perkin Elmer - AAnalyst 100, en UADELabs. Para ello se tomaron 5 mL de las muestras, que fueron centrifugadas para obtener el sobrenadante. El volumen obtenido fue acidificado con 3 gotas de ácido nítrico (0.5 M). Previamente a la extracción de los 5 mL para la determinación de los metales en solución, se analizó el pH y la conductividad de todas las muestras. Debido a que no se pudo obtener un electrodo de potencial redox para analizar las muestras, se utilizó un conductímetro para evaluar la conductividad de las muestras, ya que la concentración de los iones de hidrógeno en las soluciones fuertemente ácidas transporta la mayor parte de la corriente y la conductividad de la solución debe disminuir

con el pH cuando ocurren reacciones químicas (Edgar. 1917; Facultad de Ingeniería de la Universidad de Buenos Aires, [en línea]).

Por otro lado, se fraccionaron algunas de las muestras y se enviaron a AySA para analizar diversos metales por Espectroscopia Atómica ICP-OES (del inglés, Inductively coupled plasma - optical emission spectrometry) (Equipo Agilent 5110). Estos ensayos se realizaron para validar y complementar los datos obtenidos.

Las muestras que superaban el valor más alto de la curva de cuantificación de los metales analizados se diluyeron con ácido nítrico (0.5 M) para entrar dentro de la curva.

2.9) Ensayos de biolixiviación realizados en batch agitados

2.9.1) Optimización de las condiciones de biolixiviación en batch agitados utilizando el mineral de Los Viscos

Para determinar las posibles limitaciones en el crecimiento bacteriano ocasionadas por la densidad de pulpa aplicada y evaluar las mejores condiciones de extracción de metales con el mineral de Los Viscos (blanco, ácido biogenerado o cepa de referencia), se utilizaron las siguientes condiciones de biolixiviación en batch (Tabla IV):

Tabla IV. Ensayos de biolixiviación en batch agitados utilizando el mineral de Los Viscos

Condición	Mineral Los Viscos (gr)	Azufre (gr)	Medio 0K (mL)	Medio 1K (mL)	Ácido biogenerado (0.08 M) (mL)	Cepas	Densidad de pulpa (p/v)
1 (Blanco)	50	-	250	-	-	-	20%
2 (Ac Bio)	50	-	-	-	250	-	20%
3 (Ac Bio)	50	-	225	-	25	-	20%
4 (Blanco)	1	-	100	-	-	-	1%
5 (Blanco)	1	1	100	-	-	-	1%
6 (AT ^{Ref})	1	1	100	-	-	AT ^{Ref}	1%
7 (Blanco)	3	1	100	-	-	-	3%
8 (AT ^{Ref})	3	1	100	-	-	AT ^{Ref}	3%
9 (Blanco)	1	-	-	100	-	-	1%
10 (AT ^{Ref})	1	-	100	-	-	AT ^{Ref}	1%
11 (AF ^{Ref})	1	-	100	-	-	AF ^{Ref}	1%

Para los ensayos se utilizó una cepa de referencia de *At. ferrooxidans* brindada por el SEGEMAR (AF^{Ref}), la cual fue acondicionada para su utilización en medios de cultivo con Fe⁺² como fuente de energía, llevándola del medio 1K al 2K y luego al 9K.

El SEGEMAR también brindó una cepa de referencia de *At. thiooxidans* (AT^{Ref}), la cual fue acondicionada para su utilización en medio 0K.

Con el fin de evaluar su variación en el tiempo, se midió el pH y la conductividad de las distintas condiciones de ensayo.

Debido a que el ICP de UADELabs estuvo bajo mantenimiento durante el transcurso de estos ensayos de lixiviación, una vez que finalizaron (figura 7), las muestras líquidas se enviaron al SEGEMAR para analizar los siguientes metales: cobre, hierro, manganeso, plomo y zinc por ICP, utilizando el método 3120B del Standard Methods 23rd Edition y los sulfatos por turbidimetría, con un Espectrofotómetro portátil HACH. La duración de dichos ensayos fue de 16 días.

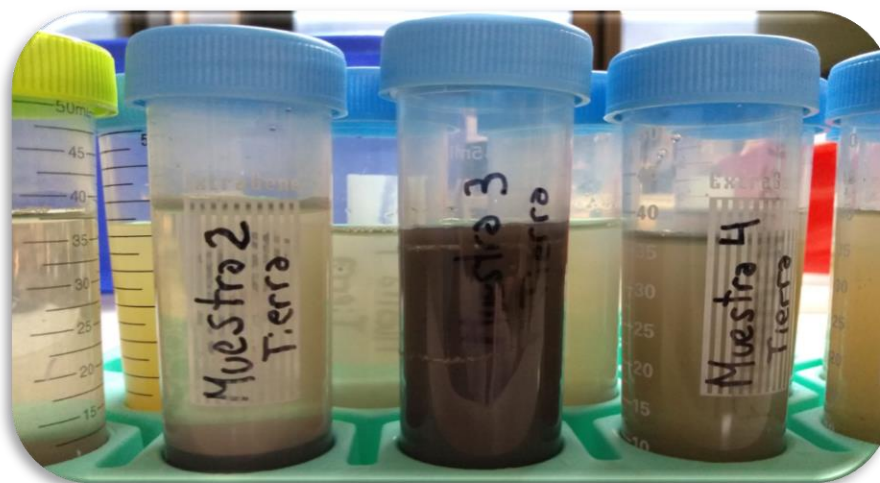


Figura 7. Muestras obtenidas al final de los ensayos de biolixiviación

2.9.2) Biolixiviación en batch del mineral Los Viscos

Se utilizó una densidad de pulpa 3% p/v para los ensayos en batch, debido a los resultados obtenidos en la optimización de la biolixiviación con el mineral Los Viscos.

Las condiciones utilizadas para los ensayos de biolixiviación fueron las siguientes (Tabla V):

Tabla V. Ensayos de biolixiviación en batch agitados utilizando un 3% p/v del mineral Los Viscos

Condición	Mineral Los Viscos (gr)	Azufre (gr)	Medio 0K (mL)	Cepas	Densidad de pulpa (p/v)
1 (Blanco)	6	2	200	-	3%
2 (AF ^{Ref})	6	2	200	AF ^{Ref}	3%
3 (AF ^{Ref} y AT ^{Ref})	6	2	200	AF ^{Ref} y AT ^{Ref}	3%

La duración de estos ensayos fue de 61 días. En la figura 8 pueden observarse los cultivos en batch de las 3 condiciones experimentales.

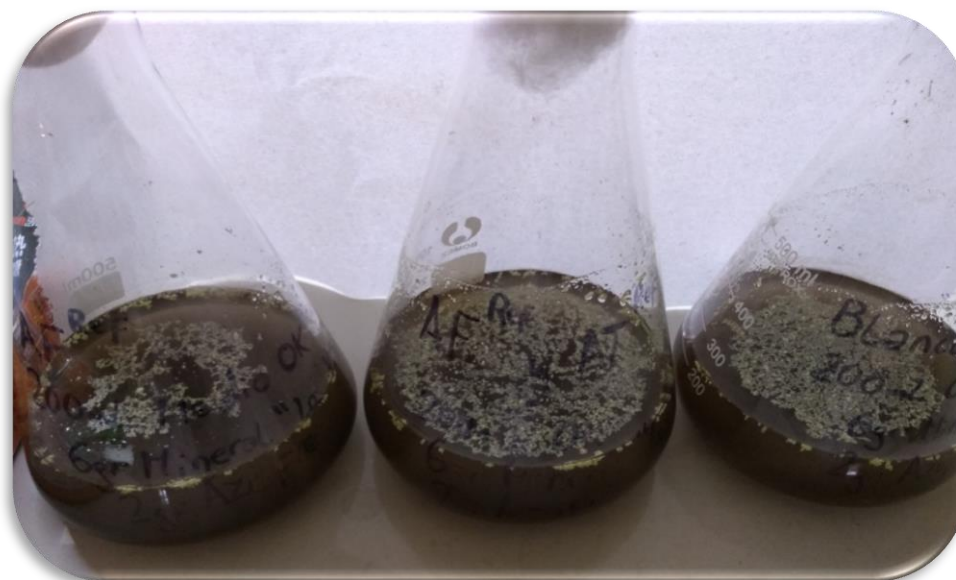


Figura 8. Muestras durante el transcurso del segundo ensayo en batch. De izquierda a derecha: AF^{Ref}; AF^{Ref} con AT^{Ref} y blanco

2.9.3) Biolixiviación en batch agitados y sin agitar utilizando una arena con magnetita

Las muestras con arena que contiene magnetita se inocularon con la cepa *At. ferrooxidans* aislada del mineral Los Viscos (AF^{Min}), previamente cultivadas en medio 9K y luego reacondicionadas en medio 0K. Las células fueron obtenidas de los medios de cultivo por centrifugación. Luego fueron lavadas y resuspendidas en medio 0K, para su posterior inoculación en las muestras. Se utilizaron 5 mL de inóculo en 100 mL de volumen final.

Se realizaron ensayos de biolixiviación en batch agitados por duplicado, de la arena con magnetita denominada La Milagrosa (figura 9.1), para solubilizar el hierro y poder

separarlo de las partículas silíceas, utilizando 100 mL de volumen final con la siguiente condición:

- 50 gr de arena + medio OK + AF^{Min}.

El día posterior al inicio del experimento se preparó una dilución de la muestra que contenía 50 gr de arena. Se utilizaron 5 mL del líquido sin arena, permitiendo que esta sedimente y se llevaron a un volumen final de 100 mL con medio OK y 50 gr de Arena, con el objetivo de evaluar el crecimiento de AF^{Min} en bajas concentraciones celulares.

Luego, se evaluó la biolixiviación de la arena con magnetita sin agitación (figura 9.2), utilizando un volumen final de 100 mL. Se utilizó la siguiente condición de ensayo:

- 20 gr de arena + medio OK + AF^{Min}.

Se determinó el pH, densidad óptica (D.O) a 600 nm, hierro total y Fe⁺² soluble a lo largo del tiempo.

Para las mediciones de hierro Fe⁺² soluble se utilizó un método colorimétrico (O-fenantrolina) y las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 570 nm.



Figura 9.1. Muestras cultivadas con AF^{Min} y 50 gr de arena en agitación

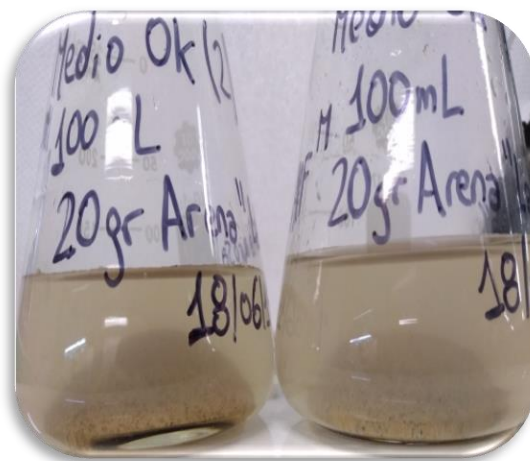


Figura 9.2. Muestras cultivadas con AF^{Min} y 20 gr de arena sin agitación

2.9.4) Biolixiviación con ácido biogenerado en batch agitados utilizando matas de cobre

Para evaluar el contenido de cobre y hierro de los desechos de mata de cobre denominados Colas Arcinc, producidos en la refinación de minerales de plomo, zinc y plata, se realizó un tratamiento con ácido nítrico concentrado del desecho, para luego evaporarlo y así

concentrar los metales. El mineral se llevó a un volumen final de 100 mL con HNO₃ (1:1) (por duplicado).

La cantidad de mineral utilizado fue de:

- 1,0020 gr (muestra 1).
- 1,0054 gr (muestra 2).

A partir de los resultados de Cu y Fe obtenidos de las matas de cobre y debido a que es un mineral muy fácilmente soluble en ácido, se descartó la aplicación de las cepas bacterianas para biolixiviar el mineral y se evaluó la aplicación directa del ácido biogenerado como solución lixiviante para la obtención de metales de interés. Para comparar resultados y evaluar la efectividad del ácido biogenerado utilizado, se realizaron tratamientos con ácido sulfúrico comercial a una misma concentración de acidez y misma densidad de pulpa del mineral.

Los ensayos de biolixiviación en batch agitados se realizaron en un volumen final de 200 mL. Se estudiaron las siguientes condiciones experimentales (Tabla VI):

Tabla VI. Ensayos de biolixiviación en batch agitados realizados con las matas de cobre

Condición	Mata de cobre (gr)	Medio 0K (mL)	Ácido biogenerado (0.08 M) (mL)	Ácido sulfúrico comercial (0.08 M) (mL)	Densidad de pulpa (p/v)
1 (Blanco)	2	200	-	-	1%
2 (Ácido Bio)	2	-	200	-	1%
3 (Ácido Sulf)	2	-	-	200	1%
4 (Ácido Bio)	4	-	200	-	2%
5 (Ácido Sulf)	4	-	-	200	2%

2.10) Resultados y discusión

2.10.1) Secuenciación y morfología de las cepas nativas aisladas del mineral Los Viscos

Resultados

Los resultados obtenidos mostraron que las secuencias de los genes de ADNr 16s de las bacterias aisladas en los cultivos 0K y 9K comparten mayores porcentajes de similitud con microorganismos del género *Acidithiobacillus*, dentro del orden *Acidithiobacillales*. El porcentaje de identidad fue mayor al 99% para las secuencias de las

bacterias cultivadas en medio 0K, mientras que para las bacterias cultivadas en el medio 9K fue mayor al 75%. El valor estadístico E-value fue igual a cero para todas las comparaciones efectuadas, lo que indica un buen solapamiento entre las secuencias comparadas, aportando un grado de significancia a la prueba realizada. Se identificó como *At. thiooxidans* a la cepa bacteriana aislada y cultivada en el medio 0K y como *At. ferrooxidans* a la cepa aislada y cultivada en el medio 9K.

También se realizó la caracterización morfológica de las bacterias mediante microscopía óptica. En ambos casos se observaron bacilos gram negativos muy pequeños.

2.10.2) Cinética de crecimiento de las cepas utilizadas en los ensayos

Resultados

A continuación, en la figura 10.1 se observa la cinética de crecimiento de las bacterias AT^{Ref} y en figura 10.2 la variación del pH a lo largo del ensayo en medio 0K y 1 gr de azufre (pH y bacterias al inicio del ensayo: 1,62 y 4.0x10⁶). En la figura 11.1 se observa la cinética de crecimiento de las bacterias AT^{Min} y en la figura 11.2 la variación del pH a lo largo del ensayo bajo las mismas condiciones (pH y bacterias al inicio del ensayo: 1,69 y 3.0x10⁶).

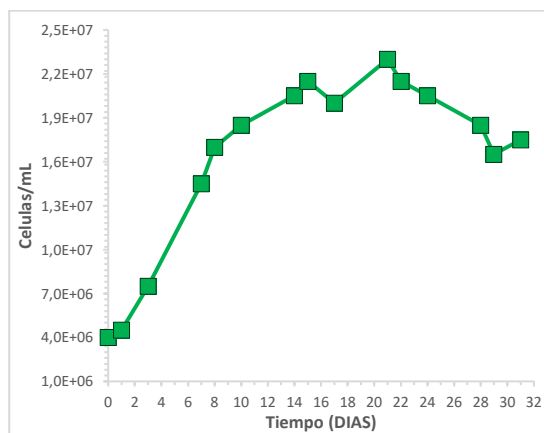


Figura 10.1. Cinética de crecimiento de las bacterias AT^{Ref} en medio 0K y 1 gr de azufre

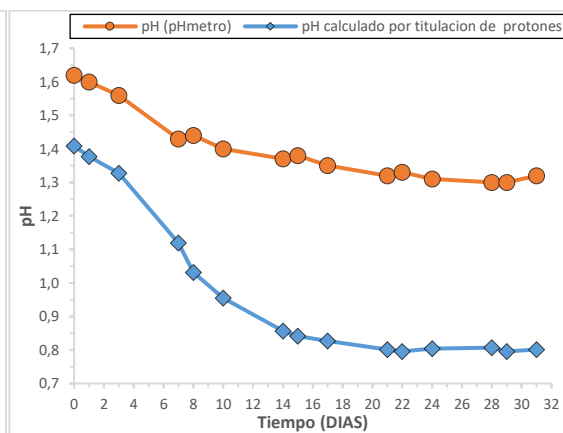


Figura 10.2. Variación del pH a lo largo del ensayo con AT^{Ref}

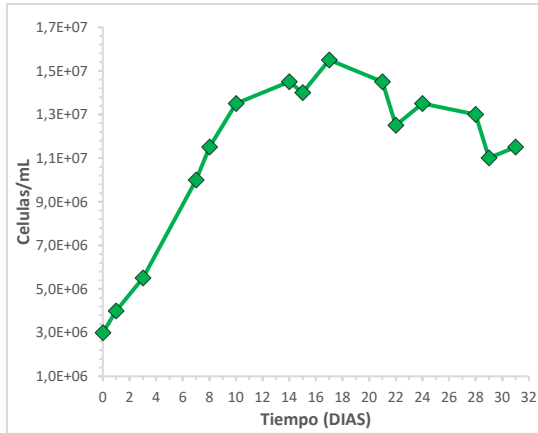


Figura 11.1. Cinética de crecimiento de las bacterias AT^{Min} en medio 0K y 1 gr de azufre

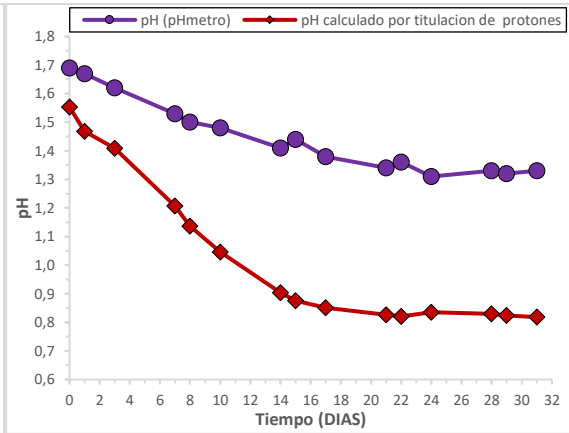


Figura 11.2. Variación del pH a lo largo del ensayo con AT^{Min}

En la figura 12.1 se observa la cinética de crecimiento de las bacterias AF^{Ref} en la figura 12.2 la variación del pH a lo largo del ensayo en medio 9K (pH y bacterias al inicio del ensayo: 1,84 y 1.5×10^6). En la figura 13.1 se observa la cinética de crecimiento de las bacterias AF^{Min} y en la figura 13.2 la variación del pH a lo largo del ensayo bajo las mismas condiciones (pH y bacterias al inicio del ensayo: 1,92 y 1.0×10^6).

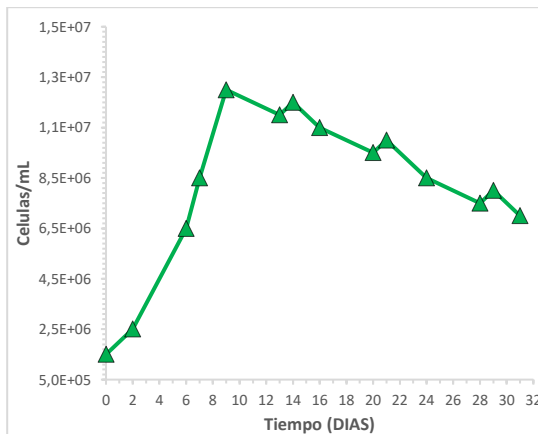


Figura 12.1. Cinética de crecimiento de las bacterias AF^{Ref} en medio 9K

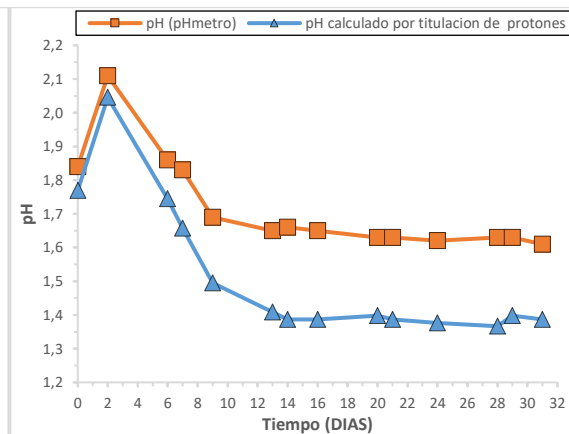


Figura 12.2. Variación del pH a lo largo del ensayo con AF^{Ref}

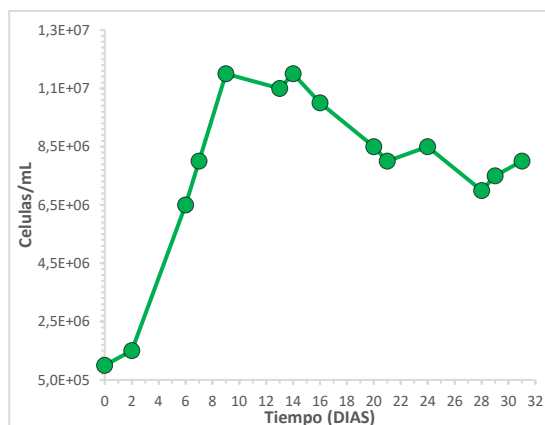


Figura 13.1. Cinética de crecimiento de las bacterias AF^{Min} en medio 9K

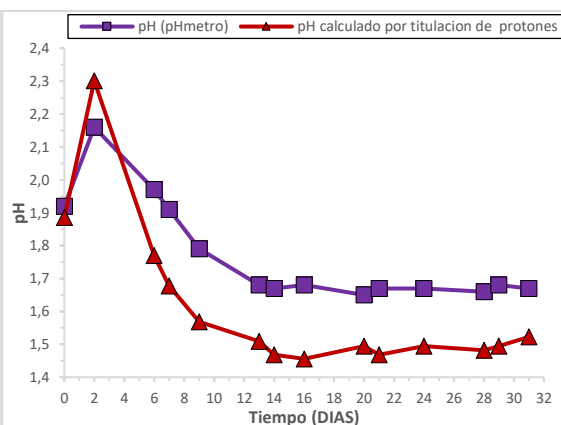


Figura 13.2. Variación del pH a lo largo del ensayo con AF^{Min}

Discusión de los resultados

Es de esperarse que durante el crecimiento de las cepas de *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans*, ocurra una disminución del valor de pH en el medio de cultivo, por la generación de ácido sulfúrico y la liberación de H⁺, debido al consumo de las fuentes de energía (S₀ o Fe²⁺) bajo las condiciones establecidas. Las diferencias obtenidas entre el pH calculado por titulación con Na(OH) 0.01N y el calculado con pHmetro, se deben a cierta limitación del electrodo de pH para obtener un dato confiable a valores muy ácidos. Sin embargo, estos datos son útiles para evaluar el comportamiento de las bacterias durante el transcurso de los ensayos.

No se observan diferencias significativas en la cinética de crecimiento de ambas cepas de *At. thiooxidans* a lo largo del ensayo. En cuanto a la variación del pH durante su crecimiento bajo las mismas condiciones, tampoco se observan diferencias. Para ambas cepas se observa el comienzo de la etapa de crecimiento exponencial a los 3-4 días del ensayo, finalizando a los 10 días en donde comienza la etapa estacionaria. Luego de transcurridos aproximadamente 20 días se observa una disminución en la cantidad de bacterias. También se observa que durante los 20 a 25 días de transcurrido el ensayo, se genera la mayor concentración de [H⁺], obteniéndose una concentración de 0.08 M de H₂SO₄ para la cepa de referencia y 0.075 M para la cepa aislada del mineral.

Para el caso de *At. ferrooxidans*, no se observan diferencias significativas en la cinética de crecimiento a lo largo del ensayo entre ambas cepas, ni en la variación del pH durante el ensayo. Para ambas cepas se observa el comienzo de la etapa de crecimiento exponencial a los 4-5 días del ensayo, finalizando a los 11-12 días en donde comienza la etapa

estacionaria. Luego de transcurrido unos 15-16 días se observa una disminución en la cantidad de bacterias. También se observa que a los 15-16 días de comenzado el ensayo, se genera la mayor concentración de $[H^+]$, obteniéndose una concentración de 0.03 M de H_2SO_4 para la cepa de referencia y 0.025 M para la cepa aislada del mineral.

2.10.3) Ácido sulfúrico biogenerado obtenido de los biorreactores

Resultados

Después de 20 a 25 días de funcionamiento del biorreactor batch cerrado con agitación vertical y burbujeo de aire esterilizado (figura 14.1), el ácido sulfúrico biogenerado obtenido por filtración (figura 14.2) tuvo una concentración de 0.08 M durante la titulación de la acidez y este valor fue constante los días posteriores.

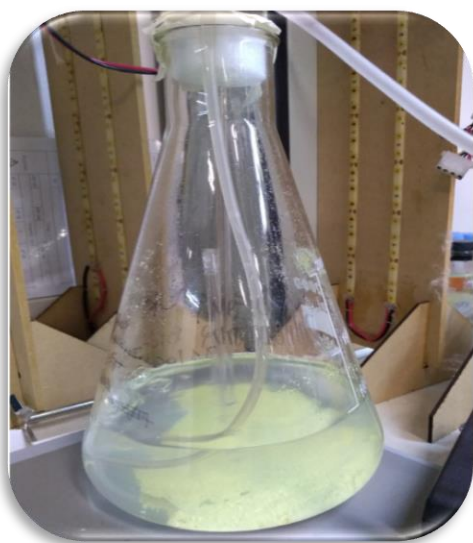


Figura 14.1. Reactor batch cerrado con agitación vertical y burbujeo de aire esterilizado utilizado para obtener ácido biogenerado



Figura 14.2. Ácido biogenerado obtenido

En cuanto al biorreactor airlift con burbujeo de aire esterilizado (figura 15.1), se interrumpió su funcionamiento transcurridos aproximadamente 20 días desde su puesta a punto, ya que se observó una contaminación producida por hongos y/o levaduras de color negro, que crecían sobre la superficie del azufre triturado (figura 15.2). Debido a esto, el ácido biogenerado que se utilizó para los ensayos de lixiviación en batch y en pilas se obtuvo únicamente del reactor batch cerrado con agitación vertical y burbujeo de aire esterilizado.



Figura 15.1. Reactor Airlift con burbujeo de aire esterilizado utilizado para obtener ácido biogenerado



Figura 15.2. Reactor Airlift contaminado

2.10.4) Optimización de las condiciones de biolixiviación en batch agitados utilizando el mineral de Los Viscos

Resultados

A continuación, en las Tablas VII y VIII se observan los resultados obtenidos de pH y conductividad. En la tabla IX se observan los datos obtenidos de los metales lixiviados y de los sulfatos para las muestras enviadas al SEGEMAR al final de su tratamiento. La muestra 9 no pudo determinarse por volumen insuficiente.

Tabla VII. Cinética del pH durante el experimento

Días	Número del cultivo										
	1 (B)	2 (AcBio)	3 (AcBio)	4 (B)	5 (B)	6 (AT ^{Ref})	7 (B)	8 (AT ^{Ref})	9	10 (AT ^{Ref})	11 (AF ^{Ref})
0	8,15	8,04	8,05	6,4	5,99	1,48	5,55	6,03	3,02	2,49	6,85
4	8,06	8,00	7,78	5,89	5,96	1,41	5,64	5,93	-	2,44	5,92
11	7,48	7,96	7,63	5,98	6,19	2,06	5,91	6,12	-	2,86	6,28
15	7,50	7,63	7,52	6,00	5,92	1,47	5,79	5,94	-	2,6	6,12

Tabla VIII. Cinética de la conductividad (mS) durante el experimento

-	Número del cultivo										
	1 (B)	2 (AcBio)	3 (AcBio)	4 (B)	5 (B)	6 (AT ^{Ref})	7 (B)	8 (AT ^{Ref})	9	10 (AT ^{Ref})	11 (AF ^{Ref})
Días											
0	6,00	7,55	6,30	5,46	5,55	40,1	6,66	6,03	9,50	7,35	6,01
4	5,73	7,43	6,28	5,59	5,60	41,6	6,60	5,42	-	8,05	5,98
11	6,01	7,84	6,21	5,62	5,73	55,5	6,55	6,19	-	8,10	5,97
15	5,86	7,55	6,01	5,70	5,71	59,4	6,73	6,19	-	8,09	6,01

Tabla IX. Análisis de metales y sulfatos en la solución al final del tratamiento

-	Número del cultivo										
	1 (B)	2 (AcBio)	3 (AcBio)	4 (B)	5 (B)	6 (AT ^{Ref})	7 (B)	8 (AT ^{Ref})	9	10 (AT ^{Ref})	11 (AF ^{Ref})
Compuestos											
Cobre (ug/L)	< 36	< 36	< 36	< 36	< 36	513	< 36	< 36	-	268	< 36
Hierro (ug/L)	< 11	< 11	< 11	< 11	< 11	100400	< 11	< 11	-	2499	< 11
Manganeso (ug/L)	671	84	308	3777	53270	378600	105000	69	-	135600	62640
Plomo (ug/L)	< 75	< 75	< 75	< 75	< 75	1507	< 75	< 75	-	< 75	< 75
Zinc (ug/L)	< 7	< 7	< 7	< 7	< 7	5321	78	231	-	2984	< 7
Sulfatos (mg/L)	2411	2774	2447	2060	2375	8036	3125	1388	-	2979	2925

Discusión de los resultados

Cuando hay crecimiento bacteriano el cambio de aspecto de los cultivos es evidente, al comienzo los medios se encontraban totalmente transparentes y luego se observó cierta turbidez con distintas coloraciones. Los medios suplementados con azufre normalmente son transparentes y el azufre presenta un color amarillo intenso con aspecto granuloso (figura 16.1). A medida que se genera el crecimiento bacteriano, el medio toma un color blanquecino turbio (figura 16.2) y el azufre se fragmenta tomando un color grisáceo-amarillento.

Se observó de los resultados de pH, conductividad y metales obtenidos con el mineral de Los Viscos durante los ensayos de biolixiviación que se pudo recuperar manganeso de manera específica con la cepa *At. ferrooxidans* de referencia. Esto indica que este proceso podría ser un método selectivo y efectivo para recuperar Mn del mineral Los Viscos.

También se observa que la biolixiviación del mineral es mucho más efectiva con la cepa *At. thiooxidans* de referencia, ya que en las mismas condiciones de cultivo se obtuvo un poco más del doble de manganeso y otros metales como cobre, hierro y zinc.



Figura 16.1. Reactor Airlift en el inicio de su puesta en marcha (Medio de cultivo OK de color transparente)



Figura 16.2. Reactor Airlift a los 10 días de su funcionamiento. Durante el crecimiento de las bacterias se observa que el medio de cultivo toma un color blanquecino

Se estima que hay una fuerte inhibición del crecimiento bacteriano en las muestras cuya densidad de pulpa del mineral es del 20% y en aquellas que contienen bacterias provenientes del mineral (sin inocular). Debido a que se observa una muy baja recuperación de los metales analizados.

En la muestra 7 (blanco), con una densidad de pulpa del 3% y suplementada con azufre, se observa una importante recuperación de manganeso, probablemente por el crecimiento de bacterias presentes en el mineral.

En los blancos que contienen una densidad de pulpa del 1%, se infiere el crecimiento de bacterias nativas presentes en el mineral, debido a una mayor presencia de metales en la solución.

En base a estos resultados se realizaron nuevos ensayos de biolixiviación de metales a partir de este mineral y también se aplicó un inóculo mixto de *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans* para evaluar su potencialidad como consorcio microbiano.

2.10.5) Biolixiviación en batch del mineral Los Viscos

Resultados

En función de los resultados de optimización del proceso de lixiviación en batch con el mineral Los Viscos, se utilizó una densidad de pulpa 3% p/v del mineral ya que en estas condiciones se observó la presencia de la cepa de referencia (AT^{Ref}) y una leve lixiviación de metales, probablemente porque las bacterias no se adaptaron durante el breve transcurso del experimento a las condiciones del ensayo.

Los siguientes ensayos en batch se realizaron en un volumen final de 200 mL en medio OK: blanco, AF^{Ref} y AF^{Ref} con AT^{Ref} (consorcio microbiano).

También se evaluó si el tiempo aplicado de 16 días en el ensayo anterior fue insuficiente para que la cepa AF^{Ref} se adapte, ya que la lixiviación de 1% p/v de densidad de pulpa del mineral Los Viscos fue menos eficiente cuando se compara con la aplicación de la cepa AT^{Ref} .

Por último, se evaluó si el cultivo mixto de AT^{Ref} con AF^{Ref} es más eficiente en la lixiviación del mineral Los Viscos, comparándolo con la aplicación de las cepas de forma individual.

Se observaron resultados y comportamientos similares de pH (figura 17) y conductividad (figura 18) para las 3 muestras, blanco, AF^{Ref} y AF^{Ref} con AT^{Ref} , con un 3% de densidad de pulpa del mineral Los Viscos. En cuanto al Cu y Fe lixiviados en los 3 ensayos, hay pequeñas diferencias entre ellos (figura 19 y figura 20). En la Tabla X también se pueden visualizar los datos obtenidos (UADELabs y AySA).

Los resultados de otros metales de interés fueron analizados en AySA, utilizando un equipo de Espectroscopia Atómica ICP-OES (Ver Anexo II). Se observa una mayor presencia de plata en la solución final del medio de cultivo inoculado con la cepa AF^{Ref} , obteniéndose concentraciones superiores a 40 mg/L. En el blanco y el cultivo mixto (AF^{Ref} con AT^{Ref}) el rendimiento máximo de Ag fue de 6 mg/L. En los 3 medios de cultivo se observó una recuperación de Mn superior a los 20 mg/L, resultado que coincide con los datos obtenidos del SEGEMAR. Para el caso del Zn, los mejores resultados fueron para el blanco, obteniéndose una recuperación mayor a 50 mg/L, luego para el cultivo mixto que recuperó 9,5 mg/L y finalmente para la cepa AF^{Ref} que recuperó 7,8 mg/L.

Tabla X. Resultados de pH, conductividad, Cu y Fe de los cultivos en batch con 3% de densidad de pulpa del mineral Los Viscos y 1% de azufre

Días	Blanco				AF ^{Ref}				AF ^{Ref} y AT ^{Ref}			
	pH	Conductividad	Fe	Cu	pH	Conductividad	Fe	Cu	pH	Conductividad	Fe	Cu
0	6,46	4,33	3,05	0,00	6,44	4,39	3,91	0,00	6,45	4,38	3,94	0,00
4	7,65	4,38	3,07	0,00	8,01	4,33	3,87	0,00	8,05	4,38	4,15	0,00
7	7,92	4,28	-	-	8,12	4,34	-	-	8,16	4,36	-	-
11	7,96	4,21	4,18	0,00	8,12	4,21	4,17	0,00	8,11	4,26	4,54	0,00
12	7,91	4,18	4,32	0,00	8,05	4,23	4,17	0,00	8,01	4,29	4,99	0,00
21	5,78	5,06	4,19	0,00	6,34	5,68	3,64	0,00	5,78	6,49	4,22	0,00
25	4,50	5,44	3,53	0,00	5,77	5,88	3,68	0,00	5,94	5,60	3,70	0,00
33	4,21	5,72	-	-	4,30	5,44	-	-	4,23	5,66	-	-
35	4,42	5,78	-	-	4,45	5,63	-	-	4,36	5,67	-	-
39	4,37	5,84	0,95	0,00	4,50	5,69	1,75	0,23	4,38	5,78	1,08	0,00
46	4,29	5,81	-	-	4,38	5,76	-	-	4,50	5,78	-	-
47	4,42	5,80	-	-	4,26	5,62	-	-	4,27	5,74	-	-
49	4,08	5,83	-	-	4,11	5,61	-	-	4,19	5,75	-	-
61	4,20	6,12	-	-	4,26	6,27	-	-	4,29	6,49	-	-

Aclaración: Los valores de conductividad se encuentran en mS y las concentraciones de Cu y Fe en mg/L

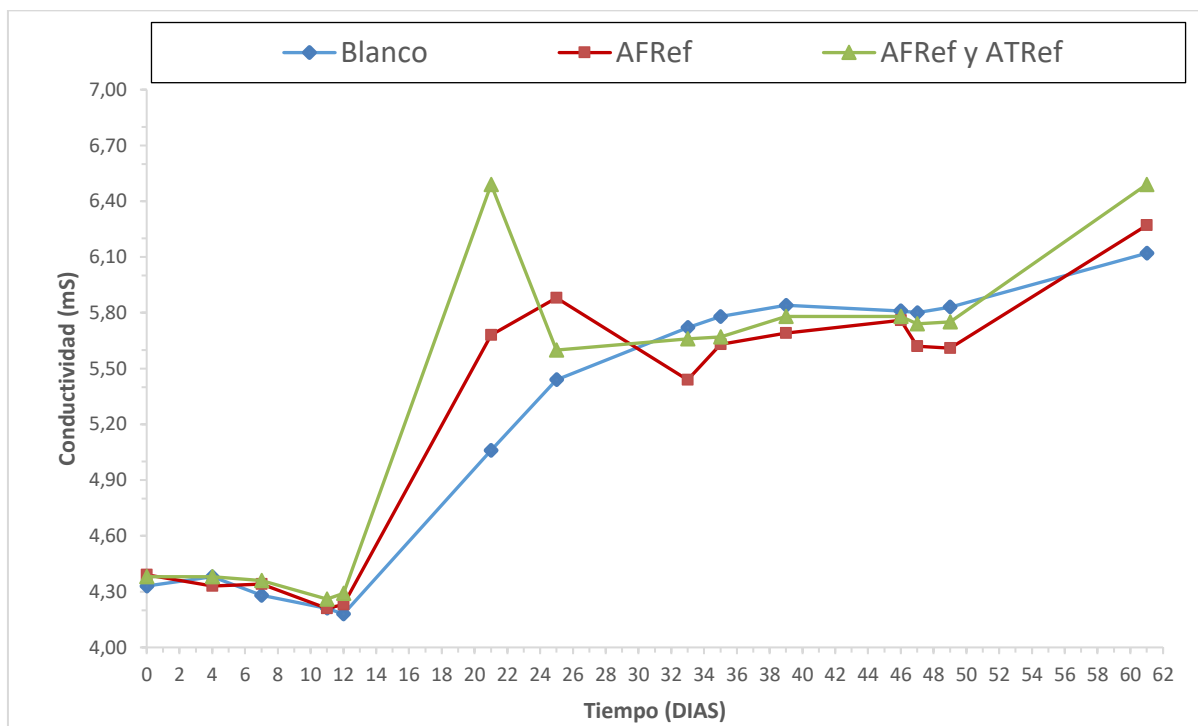


Figura 17. Gráfico de conductividad de las muestras con un 3% de densidad de pulpa del mineral Los Viscos y 1% de azufre

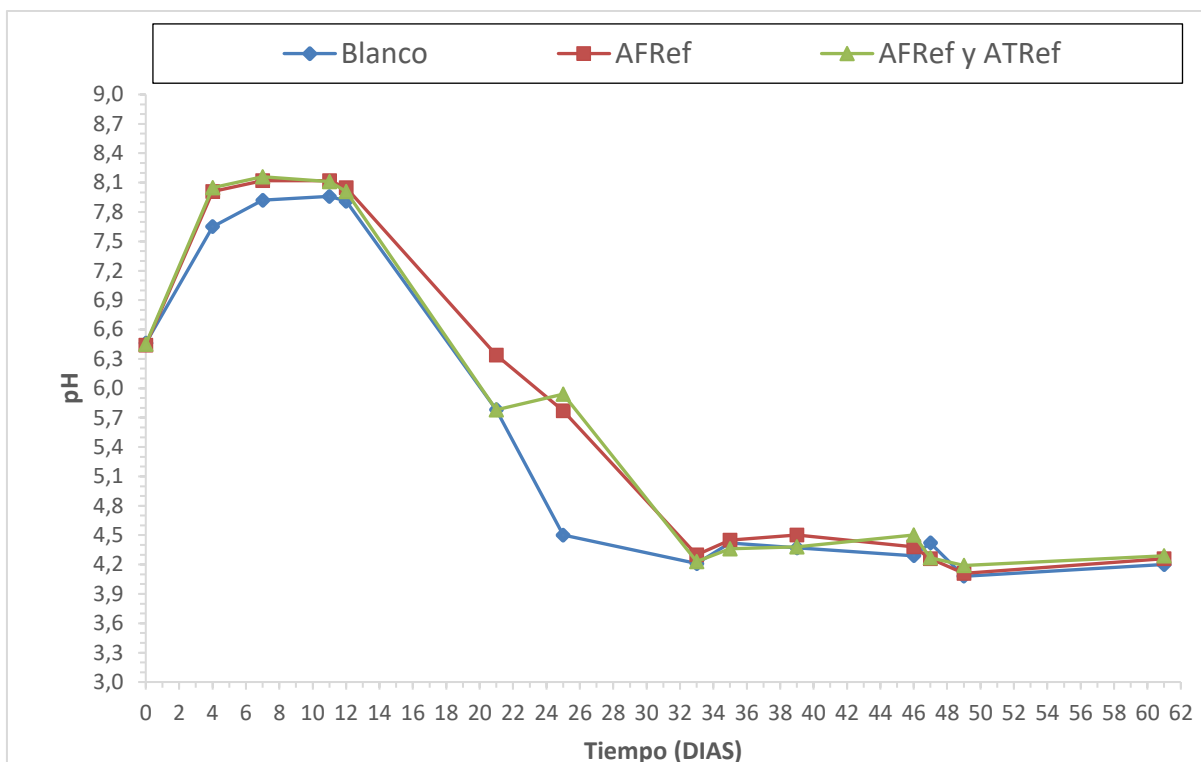


Figura 18. Gráfico de pH de las muestras con un 3% de densidad de pulpa del mineral Los Viscos y 1% de azufre

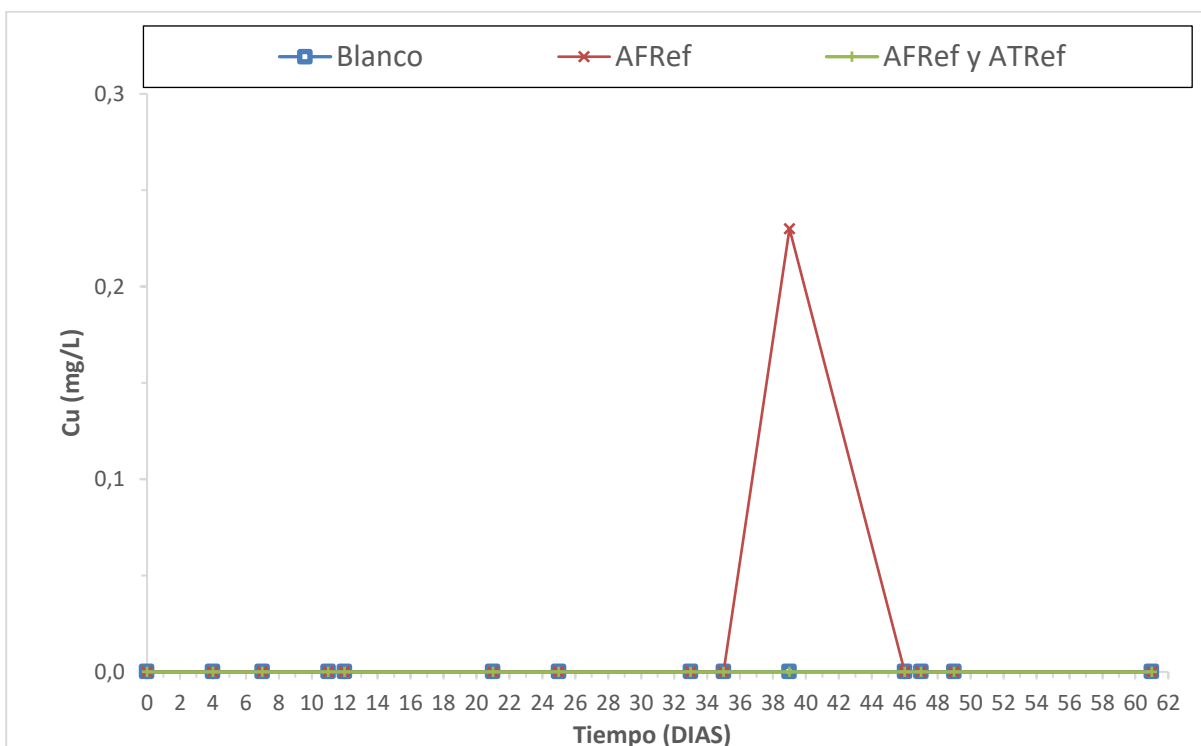


Figura 19. Gráfico de cobre lixiviado en las muestras con un 3% de densidad de pulpa del mineral Los Viscos y 1% de azufre

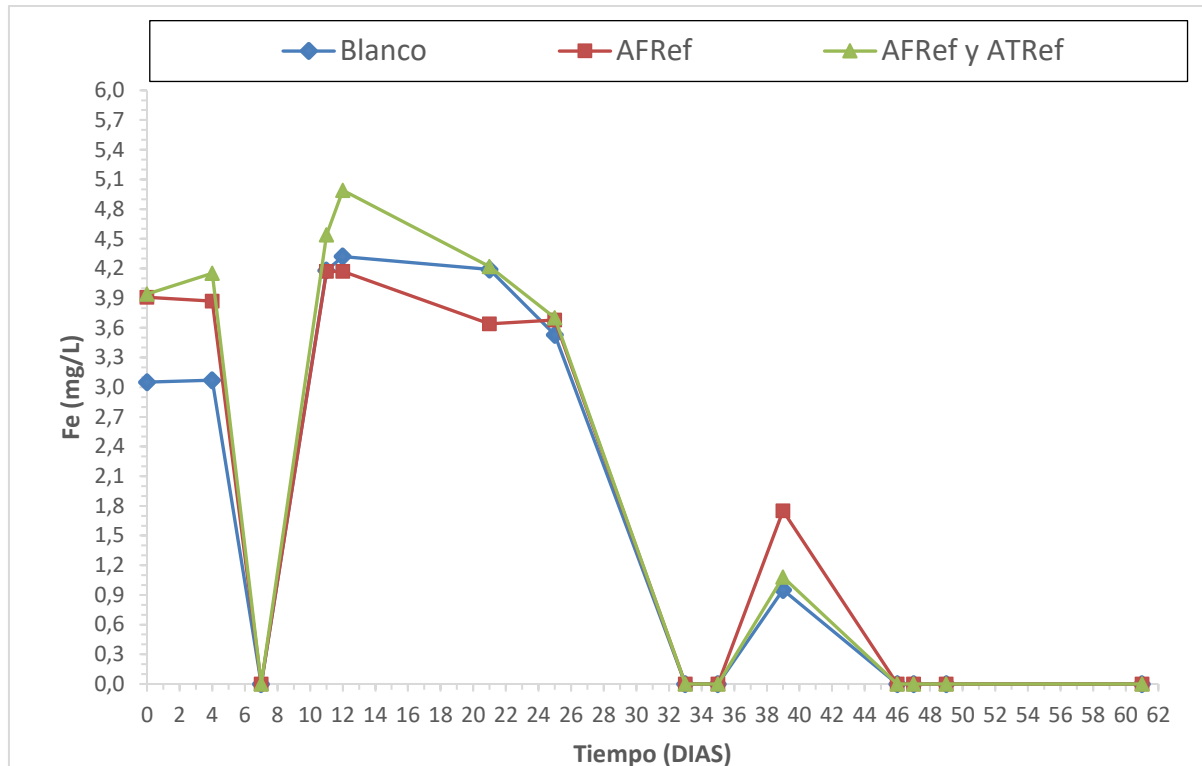


Figura 20. Gráfico de hierro lixiviado en las muestras con un 3% de densidad de pulpa del mineral Los Viscos y 1% de azufre

Discusión de los resultados

En base a los resultados obtenidos se determinó que el consorcio microbiano AF^{Ref} con AT^{Ref} no presenta diferencias en la biolixiviación de metales con el mineral Los Viscos cuando se aplica a la cepa AF^{Ref} de forma individual.

En cuanto al hecho de que el tiempo aplicado de 16 días en el ensayo anterior fuera insuficiente, se observa que posterior a este tiempo se lixivian metales de interés como Ag y Zn y aumenta considerablemente la lixiviación de Mn, probablemente debido a que se favorece la lixiviación de estos metales por una disminución en el pH de los cultivos a lo largo del tiempo. Por lo tanto, es necesario que las bacterias lixivien el mineral por al menos 50 días para poder obtener el mayor rendimiento de estos metales de interés.

Por último, debido a los resultados obtenidos en el blanco se estima la presencia y el crecimiento de bacterias nativas provenientes del mineral, capaces de biolixiviar el mineral tan eficientemente como las cepas de referencia utilizadas y su comportamiento en cuanto al pH, conductividad y metales recuperados no es muy diferente.

2.10.6) Biolixiviación en batch agitados y sin agitar utilizando una arena con magnetita

Resultados

Una forma de corroborar el crecimiento bacteriano, en medios de cultivos suplementados con hierro, es su cambio de color a una coloración anaranjada-rojiza (figura 21.1 y 21.2) debido a la oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} y por el aumento de la turbidez en el medio.

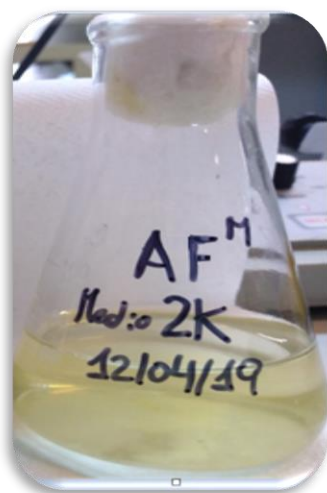


Figura 21.1. Cultivo de AF^{Min} en medio 2K (día 0)

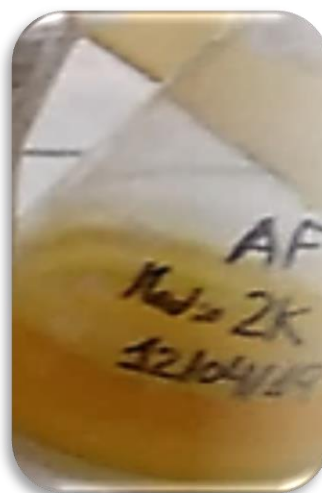


Figura 21.2. Cultivo de AF^{Min} en medio 2K (día 10)

Se observó el crecimiento de bacterias en los medios de cultivos inoculados por la turbidez generada y por los cambios en la coloración de las distintas condiciones de ensayo. Sin embargo, no se observaron cambios relevantes de pH, D.O, Fe^{+2} soluble y hierro total en las muestras analizadas (Tabla XI y Tabla XII).

En el primer ensayo con los cultivos en batch en agitación no se realizó un blanco, debido a que se quería determinar en primera instancia si se generaba efectivamente la disolución de la magnetita. En la figura 22.1 se observa que durante los 35 días de ensayo no hubo un aumento en el Fe soluble debido a la lixiviación de la magnetita, pero si hubo crecimiento bacteriano (figura 22.2) y una leve variación del pH (figura 22.3)

Tabla XI. Cultivos en batch en agitación con 50 gr de arena en 100 mL de medio 0K e inoculados con AF^{Min}

-	Muestra 1				Muestra 2 (Duplicado)			
Días	Fe	Fe ⁺²	D.O	pH	Fe	Fe ⁺²	D.O	pH
0	11,75	0,00	0,234	2,87	16,36	0,00	0,217	2,75
14	1,402	0,00	0,162	2,7	1,58	0,00	0,157	2,68
16	1,006	0,00	0,191	2,59	1,12	0,00	0,15	2,62
27	4,45	0,00	0,712	2,81	1,56	0,00	0,363	2,78
35	1,847	0,00	0,617	2,87	1,761	0,00	0,32	2,75

Aclaración: Los resultados de Fe y Fe⁺² son en mg/L y la densidad óptica (D.O) es la absorbancia obtenida a 600 nm

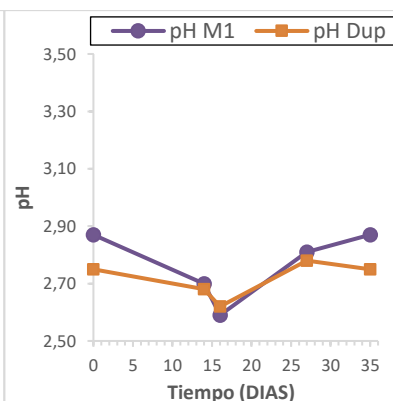
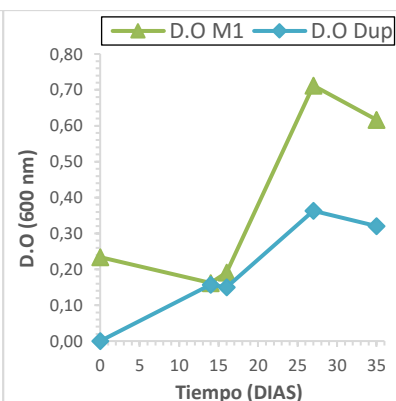
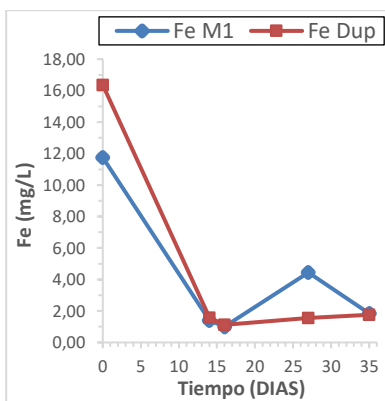


Figura 22.1. Resultados de Fe lixiviado (mg/L) de los cultivos con arena y agitación durante los 35 días de ensayo

Figura 22.2. Resultados de D.O (600 nm) de los cultivos con arena y agitación durante los 35 días de ensayo

Figura 22.3. Resultados de pH de los cultivos con arena y agitación durante los 35 días de ensayo

Tabla XII. Cultivos en batch sin agitación con 20 gr de arena en 100 mL de medio 0K e inoculados con AF^{Min}

-	Blanco		Muestra	
Días	Fe (mg/L)	pH	Fe (mg/L)	pH
0	0,844	2,96	1,3	2,97
3	1,963	3,17	0,8	3,19
7	1,71	3,23	1,235	3,22
10	0,586	3,25	1,573	3,25
62			0,268	5,1

Aclaración: Las celdas en blanco son días en los que no se realizó la medición de ese parámetro

Discusión de los resultados

Bajo las condiciones de biolixiviación estudiadas con la cepa AF^{Min} (batch agitados y sin agitar, durante un periodo de tiempo superior a los 30 días) no se observa una

degradación significativa de la magnetita contenida en las arenas. Se descarta su aplicación como tratamiento de separación.

Los resultados observados coinciden con otros estudios realizados que utilizan a *At. ferrooxidans* para la recuperación de metales utilizando minerales con magnetita, en los cuales la solubilización y los rendimientos son muy bajos, tanto para las condiciones aeróbicas como las anaeróbicas. (Bellenberg *et al.* 2021)

2.10.7) Biolixiviación con ácido biogenerado en batch agitados utilizando matas de cobre

Resultados

La concentración final de Cu y Fe obtenida después de la digestión total de 1 gr de las matas de cobre con ácido nítrico concentrado se muestra a continuación (Tabla XIII):

Tabla XIII. Concentración de cobre y hierro de 1 gr del desecho de mata de cobre utilizado para los ensayos de biolixiviación

Concentración	Muestras	
-	Muestra 1	Muestra 2 (Duplicado)
Cobre (g/L)	1,14	1,61
Hierro (mg/L)	1,45	3,69

De los resultados obtenidos se estima que en promedio cada gramo del mineral está compuesto por un 13,75% de cobre y un 0,03% de hierro.

En las figuras (23.1; 23.2 y 23.3) pueden observarse imágenes de los batchs agitados en los primeros días del experimento para las distintas condiciones experimentales. En las figuras 24.1 y 24.2 pueden observarse la cinética de la conductividad y del pH. En las figuras 25.1 y 25.2 se encuentran los gráficos de lixiviación de los metales cobre y hierro.



Figura 23.1. Tratamiento con 2 % de mineral (izquierda) y con 1 % del mineral (derecha), ambos con ácido biogenerado

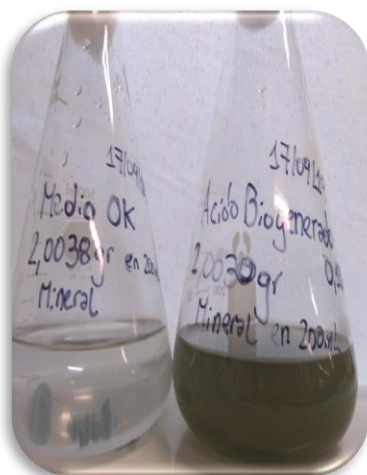


Figura 23.2. Blanco (medio OK con 1% de mineral) (izquierda) y tratamiento con ácido biogenerado y 1% de mineral (derecha)

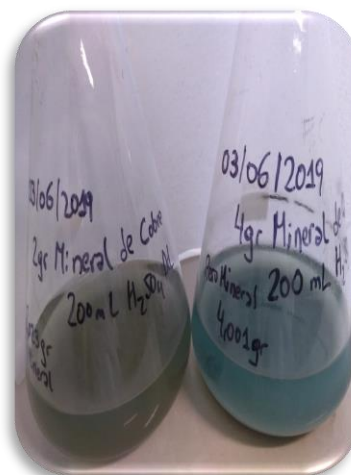


Figura 23.3. Tratamientos con ácido sulfúrico industrial. A la izquierda se encuentra el tratamiento con 1 % de mineral y la derecha con 2 % del mineral

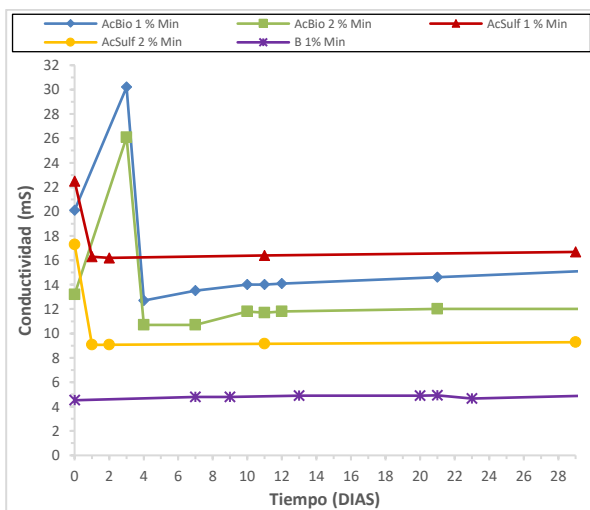


Figura 24.1. Gráficos de cinética de la conductividad de los distintos tratamientos del desecho de mata de cobre - Datos obtenidos en UADELabs

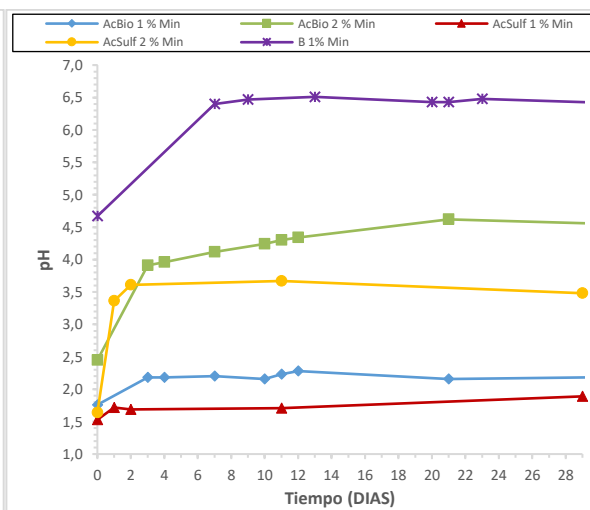


Figura 24.2. Gráficos de cinética del pH de los distintos tratamientos del desecho de mata de cobre - Datos obtenidos en UADELabs

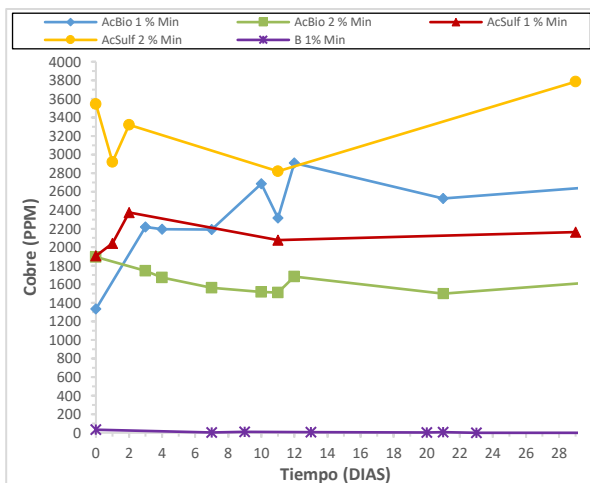


Figura 25.1. Gráficos de lixiviación del cobre de los distintos tratamientos del desecho de mata de cobre - Datos obtenidos en UADELabs

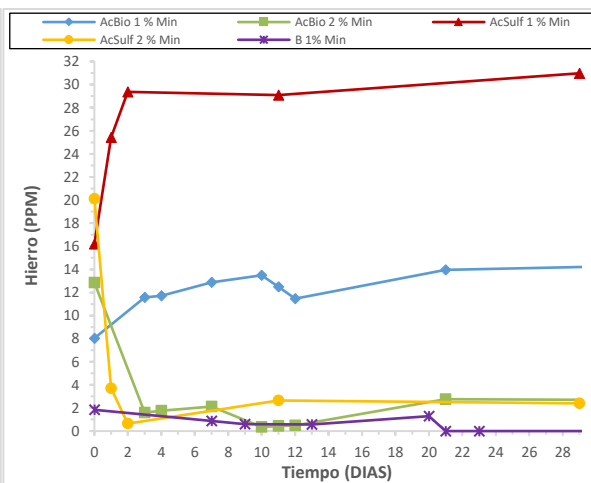


Figura 25.2. Gráficos de lixiviación del hierro de los distintos tratamientos del desecho de mata de cobre - Datos obtenidos en UADELabs

Discusión de los resultados

Durante el periodo de tiempo de 29 días que duraron los ensayos, se observa una mayor recuperación de cobre (3,785 g/L) cuando se utiliza ácido sulfúrico comercial y un 2% de mineral de las matas de cobre. La menor recuperación de cobre (1,744 g/L) fue con el ácido biogenerado y un 2% de mineral.

Para ambos tratamientos con ácido y un 2% de mineral, se observa un pH final más elevado, probablemente por una mayor disolución de las especies alcalinas.

En las muestras con 1% de mineral se observa que el ácido biogenerado fue más efectivo para lixiviar el cobre, en comparación con el tratamiento de ácido sulfúrico (2,908 g/L y 2,375 g/L), pero no ocurre lo mismo con el hierro (14,51 mg/L y 30,98 mg/L).

En la muestra con ácido biogenerado y 1% de mineral, se observó la lixiviación de los siguientes metales: Ag (30 mg/L <); Co (10 mg/L <); Pb (20 mg/L) y Mn (30 mg/L <). Cuando se comparan los datos obtenidos en el blanco con los tratamientos con ácido, la recuperación de estos metales fue inferior y para el caso del cobalto no se detectó su presencia.

En base al análisis de las matas de cobre realizado con ácido nítrico para extraer el cobre y el hierro total del mineral, se estima que para el ensayo con ácido biogenerado y 1% de mineral la recuperación de cobre por cada gramo de mineral utilizado fue del 14,54%, mientras que para el ensayo con ácido sulfúrico industrial fue del 11,88%.

Para el ensayo con ácido biogenerado y un 2% de mineral, la recuperación de cobre por cada gramo de mineral fue del 4,36%, mientras que para el ensayo con ácido sulfúrico industrial fue del 9,46%. Con el ácido biogenerado se recupera aproximadamente la mitad del Cu en comparación con el tratamiento con ácido sulfúrico industrial.

En los tratamientos con un 2% del mineral se observa una menor proporción de cobre recuperado frente a la utilización de un 1% de mineral. Estos resultados pueden deberse a que la concentración del ácido es insuficiente para disolver completamente una mayor cantidad del mineral.

Se concluye que el ácido biogenerado es tan efectivo como el ácido sulfúrico industrial, en las mismas condiciones de acidez (0.08M), para tratar 1% de densidad de pulpa del desecho de matas de cobre y poder lixiviar la mayor proporción de Cu y Fe contenidos en el mineral. No se recomienda su aplicación para una densidad de pulpa mayor al 1%, ya que los rendimientos de metales lixiviados como el Cu y el Fe son menores a los esperados.

2.11) Conclusiones generales de los aislamientos y ensayos en batch

De los resultados obtenidos se establece que se logró aislar y caracterizar satisfactoriamente cepas bacterianas extremófilas de un mineral sulfuroso de baja ley del yacimiento Los Viscos que contiene oro, plata y otros metales, para la biolixiviación de metales de interés, identificadas como *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans*. Las cepas de referencia *At. thiooxidans* y *At. ferrooxidans* obtenidas del SEGEMAR se utilizaron con fines comparativos para facilitar la interpretación de los resultados y validar los obtenidos con las cepas aisladas del mineral Los Viscos.

De los resultados obtenidos en las cinéticas de crecimiento se concluye que la cepa AT^{Min} aislada del mineral Los Viscos, tiene un comportamiento similar a la cepa de referencia AT^{Ref}, bajo condiciones de crecimiento óptimas en medio 0K y 1% p/v de azufre. En cuanto a la cepa AF^{Min} aislada del mineral Los Viscos, se observa un comportamiento similar a la cepa de referencia AF^{Ref}, bajo condiciones de crecimiento óptimas en medio 9K. De estos resultados se estima que es posible la aplicación de las cepas AT^{Min} y AF^{Min} aisladas del mineral Los Viscos para lixiviar minerales de interés y obtener metales con valor comercial y su aplicación dependerá del mineral utilizado para lixiviar, las condiciones óptimas de crecimiento

que se puedan lograr durante el ensayo, los resultados obtenidos en la recuperación de metales y otros factores que influyen en el proceso.

De los ensayos realizados en batch con la cepa AT^{Ref} y el mineral Los Viscos se concluye que es posible el tratamiento del mineral de baja ley por el proceso de biolixiviación, ya que se observa la recuperación de metales de interés con valor comercial como: Ag, Cu, Mn y Zn.

En cuanto a la cepa AF^{Ref}, se concluye que también puede utilizarse para tratar el mineral de Los Viscos y podría aplicarse como un método selectivo para recuperar manganeso. Con esta cepa también se obtuvieron los mayores rendimientos de plata, incluso mayores a cuando se aplicó el cultivo mixto de AT^{Ref} y AF^{Ref}.

En cuanto a los cultivos en batch con la cepa AF^{Min}, se descarta su aplicación como tratamiento para separar la magnetita contenida en arenas utilizadas en el proceso del fracking de petróleo, ya que no se obtuvieron resultados que indiquen una lixiviación de la magnetita debido a una mayor presencia de hierro soluble.

Para los ensayos en batch utilizando las matas de cobre, se concluye que el ácido biogenerado es tan eficiente como el ácido sulfúrico industrial para la extracción de diversos metales y debe evaluarse tanto la densidad de pulpa utilizada en los ensayos como la concentración del ácido utilizado, ya que puede disminuir el rendimiento de los metales obtenidos cuando la densidad de pulpa es mayor a 1%. Algunos de los metales de interés obtenidos de las matas de cobre utilizando el ácido biogenerado fueron: Ag; Co; Cu; Pb y Mn.

Capítulo 3

Ensayos de lixiviación en pilas

3.1) Introducción

Las pilas de lixiviación son generalmente cúmulos de minerales de baja ley, que son irrigados desde su cima con soluciones ácidas. Sus primeras aplicaciones fueron la extracción de cobre de distintos minerales que, en algunos casos, provenían de las escombreras de las minas (Brierley y Brierley. 2001; Du Plessis *et al.* 2007).

En la figura 26 se muestra un esquema de un circuito de lixiviación en pilas típico y a continuación se mencionan sus principales componentes (SRK Consulting, [en línea]).

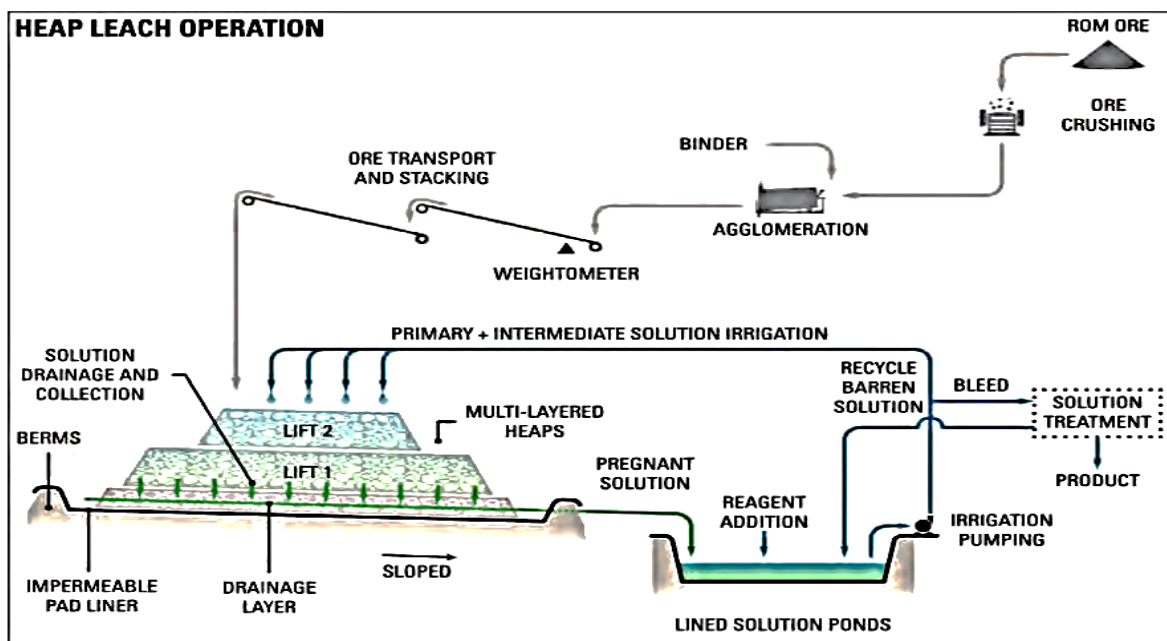


Figura 26. Circuito típico de lixiviación en pilas - Mining World | Volume 12 | Issue 5 | October 2015

- Sistemas de procesamiento y manipulación de minerales que incluyen trituración, transporte y apilamiento.
- Aglomeración del mineral, para estabilizar las fracciones más finas e iniciar la cinética de lixiviación.
- Recubrimiento de la pila, para proporcionar contención del mineral apilado.

- Sistemas de riego para aplicar la solución de lixiviación sobre la pila y sistemas de recolección de soluciones.
- Estanques de recogida de soluciones y estanques de emergencia para eventos extremos.
- Sistemas de preparación y adición de reactivos.
- Circuitos de recuperación de metales. Específicos para los metales que se recuperan.

Cada operación de lixiviación en pilas debe evaluarse individualmente para poder establecer un funcionamiento operativo optimizado, ya que es poco probable que exista un proceso general de lixiviación debido al gran número de parámetros que influyen en este proceso que puede durar meses o incluso años (Petersen y Dixon. 2007; Ghorbani *et al.* 2015).

La tecnología de biolixiviación en pilas ha evolucionado a partir de la lixiviación convencional en pilas y está emergiendo como la ruta tecnológica predominante para la recuperación de cobre a partir de minerales de baja ley. Las bacterias utilizadas en este proceso pueden encontrarse de forma natural o pueden ser agregadas al mineral (Domic. 2007; Bernardelli. 2017). Un factor fundamental para la biolixiviación en este proceso es el ingreso de aire por debajo de la pila para garantizar un entorno aeróbico en el que los microorganismos puedan prosperar para aumentar la tasa de oxidación del mineral. En términos de ingresos generados es, ampliamente, la aplicación industrial más importante de la biohidrometalurgia, ya que es una tecnología extremadamente simple e implica gastos operativos y de capital relativamente menores en comparación con otros procesos. Un inconveniente menos obvio es que depender de un proceso natural también puede requerir tiempos prolongados para el proceso y, por lo tanto, bajas tasas de recuperación (Domic. 2007; Du Plessis *et al.* 2007; Petersen y Dixon. 2007).

A continuación, se mencionan procesos de lixiviación y biolixiviación en pilas utilizados en la minería para la recuperación de metales.

3.2) Lixiviación de minerales en pilas

Durante la década de 1980, se aplicaron proyectos modernos de lixiviación para nuevos minerales en Chile, en conjunto con empresas mineras nacionales e internacionales, como la planta de extracción con solvente y electroobtención en El Teniente, para tratar las aguas ácidas de la mina (1984); la planta de extracción con solvente y electroobtención en el Proyecto Ripios, que involucró el retratamiento de los antiguos relaves en Chuquicamata (1987)

y la operación de biolixiviación en pilas de capa delgada (Thin Layer o TL) con solventes y electroobtención en Lo Aguirre (1985) (Domic. 2007).

La aplicación del proceso de aglomeración y curado con ácido seguido de la lixiviación por goteo, conocida como el proceso de lixiviación TL, permitió que minas como Lo Aguirre comenzaran su operación comercial. Esto inició un período durante la década de 1980 que intensificó el uso de la lixiviación en pilas y sus variaciones. Estas técnicas hicieron posible procesar con éxito minerales con leyes cada vez más bajas (Beckel. 2001; Domic. 2007).

Este proceso de lixiviación varía de mineral a mineral, dependiendo de su composición y su ley. Por lo general, las aplicaciones comerciales utilizan el material finamente triturado y después de la aglomeración se acopia en pilas de 3 a 8 m de alto. La duración total del proceso de lixiviación para minerales de óxido de cobre es de 15 a 90 días. Para los minerales de sulfuro de cobre, la duración total de la lixiviación es de 10 a 18 meses. En ambos casos, la recuperación de cobre de la fracción lixiviable puede ser muy superior a la de otros procesos de lixiviación. Se puede obtener comúnmente una extracción de cobre del 80-85% y en algunos casos hasta del 90% (Domic. 2007; Ghorbani *et al.* 2015).

3.3) Biolixiviación de minerales en pilas

En 1993 en Cerro Colorado, Chile, comenzó a operar la primera etapa de un proyecto que trataba minerales mixtos de óxido de cobre y sulfuros de cobre marginales, utilizando en una sola operación los procesos de: aglomeración y lixiviación TL, lixiviación bacteriana, extracción con solvente y electroobtención. Las mejoras más significativas fueron que no sólo los minerales de óxido de cobre podían ser lixiviados por la acción bacteriana, sino que también era posible la lixiviación de los sulfuros de cobre secundarios presentes en el mineral, como la calcocita (Cu_2S), la covelita (CuS) y parte de la bornita (Cu_5FeS_4) (Beckel. 2001; Domic. 2007).

La característica distintiva y clave del proceso de biolixiviación en pilas cuando se utilizan microorganismos termófilos es lograr una temperatura elevada por encima de los 55°C , para facilitar la recuperación efectiva del cobre marginal. La temperatura alcanzada es resultado del calor generado y de los factores de retención y pérdida del calor. Los dos factores principales que dominan la capacidad de generar calor son el contenido de azufre disponible en

el mineral y la actividad microbiana para oxidar el azufre a sulfato (Petersen y Dixon. 2002). La generación óptima de calor también depende de una distribución uniforme de la actividad microbiana en toda la altura de la pila.

Otro factor importante del proceso es el consumo de O₂ y CO₂ en función de la altura de la pila y la respuesta cinética del crecimiento microbiano hacia concentraciones decrecientes (Nemati *et al.* 1998).

Hay importantes limitaciones a los parámetros operativos que se pueden utilizar para lograr el pH deseado en la solución. La cantidad de ácido utilizada durante la aglomeración y en la solución de refino, se puede aumentar hasta un punto, ya que superando ese límite se produce daño al inóculo microbiano. Además, el uso de concentraciones ácidas crecientes también aumenta la reactividad de la ganga en los minerales, permitiendo su solubilización. Esto, a su vez, tiene dos impactos potenciales. El primero es que la concentración de sales disueltas en la solución aumenta, lo que puede dar lugar a efectos perjudiciales debido a la fuerza iónica sobre la actividad microbiana (Blight y Ralph. 2004; Shiers *et al.* 2005). En segundo lugar, el aumento de las concentraciones de ácido puede comprometer la integridad estructural de la pila, particularmente de los minerales arcillosos, debido a su disolución (Domic. 2007; Ghorbani *et al.* 2015).

Aunque el mineral utilizado generalmente contiene cantidades suficientes de micronutrientes para apoyar el crecimiento microbiano, deben agregarse macronutrientes como el amonio y el fosfato (Domic. 2007).

3.4) Los procesos GEOCOAT y GEOLEACH de biolixiviación en pilas

GeoBiotics desarrolló y patentó la tecnología GEOCOAT[®] de biooxidación y biolixiviación, que combina las altas tasas de recuperación de los procesos de agitación en tanques con los bajos costos de los procesos basados en pilas (Williams *et al.* 2008). Este proceso utiliza bacterias oxidantes de hierro y azufre, como las mesófilas *At. ferrooxidans*; *At. thiooxidans*; y *L. ferrooxidans*, y a las arqueas termófilas *Sulfolobus* y *Acidianus* (Harvey y Bath. 2007).

En el proceso, la flotación de minerales de sulfuro o el concentrado por gravedad es recubierto generando una suspensión espesa, sobre roca de soporte triturada y clasificada por tamaño, que puede ser estéril para desechar y/o puede contener minerales de sulfuros u óxidos

de interés (Williams *et al.* 2008). El proceso es aplicable en la biooxidación de concentrados de oro con sulfuro refractario y en la biolixiviación de concentrados de cobre, níquel, cobalto, zinc y metales básicos polimetálicos (Harvey y Bath. 2007; Pradhan *et al.* 2008).

El tamaño del material de soporte en la pila es típicamente de 6-25 mm de diámetro, lo que permite que el concentrado forme un recubrimiento de menos de 0,5 mm de espesor en las superficies de la roca. El tamaño relativamente uniforme de las partículas de soporte da como resultado grandes espacios intersticiales dentro de la pila creando condiciones ideales para la biooxidación, ofreciendo una resistencia muy baja al aire y a los flujos de soluciones (Harvey y Bath. 2007; Williams *et al.* 2008).

Por lo general, la oxidación se completa de 60 a 120 días. La solución lixiviada se recircula a la pila a través de aspersores, desde un estanque con revestimiento. Una parte de la solución circulante se remueve para mantener la concentración de hierro dentro de los límites del diseño. La corriente removida se bombea al circuito de neutralización, una serie de tanques agitados, donde se añaden relaves de flotación para neutralizar el ácido y precipitar el hierro. La solución neutralizada, que contiene el hierro precipitado, se bombea a un embalse de relaves. Se proporciona un embalse separado para los residuos de cianuro, para garantizar que no vuelva al circuito en el proceso de reciclado del agua (Harvey y Bath. 2007; Williams *et al.* 2008).

Las operaciones de procesamiento posteriores dependen del propósito del proceso de biooxidación o biolixiviación. El residuo sólido oxidado que contiene el oro se transporta a un tambor de cribado para separar el concentrado. El flujo de la suspensión con el concentrado tamizado se bombea a un espesador de alta velocidad. El flujo inferior en el espesador se transfiere a un tanque de ajuste de pH, después de un segundo cribado, y se agrega cal para elevar el pH para la cianuración (Harvey y Bath. 2007). A continuación, la suspensión del concentrado se bombea a la planta de lixiviación con carbón activado o CIL (del inglés carbon in leach) de pretratamiento, para la recuperación del oro por cianuración (Williams *et al.* 2008). En el procesamiento de sulfuros de cobre y otros metales, el metal de interés se solubiliza y se recupera de la solución de lixiviación (Harvey y Bath. 2007).

El proceso GEOCOAT[®] es un proceso simple y robusto y ofrece ventajas significativas sobre los procesos establecidos (tostado, oxidación a presión y biooxidación en tanque agitado). Las principales ventajas son: menores costos de capital y operación, materiales de construcción con bajo costo, uso de aire a baja presión como oxidante primario y relativa

facilidad en la biooxidación de la mayoría de los sulfuros (Harvey y Bath. 2007; Williams *et al.* 2008).

La tecnología GEOLEACH™ de GeoBiotics para la biolixiviación y biooxidación de minerales sulfurados con oro y otros metales en pilas, es aplicable a sistemas de mineral entero (sin concentrar). El incentivo para desarrollar el proceso es que la oxidación de los sulfuros en la mayoría de los sistemas de lixiviación de mineral entero, pueden potencialmente liberar suficiente energía para elevar la temperatura de la pila a valores muy altos. Temperaturas altas, por encima de 70°C, parecen ser particularmente importantes para el éxito de la biolixiviación de la calcopirita (Stott *et al.* 2000; Harvey y Bath. 2007, Pradhan *et al.* 2008).

Esta tecnología se basa en el conocimiento de las mejores aplicaciones de lixiviación y biolixiviación en la industria y en una estrategia operativa para elevar la temperatura y maximizar la conservación del calor a través del control cuidadoso de las tasas de aireación y riego, con el fin de mantener la actividad bacteriana (Harvey y Bath. 2007).

3.5) Biooxidación en pilas de lixiviación con minerales de sulfuro que contienen oro

Newmont Gold Company biooxidó con éxito más de 12 lotes comerciales en pilas que contienen 8,8 Mt de mineral sulfídico en total y recuperó aproximadamente 12,2 t de oro mediante el proceso de lixiviación con carbón activado (CIL), utilizando un proceso patentado (BIOPRO™) de inoculación de mineral triturado con un consorcio microbiano que metaboliza y crece del hierro antes de su incorporación en las pilas fomentando un inicio temprano y una tasa más uniforme de biooxidación, en comparación con la aplicación de microbios en la superficie después de formada la pila (Logan *et al.* 2007; Roberto. 2017).

Las temperaturas oscilan entre 25 °C y casi 80 °C durante el proceso, asegurando la diversidad del consorcio microbiano en las diferentes etapas de biooxidación (Logan *et al.* 2007; Roberto. 2017).

En las pilas se biooxidan minerales refractarios sulfídicos enteros de baja ley (1 a 3 gr Au/t) que contienen piritita y arsenopiritita (Roberto. 2017). El mineral utilizado es triturado a un tamaño más pequeño que 19 mm para el 80% de las partículas. Se añade aproximadamente 2 kg de ácido sulfúrico concentrado, por tonelada de mineral, por porcentaje de carbonato de

calcio. Esta cantidad destruye suficiente carbonato de calcio para mantener el pH por debajo de 2 y mantener la aplicación de la biosolución obtenida, asegurando el objetivo óptimo de 4% de humedad en el mineral (Logan *et al.* 2007).

Se han observado las mejores tasas de biooxidación cuando la solución tiene un potencial redox por encima de 550 mV. Se logra una actividad aceptable por encima de los 475 mV y por debajo de los 400 mV la biooxidación se ve obstaculizada (Logan *et al.* 2007; Roberto. 2017).

Contenidos de carbonato cálcico superiores al óptimo en el mineral generan lentitud en la biooxidación y el pH de la solución global puede mantenerse constante durante semanas, extendiendo los tiempos y reduciendo la extracción del oro (Logan *et al.* 2007; Roberto. 2017).

Cuando se alcanzan los límites de solubilidad en la biosolución, se forman precipitados dentro de la pila. La calcita sin reaccionar en la etapa de inoculación ácida reacciona con la biosolución fresca para formar precipitados de yeso (CaSO_4), que ocasionan la obstrucción de las tuberías de aireación y afectan el movimiento de la biosolución al bloquear los intersticios en la pila. El yeso también tiende a recubrir a los minerales de carbonato afectando al proceso de neutralización, lo que hace más lenta la reacción con el ácido debido al pasivado (Logan *et al.* 2007; Roberto. 2017). También es importante comprender los mecanismos de precipitación durante la biooxidación en sistemas ácidos que dependen del control del hierro y que se relacionan con la precipitación de especies minerales como la jarosita (Dutrizac y Harris. 1996; Logan *et al.* 2007).

3.6) Objetivos específicos

En función de los resultados obtenidos de los ensayos en batch se propuso diseñar pilas de biolixiviación, con la finalidad de determinar las condiciones óptimas del proceso, sus limitaciones y la posibilidad de escalado y aplicación a nivel industrial.

3.7) Materiales y métodos

La composición de las pilas fue una mezcla homogénea de 85% de mineral y un 15% de perlita. Esta última se utilizó para mejorar y permitir el drenaje de la solución de riego en las pilas. En la superficie de las pilas se agregó, en relación con el mineral utilizado, un 5%

de azufre molido, con la finalidad de incrementar la fuente de energía disponible de las bacterias oxidantes del azufre inoculadas. El azufre no se integró a la mezcla, ya que se han observado mejores resultados de lixiviación cuando se encuentra disperso en la superficie (Porzionato *et al.* 2016). Esto puede deberse posiblemente a una mejor transferencia del oxígeno en la superficie, que promueve el crecimiento de microorganismos oxidantes del azufre sobre las partículas de azufre y mejora la producción de ácido (Porzionato *et al.* 2016).

Las pilas fueron inoculadas con la bacteria *At. thiooxidans* aislada del mineral Los Viscos (AT^{Min}). Las condiciones para las pilas y el proceso de riego se basaron y adaptaron de estudios para la recuperación de metales de sedimentos (Porzionato *et al.* 2016).

Las pilas que se prepararon fueron las siguientes:

- 1) Pila con el desecho de matas de cobre (Colas Arcinc).
- 2) Pila con el mineral de Los Viscos.

Las soluciones aplicadas sobre la superficie de las pilas para evaluar el proceso de biolixiviación fueron las siguientes y en este mismo orden: agua destilada, medio 0K y ácido biogenerado. Estas soluciones se aplicaron sobre la misma pila, compuesta con un mineral específico (Los Viscos o Colas Arcinc).

La aplicación de cada solución sobre las pilas duró un poco más de 30 días. El criterio aplicado para el orden de las soluciones utilizadas fue la acidez, desde un pH mayor a uno menor, ya que a un menor pH se favorece tanto el crecimiento de las bacterias como la biolixiviación de los minerales.

Los días en los que se regaban las pilas, el volumen obtenido por el pasaje de la solución en el interior de la pila del último día de riego se llevaba a un volumen final de 50 mL con la solución de riego aplicada en ese momento y luego se reutilizaba para regar la superficie de la pila. La solución de riego de cada pila era recolectada en un vaso de precipitado en donde se realizaban las mediciones de pH y conductividad todos los días de riego. Además, se extraían 5 mL de la solución para medir los metales lixiviados.

Una vez finalizado el riego con agua destilada, las pilas se reinocularon con AT^{Min} en medio 0K (pH del medio: 1,41) y empezó a regarse con el medio de cultivo 0K estéril, llevando el volumen final a 50 mL. Luego, después de unos 30 días aproximadamente, las pilas comenzaron a regarse con ácido biogenerado (0.08M).

Los soportes de las pilas estaban constituidos por botellas plásticas PET, recortadas en su base. En la boca de las botellas se pegó y agrego la estructura plástica de una cápsula de café con su filtro (figura 27.1), ambos previamente lavados, cuya función era permitir un goteo controlado del líquido de riego para ser recolectado en los vasos de precipitado (figura 27.2). Se midieron las dimensiones de los soportes de las pilas (Tabla XIV) y se calculó el tiempo que tardaban en filtrar todas las soluciones en las pilas, siendo el tiempo promedio 45 minutos para los 50 mL de volumen final.



Figura 27.1. Cápsulas de café y filtros lavados utilizados para formar los soportes de las pilas

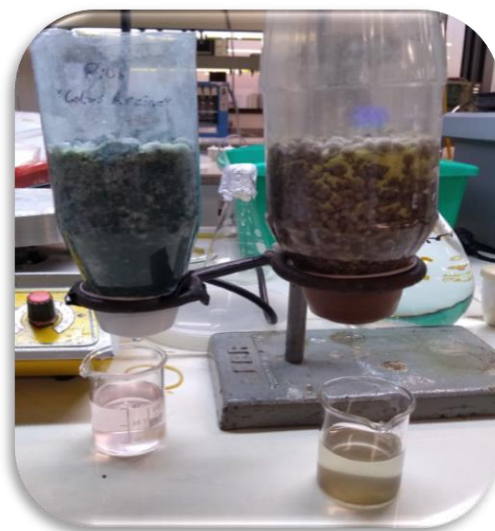


Figura 27.2. Pilas de lixiviación. A la izquierda se observa la pila con las matas de cobre. A concentraciones crecientes de los metales en la solución, se empezó a observar la formación de cristales blancos rectangulares. A la derecha se observa la pila con el mineral Los Viscos. A medida que aumentaba la concentración de los metales disueltos, se empezó a formar un sedimento de color marrón en el fondo del vaso

Tabla XIV. Dimensiones de las pilas de lixiviación utilizadas

Dimensiones de la pila	
Pila Arcinc	Pila Viscos
Largo: 7 cm	Largo: 7,5 cm
Ancho: 6,5 cm	Ancho: 7 cm
Alto: 17,5 cm	Alto: 18,5 cm
Contenido de mineral: 13 cm alto	Contenido de mineral: 12 cm de alto.
Medidas de la cápsula de café: largo 5,3 cm, ancho 5,3 cm y alto 3,5 cm.	

3.7.1) Conductividad, pH y cuantificación de metales

Se analizó el pH y la conductividad de todas las muestras, previamente a la extracción de los 5 mL para la determinación de los metales en solución. El volumen extraído para la determinación de los metales fue centrifugado para obtener el sobrenadante y posteriormente acidificado con 3 gotas de ácido nítrico (0.5 M).

Se determinaron las concentraciones de Cu y Fe de las muestras obtenidas de ambas pilas por espectrofotometría de absorción atómica (AA) en UADELabs.

Además, se fraccionaron algunas de las muestras y se enviaron a AySA para analizar diversos metales de interés por Espectroscopia Atómica ICP-OES. Estos ensayos fueron realizados para validar y complementar los datos obtenidos.

Las muestras que superaban el valor máximo de la curva de cuantificación para los distintos metales fueron diluidas con ácido nítrico (0.5 M).

3.7.2) Pila de lixiviación con el mineral de Los Viscos

Se preparó la pila de lixiviación (figura 28.1 y 28.2) con 150 gr del mineral de Los Viscos y 26 gr de perlita mezclados homogéneamente. Se agregaron 7,5 gr de azufre en la superficie de la pila y se inoculó con 50 mL de AT^{Min} cultivadas en medio OK. La solución utilizada para inocular tenía un pH inicial de 1,53. Luego de 2 horas se agregaron 50 mL de agua desionizada con un pH de 4,73. La duración total del experimento fue de 104 días.



Figura 28.1. Pila con el mineral Los Viscos y solución lixiviada en el vaso de precipitado



Figura 28.2. Pila con el mineral Los Viscos. En la parte superior del mineral mezclado con la perlita se observa el azufre molido

3.7.3) Pila de lixiviación con las matas de cobre

Se preparó la pila de lixiviación (figura 29.1 y 29.2) con 150 gr del desecho de matas de cobre y 24 gr de perlita mezclados homogéneamente. Se agregaron 7,5 gr de azufre en la superficie de la pila y se inoculó con 50 mL de AT^{Min} cultivadas en medio 0K. La solución utilizada para inocular tenía un pH inicial de 1,47. Luego de 2 horas se agregaron 50 mL de agua desionizada con un pH de 3,97 y luego otros 50 mL, ya que con el primer riego no se observó la salida de la solución desde el interior de la pila. La duración del experimento fue de 118 días.



Figura 29.1. Pila de lixiviación con el desecho de matas de cobre vertiendo la solución lixivante sobre el vaso de precipitado



Figura 29.2. Pila de lixiviación con el desecho de matas de cobre (vista superior)

3.8) Resultados y discusión

3.8.1) Pila de lixiviación con el mineral de Los Viscos

Resultados

A continuación, puede observarse para las distintas condiciones de riego en la pila, la cinética de la conductividad (figura 30.1) y del pH (figura 30.2). Luego se observan los gráficos de solubilización de los metales cobre (figura 31.1) y hierro (figura 31.2). Se observaron resultados y comportamientos esperados para el pH y la conductividad.

El agua destilada utilizada contenía en promedio un pH de 5,5 y una conductividad de 1,44 μ S. Cuando se utilizó el agua destilada para regar la pila se generó una leve variación en la conductividad de la muestra (valor inicial 3,20 mS y valor final 2,87 mS). En cuanto al pH se observa un aumento en los primeros días (valor inicial 6,97 hasta 7,74), con un posterior descenso a 6,28 y un valor final de 6,87. En esta etapa no se observó una recuperación de cobre, ni de hierro.

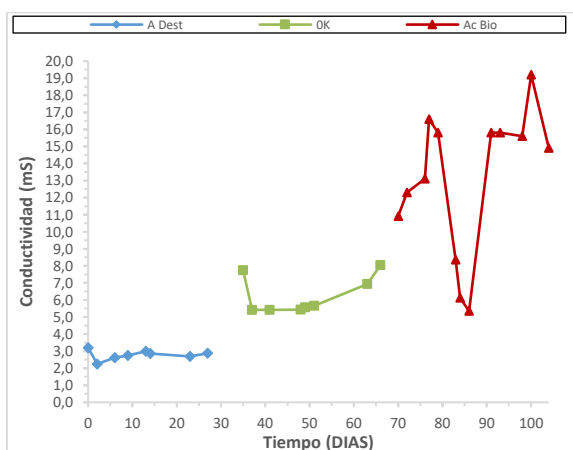


Figura 30.1. Gráficos de conductividad con el mineral Los Viscos. Las líneas en azul corresponden al tratamiento con agua destilada, las líneas en verde al tratamiento con medio OK y las líneas en rojo al tratamiento final con ácido biogenerado.

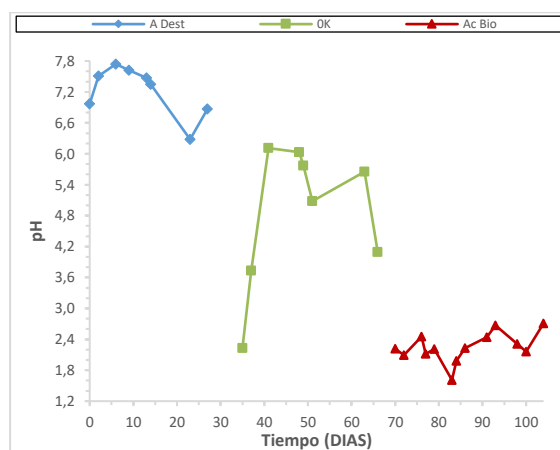


Figura 30.2. Gráficos de pH con el mineral Los Viscos. Las líneas en azul corresponden al tratamiento con agua destilada, las líneas en verde al tratamiento con medio OK y las líneas en rojo al tratamiento final con ácido biogenerado.

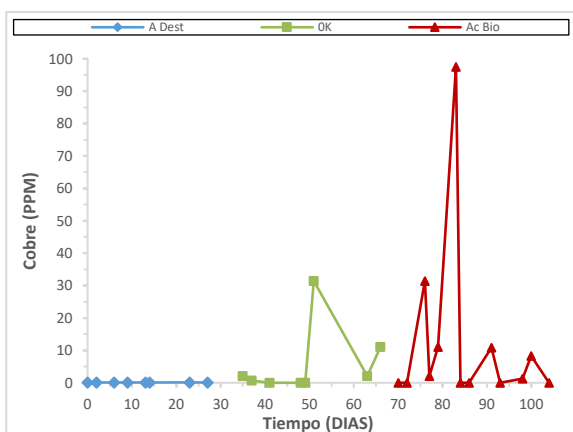


Figura 31.1. Gráficos de cobre lixiviado con el mineral Los Viscos. Las líneas en azul corresponden al tratamiento con agua destilada, las líneas en verde al tratamiento con medio OK y las líneas en rojo al tratamiento final con ácido biogenerado.

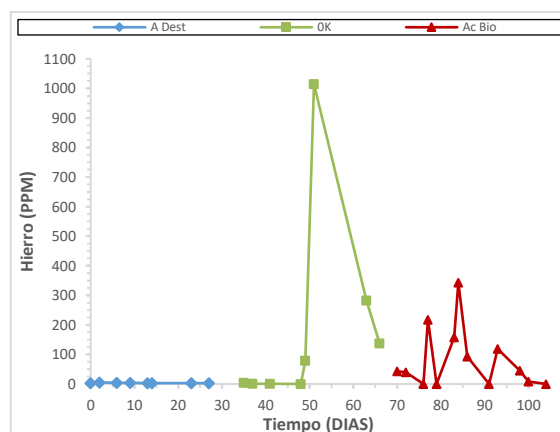


Figura 31.2. Gráficos de hierro lixiviado con el mineral Los Viscos. Las líneas en azul corresponden al tratamiento con agua destilada, las líneas en verde al tratamiento con medio OK y las líneas en rojo al tratamiento final con ácido biogenerado.

Cuando se agregó el medio de cultivo 0K (pH 3 y conductividad 4,78 mS), se observó un descenso brusco del pH a un valor de 2,23, que posteriormente subió al valor de 6,03 y volvió a descender a un valor final de 4,09. En cuanto a la conductividad se registró un ascenso a un valor de 7,73 mS que luego descendió levemente hasta 5,43 mS y que finalmente terminó en 8,04 mS. En esta etapa se observó la lixiviación de cobre (valor máximo: 31,4 mg/L) y hierro (valor máximo: 1014 mg/L), probablemente por el pH ácido del medio de cultivo, por la reinoculación de la pila y al posterior crecimiento de las bacterias.

En la última etapa, con el agregado del ácido biogenerado (pH 1,3 y conductividad de 33,2 mS), se volvió a observar un descenso brusco del pH a un valor de 2,22 que posteriormente osciló entre 1,61 y 2,71. En cuanto a la conductividad se produjo un aumento al inicio, con un valor de 10,91 mS que luego ascendió hasta 15,80 mS, descendió a 5,35 mS y volvió a aumentar hasta 14,90 mS. La recuperación máxima de Cu en esta etapa fue de 97,5 mg/L y para el Fe de 218 mg/L.

Se observan diferencias en la recuperación de otros metales de interés lixiviados que fueron analizados para las 3 condiciones. Los menores rendimientos se obtuvieron con el agua destilada y los mayores rendimientos con el ácido biogenerado. Algunos de los metales de interés que se recuperaron y sus mejores rendimientos son: Ag (25 mg/L <); Co (10 mg/L <); Mn (20 mg/L <); Pb (21,5 mg/L) y Zn (50 mg/L <) (Ver anexo II).

Discusión de los resultados

Los valores de pH obtenidos de la solución recuperada fueron superiores a 6 cuando se regó con agua destilada. Si bien se observa cierta recuperación de Co, Mn y Zn, utilizando agua destilada como solución lixivante, se recomienda utilizar una solución cuyo pH sea ácido, que promueva la disolución de los metales por efecto de los H⁺ y que favorezca el crecimiento de las bacterias que generan ácido sulfúrico presentes en el mineral por la oxidación de los sulfuros, cuyo intervalo óptimo de pH para su crecimiento es de 2,0 a 3,5. Además, valores de pH inferiores a 3 favorecen la disolución de la mayoría de los metales y a valores superiores se produce su precipitación, lo que disminuye los rendimientos de los metales biolixiviados.

Cuando se utilizó el medio 0K como solución de riego, se generó una disminución en el pH de la solución recuperada, cuyo valor se aproximó 2,2, pero en los riegos

posteriores su valor permaneció por encima de 3,7. En esta etapa de riego se observó la lixiviación de Ag y una mayor recuperación de Mn y Zn que cuando se utilizó agua destilada.

Finalmente, se utilizó ácido biogenerado como solución lixivante, que al tener una mayor concentración de $[H^+]$ que las demás soluciones de riego generó una mayor disolución del mineral. El pH de la solución obtenida fue menor a 3 en todo momento, lo que favoreció tanto la disolución de diversos metales como el crecimiento óptimo de las bacterias. En esta etapa se obtuvo la mayor recuperación de Ag, Cu, Mn, Pb y Zn.

En cuanto a los valores de conductividad obtenidos durante las distintas etapas de riego, se observa su aumento a medida que se favoreció la lixiviación de los metales presentes en el mineral, obteniéndose los valores más bajos para el agua destilada, intermedios para el medio 0K y los más altos para el ácido biogenerado.

3.8.2) Pila de lixiviación con las matas de cobre

Resultados

A continuación, para las distintas condiciones de riego en la pila puede observarse la cinética de la conductividad (figura 32.1) y del pH (figura 32.2). Luego se observan los gráficos de solubilización de los metales cobre (figura 33.1) y hierro (figura 33.2). Se observaron resultados y comportamientos esperados para el pH y la conductividad.

El agua destilada generó una variación significativa en la conductividad de la muestra (valor inicial 15,80 mS y valor final 9,02 mS). En cuanto al pH se observó un descenso en el primer día (valor inicial 5,03) con un posterior ascenso a 6,32 y un pequeño descenso a un valor final de 6,01. En esta etapa no se observó la recuperación de hierro, pero sí una leve recuperación de cobre, con un valor máximo de 51,5 mg/L.

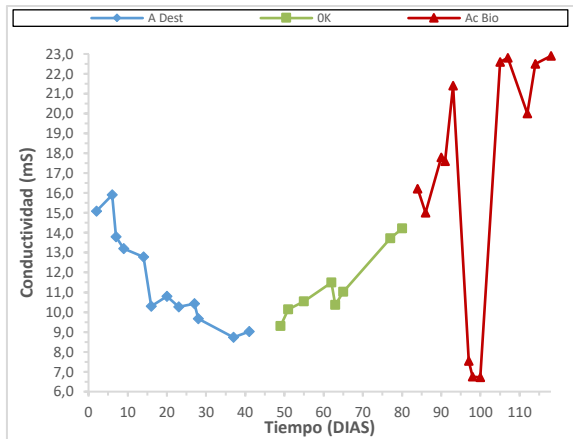


Figura 32.1. Gráfico de conductividad con el desecho de matas de cobre. Las líneas en azul corresponden al tratamiento con agua destilada, las líneas en verde al tratamiento con medio OK y las líneas en rojo al tratamiento final con ácido biogenerado.

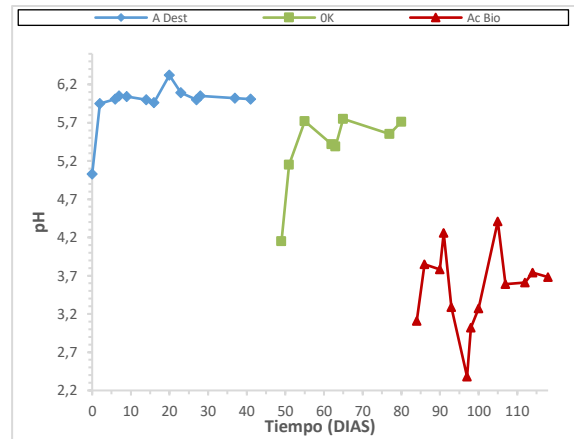


Figura 32.2. Gráfico de pH con el desecho de matas de cobre. Las líneas en azul corresponden al tratamiento con agua destilada, las líneas en verde al tratamiento con medio OK y las líneas en rojo al tratamiento final con ácido biogenerado.

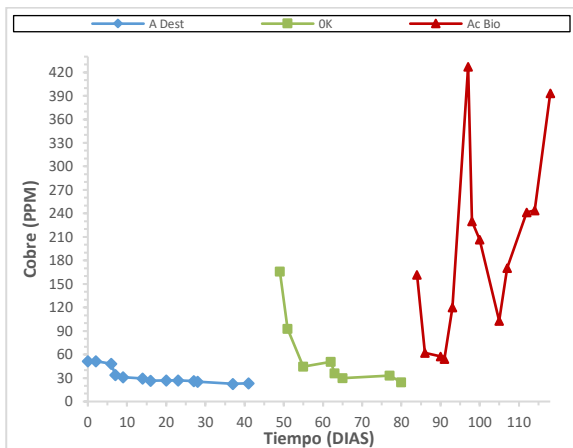


Figura 33.1. Gráfico de cobre lixiviado con el desecho de matas de cobre. Las líneas en azul corresponden al tratamiento con agua destilada, las líneas en verde al tratamiento con medio OK y las líneas en rojo al tratamiento final con ácido biogenerado.

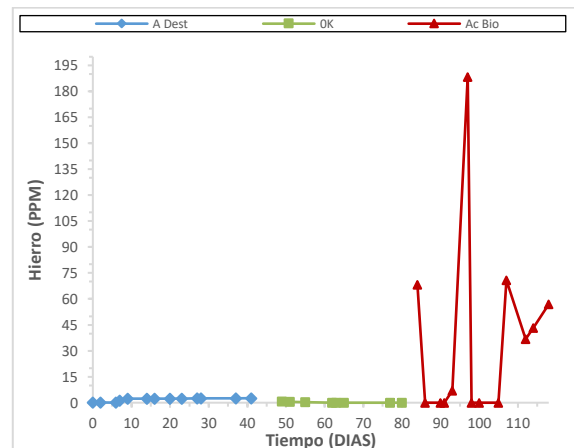


Figura 33.2. Gráfico de hierro lixiviado con el desecho de matas de cobre. Las líneas en azul corresponden al tratamiento con agua destilada, las líneas en verde al tratamiento con medio OK y las líneas en rojo al tratamiento final con ácido biogenerado.

Cuando se regó la pila con el medio de cultivo OK, se observó un descenso del pH a un valor de 4,15 que posteriormente fue ascendiendo y oscilando hasta un valor final de 5,71. En cuanto a la conductividad se observó un ascenso hasta un valor final de 14,21 mS. En esta etapa se observó la lixiviación de cobre (valor máximo: 166 mg/L) probablemente por el pH ácido del medio de cultivo y el posterior crecimiento de las bacterias inoculadas en la pila, pero no hubo una lixiviación significativa del hierro (valor máximo: 0,68 mg/L).

En la última etapa, con el agregado del ácido biogenerado se observó un descenso brusco del pH a un valor de 3,11, que posteriormente varió entre 4,41 y 2,38. En cuanto a la conductividad se produjo un aumento al inicio, a un valor de 16,22 mS que luego ascendió hasta 21,40 mS, descendió a 6,72 mS y finalizó en 22,90 mS. En esta etapa, la recuperación de Cu y Fe fue la mayor, con un valor de 427 mg/L para el Cu y un valor de 188 mg/L para el Fe.

En las 3 condiciones de riego se observan diferencias en la recuperación de los distintos metales de interés analizados por Espectroscopia Atómica ICP-OES, obteniendo los menores rendimientos para el agua destilada, y los mayores rendimientos para el ácido biogenerado. Algunos de los metales de interés que se recuperaron con sus mejores rendimientos son: Ag (25 mg/L <); Co (10 mg/L <); Mn (20 mg/L <); Ni (71,2 mg/L) Pb (30 mg/L <) y Zn (50 mg/L <) (Ver anexo II).

Para el caso del cobalto se predijo su presencia en el mineral desde el comienzo del riego con agua destilada, debido a la coloración rosada que adquirió la solución recuperada de la pila durante proceso de lixiviación, asociada a sales de cobalto. Esto se confirmó con los resultados de espectroscopia atómica, en donde los valores iniciales de Co superaban la concentración de 10 mg/L.

Discusión de los resultados

Los valores de pH obtenidos de la solución recuperada fueron superiores a 5 cuando se regó con agua destilada. Si bien se observa cierta recuperación de Co, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn, utilizando agua destilada como solución lixivante, se recomienda utilizar una solución cuyo pH sea ácido, como se mencionó anteriormente en la conclusión de la pila con el mineral de Los Viscos.

Cuando se utilizó el medio 0K como solución de riego, se generó una disminución en el pH de la solución recuperada, cuyo valor se aproximó 4,2, pero en los riegos posteriores su valor permaneció por encima de 5,2. En esta etapa de riego se observó la lixiviación de Ag y una mayor recuperación de Cu y Pb que cuando se utilizó agua destilada.

Finalmente, se utilizó ácido biogenerado como solución lixivante, que generó una mayor disolución del mineral. El pH de la solución obtenida se mantuvo dentro del intervalo

2,4 a 4,4, lo que favoreció tanto la disolución de diversos metales como el crecimiento óptimo de las bacterias. En esta etapa se obtuvo la mayor recuperación de Ag, Cu, Pb y Zn.

En cuanto a los valores de conductividad obtenidos durante las distintas etapas de riego, se observa su aumento a medida que se favoreció la lixiviación de los metales presentes en el mineral, obteniéndose los valores más bajos para el agua destilada, intermedios para el medio 0K y los más altos para el ácido biogenerado.

3.9) Conclusiones generales de la biolixiviación en pilas

La aplicación de la cepa AT^{Min} en los ensayos de biolixiviación en pilas género buenos resultados para ambos minerales estudiados. Para el caso de la pila con el mineral de Los Viscos, los mayores rendimientos se obtuvieron con el riego de ácido biogenerado. Los metales de interés recuperados durante las distintas etapas de riego fueron: Ag; Co; Cu; Mn; Pb y Zn. Para el caso de la pila con las matas de cobre, los mayores rendimientos también fueron con el ácido biogenerado mientras que los metales de interés recuperados durante las distintas etapas de riego fueron: Ag; Co; Cu; Mn; Ni; Pb; y Zn.

Si bien los ensayos con las pilas de lixiviación finalizaron aproximadamente a los 35 días de que se regaran con la solución de ácido biogenerado, se observa que aún bajo estas condiciones se siguen lixivando los minerales. Bajo las condiciones estudiadas podría evaluarse en un futuro cual es el tiempo total requerido para lixiviar la mayor cantidad de los metales de interés comercial, utilizando los minerales estudiados previamente inoculados y aplicando únicamente la solución de ácido biogenerado, que es la que mejor resultados género.

Una posible mejora para favorecer el proceso y la lixiviación es que las cepas bacterianas aisladas se cultiven, acondicionen y adapten durante periodos de tiempos prolongados a los minerales utilizados y a las condiciones de ensayo. Esto evitaría el bajo rendimiento del proceso, la inhibición del crecimiento bacteriano debido a la obtención de cepas más resistentes a los metales liberados y disminuiría el tiempo total del proceso.

Otras posibles mejoras que podrían aplicarse y evaluarse para optimizar el proceso y avanzar sobre su potencial aplicación a nivel industrial, son: control de la temperatura interna de la pila para favorecer el crecimiento bacteriano, volumen y frecuencia del riego, proporción de mineral-perlita-azufre utilizado y aplicación de un método de aireación para favorecer tanto el crecimiento como la lixiviación del mineral.

Capítulo 4

Conclusiones y perspectivas de trabajo futuro

4.1) Conclusiones generales y alcance

El biorreactor con agitación vertical y burbujeo de aire esterilizado alcanzó para producir el ácido biogenerado (0.08M) utilizado en todos los ensayos de biolixiviación y su aplicación generó buenos resultados en la obtención de distintos metales de interés, tanto en los ensayos de batch agitados, como en las pilas de lixiviación. Podrían evaluarse nuevas condiciones de cultivo más eficientes con las cepas *At. thiooxidans* para generar un ácido biogenerado de mayor concentración que genere mejores resultados en la lixiviación de los minerales.

De los resultados obtenidos en las cinéticas de crecimiento en batch bajo condiciones de crecimiento óptimas se concluye que tanto la cepa AT^{Min} aislada del mineral Los Viscos, como la cepa AF^{Min} aislada presentan un comportamiento similar a las cepas de referencia brindadas por el SEGEMAR, que se utilizaron para comparar resultados. También se concluye de los ensayos en batch realizados que tanto la cepa AT^{Min} como AF^{Min} son adecuadas para lixiviar el mineral metálico de Los Viscos, obteniéndose buenos rendimientos de metales con valor comercial como: Ag (40 mg/L <); Mn (20 mg/L <) y Zn (9,5 mg/L).

En los ensayos de biolixiviación en pilas realizados se observa que la cepa AT^{Min} aislada del mineral Los Viscos es apta para su aplicación en biominería, ya que se observó la recuperación de distintos metales con valor comercial como: Ag, Co, Cu, Ni, Mn, Pb y Zn. Para la pila con el mineral de Los Viscos, los mejores rendimientos fueron los siguientes: Ag (25 mg/L <); Co (10 mg/L <); Cu (97,5 mg/L); Mn (20 mg/L <); Pb (21,5 mg/L) y Zn (50 mg/L <). Para la pila con las matas de cobre (Colas Arcinc), los mejores rendimientos fueron los siguientes: Ag (25 mg/L <); Co (10 mg/L <); Cu (427 mg/L); Mn (20 mg/L <); Ni (71,2 mg/L) Pb (30 mg/L <) y Zn (50 mg/L <).

Para las condiciones aplicadas en las pilas de lixiviación podría evaluarse en un futuro cual es el tiempo total requerido para lixiviar la mayor cantidad de mineral previamente inoculado y aplicando únicamente la solución de ácido biogenerado, que obtuvo los mejores resultados en la recuperación de metales de valor comercial.

Es necesario profundizar los estudios con la cepa AF^{Min} y evaluar su aplicación en el proceso de lixiviación con pilas, utilizando el mineral de Los Viscos, las matas de cobre y otros minerales de interés.

Una posible mejora para favorecer el proceso y la lixiviación es que las cepas bacterianas aisladas se cultiven, acondicionen y adapten durante periodos de tiempo prolongados a los minerales utilizados y a las condiciones de ensayo. Esto evitaría el bajo rendimiento del proceso, la inhibición del crecimiento bacteriano debido a la obtención de cepas más resistentes a los metales liberados y, por lo tanto, disminuiría el tiempo total del proceso.

Otras posibles mejoras que podrían aplicarse y evaluarse para optimizar el proceso e intentar su posible aplicación a nivel industrial, son: control de la temperatura interna de la pila para favorecer el crecimiento bacteriano, volumen y frecuencia del riego, proporción de mineral-perlita-azufre utilizado y aplicación de un método de aireación para favorecer tanto el crecimiento como la lixiviación del mineral.

Para obtener mejores rendimientos en la extracción de metales utilizando diversos minerales, podría evaluarse el aislamiento de nuevas cepas bacterianas mesófilas nativas más eficientes o consorcios bacterianos que sean más aptos en las condiciones de ensayo estudiadas y que favorezcan tanto la lixiviación de los minerales como el crecimiento bacteriano. También podrían realizarse estudios metagenómicos de los consorcios bacterianos obtenidos durante el proceso de biolixiviación para evaluar su comportamiento.

A los residuos obtenidos del mineral Los Viscos una vez finalizados los experimentos de biolixiviación se les podría aplicar el proceso de cianuración y evaluar si la liberación del oro ocluido por el proceso de biooxidación aplicado fue eficiente. La recuperación del oro debería ser superior al 40%, que es lo obtenido por la lixiviación química convencional y debería ser cercana al 70%, lo que generalmente se obtiene por el proceso de biooxidación.

Finalmente, de los ensayos realizados y resultados obtenidos se concluye que es posible aplicar a nivel industrial la biolixiviación en pilas con los minerales estudiados y la cepa de *At. thiooxidans* aislada del mineral Los Viscos, pero se recomienda determinar y establecer criterios de diseño y parámetros óptimos de pH, temperatura, tamaño del mineral y accesibilidad dentro de la pila, para lograr el mayor rendimiento y que el proceso sea rentable para la biominería.

Referencias

ABREGÚ, Blanca Argentina, et al. XIV Jornadas Argentinas de Tratamiento de Minerales. 1a ed. Catamarca: Editorial Científica Universitaria de la Universidad Nacional de Catamarca, 2018. ISBN: 978-987-661-290-6. Disponible en:

<http://www.editorial.unca.edu.ar/Publicacione%20on%20line/TRABAJOS%20COMPLETOS%20JATRAMI%202018/JATRAMI/PDF/libro%20completo%20jatrami.pdf>.

ALONSO, R.N; MALANCA, S y SUREDA, R.J. «Consideraciones sobre el Ordovícico en la sierra de Aguilar, Jujuy, Argentina». *Inst Cien Geol Rev.* San Salvador de Jujuy, 1982, 5: p 15-37.

ANTRANIKIAN, Garabed; VORGIAS, Constantinos E. y BERTOLDO, Costanzo. «Extreme Environments as a Resource for Microorganisms and Novel Biocatalysts». *Marine Biotechnology I* [en línea] [consulta 11 jul. 2021]. 2005, p 219–262. DOI: 10.1007/b135786. Disponible en: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/b135786>.

BADILLA, R. «Biotechnology for mining: BioSigma». Presentation at the technological innovation in Codelco symposium. 2005, Santiago, Septiembre 12–13.

BAKER-AUSTIN, C y DOPSON, M. «Life in acid: pH homeostasis in acidophiles». *Trends in Microbiology* [en línea] [consulta 09 dic. 2021]. 2007, 15, p 165–171. DOI: 10.1016/j.tim.2007.02.005. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17331729/>.

BARRET, J; HUGHES, M.N; KARAVAIKO, G.I y SPENCER, G.A. «Metal Extraction by Bacterial Oxidation of Minerals, Ellis Horwood Series in Inorganic Chemistry». 1993 Chichester, 204 p. ISBN: 978-0135777350.

BECKEL, Jorge. «Una innovación tecnológica en la minería cuprífera en Chile». In: Buitelaar RM (ed) Aglomeraciones mineras y desarrollo local en América latina. 2001, CEPAL–NU, Alfaomega, p 107–137. Disponible en: <https://repositorio.cepal.org/handle/11362/1711>.

BELLENBERG, Sören; TURNER, Stephanie; SEIDEL, Laura; VAN WYK, Nathan; ZHANG, Ruichi; SACHPAZIDOU, Varvara; EMBILE, Rodrigo F. Jr; WALDER, Ingar; LEIVISKÄ, Tiina y DOPSON, Mark. «Towards Bioleaching of a Vanadium Containing

Magnetite for Metal Recovery». *Frontiers in Microbiology* [en línea] [consulta 22 dic. 2021]. 2021, 12:693615. DOI: 10.3389/fmicb.2021.693615. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8278310/>.

BERNARDELLI, Cecilia; PLAZA CAZÓN, Josefina del Carmen; URBIETA, María Sofía y DONATI, Edgardo Rubén. «Biominería: Los Microorganismos en la Extracción y Remediación de Metales». // *Revista Asociación Química Argentina; Industria & Química* [en línea] [consulta 24 feb. 2021]. 2017, Num. 368, p 47-56. ISSN: 2591-6718. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/57998>.

BEVILAQUA, D; GARCÍA, O. y TUOVINEN, O.H. «Oxidative dissolution of bornite by *Acidithiobacillus ferrooxidans*». *Process Biochemistry* [en línea] [consulta 17 jun. 2021]. 2010, 45, p 101-106. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2009.08.013>.

BLIGHT, K.R y RALPH, D.E. «Effect of ionic strength on iron oxidation with batch cultures of chemolithotrophic bacteria». *Hydrometallurgy* [en línea] [consulta 29 may. 2021]. 2004, 73(3-4), p 325–334. DOI: 10.1016/j.hydromet.2003.12.006. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304386X04000027>.

BOND, Philip L; DRUSCHEL, Greg K y BANFIELD, Jillian F. «Comparison of acid mine drainage microbial communities in physically and geochemically distinct ecosystems». *Applied and Environmental Microbiology*. 2000, 66:4962–4971. DOI:10.1128/aem.66.11.4962-4971.2000. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC92406/>.

BOON, M; BRASSER, H.J; HANSFORD, G.S y HEIJNEN, J.J. «Comparison of the oxidation kinetics of different pyrites in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans* or *Leptospirillum ferrooxidans*». *Hydrometallurgy*. 1998, 53: p 57–72.

BOSECKER, Klaus. «Bioleaching: metal solubilization by microorganisms». *FEMS Microbiology Reviews* [en línea] [consulta 10 nov. 2021]. 1997, 20(3-4), p 591–604. DOI: 10.1111/j.1574-6976.1997.tb00340.x. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsre/article/20/3-4/591/517205>.

BRANDL, Helmut. «Microbial leaching of metals». In: *Rehm H-J (ed) Biotechnology, vol 10* [en línea] [consulta 22 jul. 2021]. 2001, Wiley-VCH, Weinheim, p 2181–2186. DOI:

10.1002/9783527620999.ch8k. Disponible en:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9783527620999.ch8k>.

BRASSEUR, Gaël; BRUSCELLA, Patrice; BONNEFOY, Violaine y LEMESLE-MEUNIER, Danielle. «The *bc1* complex of the iron-grown acidophilic chemolithotrophic bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans* functions in the reverse but not in the forward direction. Is there a second *bc1* complex?». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics* [en línea] [consulta 04 ago. 2021]. 2002, 1555: p 37–43. DOI: 10.1016/S0005-2728(02)00251-7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005272802002517>.

BRIERLEY, J A. «Biooxidation-heap technology for pretreatment of refractory sulfidic gold ore». 1994. *BIOMINE '94, Application of Biotechnology to the mineral industry*. Australian Mineral Foundation, Adelaide. Chapter 10.

BRIERLEY, J.A; WAN, R.Y; HILL, D.L y LOGAN, T.C. «Heap-biooxidation pretreatment technology for processing lower grade refractory gold ores». 1995. In: Vargas T, Jerez CA, Wiertz, JV, Toledo, H (eds) *Biohydrometallurgical processing*, vol 1. University of Chile, Santiago, p 253–262.

BRIERLEY, C. L. «Mining biotechnology: Research to commercial development and beyond». 1997. In: Rawlings D.E, editor. *Biomining: Theory, microbes, and industrial processes*. Berlin, NY: Springer Verlag. p 3–17.

BRIERLEY, J.A y BRIERLEY C.L. «Present and future commercial applications of biohydrometallurgy». *Hydrometallurgy* [en línea] [consulta 30 jul. 2021]. 2001, 59: p 233–239. ISSN : 0304-386X. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304386X00001626>.

BRIERLEY, C. L. «How will biomining be applied in future?». *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* [en línea] [consulta 18 abr. 2021]. 2008, 18(6), p 1302–1310. DOI: 10.1016/s1003-6326(09)60002-9. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1003632609600029?via%3Dihub>.

BRIGGS, A.P. y MILLARD, M. «Cobalt recovery using bacterial leaching at the Kasese Project». 1997, Uganda, *IBS Biomine '97. Conference Proceedings*, Australian Mineral Foundation, Adelaide. Chapter M2.4.1.

BROADHURST J.L. «The nature and stability of arsenic bearing tailings arising from the BIOX™ gold recovery process». 1992, Genmin Process Research, report no PR 92/20F.

BRODTKORB, M. K, LANFRANCO, J. J y SUREDA, R.J. «Asociaciones minerales y litología del yacimiento Aguilar, provincia de Jujuy, República Argentina». *Assoc Geol Arg Rev.* Buenos Aires, 1978, 33 (4): p 277-298.

BRUYNESTEYN, A y DUNCAN, D.W. «Microbiological leaching of sulphide concentrates». *Canadian Metallurgical Quarterly* [en línea] [consulta 11 sep. 2021]. 1971, 10(1), p 57–63. DOI:10.1179/cm.1971.10.1.57. Disponible en:
<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1179/cm.1971.10.1.57?needAccess=true>.

CALEGARI, Gabriela; ULLOA, Ricardo; GIAVENO, Alejandra y LAVALLE, Laura. «Biooxidación de un mineral moncentrado de oro de Andacollo, Neuquén (Argentina) ». // En *XIV Jornadas Argentinas de Tratamiento de Minerales* [en línea] [consulta 15 may. 2021] / Blanca Argentina Abregú ... [et al.]. - 1a ed . - Catamarca : Editorial Científica Universitaria de la Universidad Nacional de Catamarca, 2018. 635 p. ISBN 978-987-661-290-6. Disponible en:

<http://editorial.unca.edu.ar/Publicacione%20on%20line/TRABAJOS%20COMPLETOS%20JATRAMI%202018/JATRAMI/PDF/1-Calegari.pdf>.

CARDONA, Isabel Cristina y MÁRQUEZ, Marco Antonio. «Biodesulfurization of two Colombian coals with native microorganisms». *Fuel Processing Technology* [en línea] [consulta 08 oct. 2021]. 2009, 90(9), p 1099–1106. DOI:10.1016/j.fuproc.2009.04.022. Disponible en: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-04d12d7c-efac-35fb-abc2d6dd085bc153>.

CARRIZO, Silvina; FORGET, Marie y DENOËL, Mathilde. «Implantaciones mineras y trayectorias territoriales. El noroeste argentino, un nuevo centro extractivo mundial». *Revista de Estudios Sociales* [en línea] [consulta 28 may. 2022]. 2016, 55, p 120-136. Disponible en: <https://revistas.uniandes.edu.co/doi/full/10.7440/res55.2016.08>

CASIOT, C; MORIN, G; JUILLOT, F; BRUNEEL, O; PERSONNÉ, J.-C; LEBLANC, M; DUQUESNE, K; BONNEFOY, V y ELBAZ-POULICHET, F. «Bacterial immobilization and oxidation of arsenic in acid mine drainage (Carnoulès creek, France) ». *Water Research* [en

línea] [consulta 30 jun. 2021]. 2003, 37(12), 2929–2936. DOI:10.1016/s0043-1354(03)00080-0. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135403000800?via%3Dihub>.

COX, John C; NICHOLLS, David G e INGLEDEW, W. John. «Transmembrane electrical potential and transmembrane pH gradient in the acidophile *Thiobacillus ferrooxidans*». *The Biochemical Journal* [en línea] [consulta 02 ago. 2021]. 1979, 178: p 195–200. DOI:

10.1042/bj1780195. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1186496/pdf/biochemj00468-0196.pdf>.

CURUTCHET, G. «Comparación de dos especies del género *Thiobacillus* en la biolixiviación de sulfuros metálicos». Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. 1996.

Disponible en: http://biblio.exactas.unlp.edu.ar/meran/opac-detail.pl?id1=1756#.Yg_er-jMJNw.

DEW, D.W y MILLER, D.M. «The BIONIC process». 1997, IBS Biomine'97 Conference Proceedings, Australian Mineral Foundation, Adelaide, 1997. Chapter M7.1.1.

DEMERGASSO, C.S; GALLEGUILLOS, P.A; ESCUDERO, L.V; ZEPEDA, V.J; CASTILLO, D. y CASAMAYOR, E.O. «Molecular characterization of microbial populations in a low-grade copper ore bioleaching test heap». *Hydrometallurgy* [en línea] [consulta 24 abr. 2021]. 2005, 80(4), p 241–

253. DOI:10.1016/j.hydromet.2005.07.013.10.1016/j.hydromet.2005.07.013. Disponible en: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-53e74251-f06d-3ad1-a9ef-2e2b0ea1c909>.

D'HUGUES, P; CEZAC, P; BATTAGLIA, F y MORIN, D. «Bioleaching of a cobaltiferous pyrite at 20% solids: a continuous laboratory-scale study». 1999. In: AMILS, R y BALLESTER, A, editors. *Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21st century*. Vol. 9A, Amsterdam: Elsevier. p 167–176.

DONATI, E; CURUTCHET, G; POGLIANI, C y TEDESCO P. «Bioleaching of covellite using pure and mixed cultures of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*». *Process Biochemistry* [en línea] [consulta 13 mar. 2021]. 1996, 31, p 129-134. DOI:

10.1016/0032-9592(95)00037-2. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0032959295000372>.

DONG, Bingxu; JIA, Yan; TAN, Qiaoyi; SUN, Heyun y RUAN, Renman. «Contributions of Microbial “Contact Leaching” to Pyrite Oxidation under Different Controlled Redox Potentials».

Minerals [en línea] [consulta 10 dic. 2021]. 2020, 10(10),

856. DOI:10.3390/min10100856. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2075-163X/10/10/856/htm>.

DOMIC, Esteban M. Hidrometalurgia: fundamentos, procesos y aplicaciones. 2001, IIMCh, Santiago, Chile.

DOMIC, Esteban M. Biomining. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 81-95 p. ISBN:

13 987-3-540-34909-9. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.

DOPSON, M y LINDSTROM, E. B. «Potential role of thiobacillus caldus in arsenopyrite bioleaching».

Applied and environmental microbiology [en línea] [consulta 06 ago. 2021]. 1999, 65(1), p 36–40. DOI: 10.1128/AEM.65.1.36-40.1999. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC90979/>.

DOPSON, M; BAKER-AUSTIN, C; KOPPINEEDI, P.R y BOND, P.L. «Growth in sulfidic mineral environments: metal resistance mechanisms in acidophilic micro-organisms».

Microbiology [en línea] [consulta 20 jun. 2021]. 2003, 149: p 1959–1970. DOI:

10.1099/mic.0.26296-0. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.26296-0#tab2>.

DU PLESSIS, Chris A; BATTY, John D. y DEW, David W. Biomining. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 56-80 p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en:

<https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.

DUTRIZAC, J.E y HARRIS, G.B. «Iron control and disposal». 1996. In: Proceedings of the 2nd international symposium on iron control in hydrometallurgy. Ottawa, 20–23 October 1996

EDWARDS, Katrina J; BOND, Philip L; DRUSCHEL, Greg K; McGUIRE, Molly M; HAMERS, Robert J y BANFIELD, Jillian F. «Geochemical and biological aspects of sulfide mineral dissolution: lessons from Iron Mountain, California». *Chemical Geology* [en línea] [consulta 03 sep. 2021], 2000, 169, p 383–397. ISSN: 0009-2541. Disponible en: <http://www.uvm.edu/~gdrusche/papers/Edwards%20et%20al.,%202000%20CG%20-%20Iron%20Mountain.pdf>.

EDGAR, Graham. «Conductivity measurements upon oxidation-reduction reactions». *Journal of the American Chemical Society* [en línea] [consulta 18 oct. 2021]. 1917, 39(5), p 914–928. DOI:10.1021/ja02250a007. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja02250a007>.

EHLICH, Henry Lutz y ROSSI G. Other bioleaching processes. In: Ehrlich, Henry Lutz, Brierley, Corale L, editors. *Microbial mineral recovery*. New York, 1990, McGraw-Hill. p 149–170. ISBN: 978-0070077812. Disponible en: <https://www.osti.gov/biblio/5887487>.

EHLICH, Henry Lutz y NEWMAN, Dianne K. *Geomicrobiology*. 5a. ed. USA, Boca Raton, CRC Press. 2009, p. 630. DOI: <https://doi.org/10.1201/9780849379079>.

ELBEHTI, A; BRASSEUR, G y LEMESLE-MEUNIER, D. «First Evidence for Existence of an Uphill Electron Transfer through the *bc*₁ and NADH-Q Oxidoreductase Complexes of the Acidophilic Obligate Chemolithotrophic Ferrous Ion-Oxidizing Bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*». *Journal of Bacteriology* [en línea] [consulta 23 jul. 2021]. 2000, 182(12), p 3602–3606. DOI:10.1128/jb.182.12.3602-3606.2000. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JB.182.12.3602-3606.2000->.

EQUEENUDDIN S.M; TRIPATHY S; SAHOO P.K y PANIGRAHI M.K. «Hydrogeochemical characteristics of acid mine drainage and water pollution at Makum Coalfield, India». *Journal of Geochemical Exploration* [en línea] [consulta 31 oct. 2021]. 2010, 105(3): p 75–82. DOI:10.1016/j.gexplo.2010.04.006. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0375674210000634>.

FALCO, L; POGLIANI, C; CURUTCHET, G y DONATI, E. «A comparison of bioleaching of covellite using pure cultures of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* or a mixed culture of *Leptospirillum ferrooxidans* and *Acidithiobacillus*

thiooxidans». *Hydrometallurgy* [en línea] [consulta 26 feb. 2021]. 2003, 71, p 31-36.
 DOI:10.1016/S0304-386X(03)00170-1.

FERRER, Manuel; GOLYSHINA, Olga; BELOQUI, Ana y GOLYSHIN, Peter N. «Mining enzymes from extreme environments». *Current Opinion in Microbiology* [en línea] [consulta 16 may. 2021]. 2007, 10(3), p 207–214. DOI:10.1016/j.mib.2007.05.004. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527407000513?via%3Dihub>.

FOGLIATA, Ana S. y HAGEMANN, Steffen G. «Gold Systems in Argentina: Diversity in Types, Times and Space». *Society for Geology Applied to Mineral Deposits* [en línea] [consulta 12 mar. 2021]. 2010, Number 28, Antofagasta. Disponible en: <https://e-sga.org/fileadmin/sga/newsletter/news28/SGANews28.pdf>.

FRANZMANN, P. D; HADDAD, C. M; HAWKES, R. B; ROBERTSON, W. J y PLUMB, J. J. «Effects of temperature on the rates of iron and sulfur oxidation by selected bioleaching Bacteria and Archaea: Application of the Ratkowsky equation». *Minerals Engineering* [en línea] [consulta 07 dic. 2021]. 2005, 18(13-14), p 1304–1314. DOI:10.1016/j.mineng.2005.04.006. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S089268750500141X>.

FRIEDRICH, C.G; BARDISCHEWSKY, F; ROTHER, D; QUENTMEIER, A y FISCHER, J. «Prokaryotic sulfur oxidation». *Current Opinion in Microbiology* [en línea] [consulta 21 abr. 2021]. 2005, 8: p 253–259. DOI: 10.1016/j.mib.2005.04.005. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527405000445?via%3Dihub>.

FUCHS, T; HUBER, H; TEINER, K; BURGGRAF, S y STETTER K.O. «Metallosphaera prunae, sp. nov., a novel metal-mobilising, thermacidophilic Archaeum, isolated from a uranium mine in Germany». *Systematic and Applied Microbiology* [en línea] [consulta 08 may. 2021]. 1995, 18: p 560–566. DOI:10.1016/s0723-2020(11)80416-9. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80416-9](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80416-9).

GARRELS, R.M y THOMPSON, M.E. «Oxidation of pyrite by iron sulfate solutions». *American Journal of Science* [en línea] [consulta 19 oct. 2021]. 1960, 258-A: p 57-67. Disponible en: http://earth.geology.yale.edu/~ajs/1960/ajs_258A_11.pdf/57.pdf.

GATTI, Marcela; MILOCCO, R.H. y GIAVENO, María Alejandra. «Modeling the bacterial oxidation of ferrous iron with *Acidithiobacillus ferrooxidans* using kriging interpolation». *Hydrometallurgy* [en línea] [consulta 15 abr. 2021]. 2003, 71, p 89-96. DOI:10.1016/S0304-386X(03)00177-4. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/222254733_Modeling_the_bacterial_oxidation_of_ferrous_iron_with_Acidithiobacillus_ferrooxidans_using_kriging_interpolation.

GENTINA, Juan Carlos y ACEVEDO, Fernando. «Application of bioleaching to copper mining in Chile». *Electronic Journal of Biotechnology*. 2013, 16(3). DOI:10.2225/vol16-issue3-fulltext-12. Disponible en:

https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-34582013000300016.

GEMMELL, J. Bruce; ZANTOP, Half y MEINERT, Lawrence. D. «Genesis of the Aguilar Zinc-LeadSilver deposit, Argentina: Contact metasomatic vs sedimentary exhalative». *Economic Geology* [en línea] [consulta 19 abr. 2021]. 1992, 87-8, p.2085-2112. DOI: doi.org/10.2113/gsecongeo.87.8.2085. Disponible en:

<https://doi.org/10.2113/gsecongeo.87.8.2085>.

GERICKE, M; PINCHES, A y VAN ROOYEN, J.V. «Bioleaching of a chalcopyrite concentrate using an extremely thermophilic culture». *International Journal of Mineral Processing* [en línea] [consulta 14 oct. 2021]. 2001, 62: p 243–255. DOI: 10.1016/S0301-7516(00)00056-9. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301751600000569>.

GHORBANI, Y; FRANZIDIS, J.P y PETERSEN, J. «Heap leaching technology – current state, innovations and future directions: A review». *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review* [en línea] [consulta 30 may. 2022]. 2015.

DOI:10.1080/08827508.2015.1115990. Disponible en:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08827508.2015.1115990>.

GIAVENO, A y DONATI, E. «Bioleaching of heazlewoodite by *Thiobacillus* spp». *Process Biochemistry* [en línea] [consulta 27 mar. 2021]. 2001, 36, p 955-962. DOI: 10.1016/S0032-9592(01)00138-8. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0032959201001388>.

GIAVENO FILIPPA, María Alejandra. «Biolixiviación y biooxidación de minerales utilizando cepas nativas con capacidad termofílica». *Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de La Plata* [en línea] [consulta 14 mar. 2021]. 2010, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/2699>.

GÓMEZ, E; BLÁZQUEZ, M.L; BALLESTER, A y GONZÁLEZ F. «Study by SEM and EDS of chalcopyrite bioleaching using a new thermophilic bacteria». *Minerals Engineering* [en línea] [consulta 16 abr. 2021]. 1996, 9: p 985–999. DOI: 10.1016/0892-6875(96)00089-1. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0892687596000891>.

GÓMEZ LENDE, Sebastián. «Minería metalífera en la provincia de Jujuy, Argentina: Una historia de acumulación por desposesión (1933-2016)». *Revista de Estudios Sociales Contemporáneos* [en línea] [consulta 07 may. 2021]. 2016, N° 15, IMESC-IDEHESI/Conicet, Universidad Nacional De Cuyo, p 34-59. ISSN: 1850-6747. Disponible en: <https://bdigital.uncu.edu.ar/8952>.

GÓMEZ LENDE, Sebastián. «Minería metalífera y acumulación por desposesión en Argentina: Categorías de análisis y ejemplos empíricos». Universidad Nacional de San Juan. Facultad de Ciencias Sociales. Instituto de Investigaciones Socio-Económicas; *RevIISE* [en línea] [consulta 06 may. 2021]; 2018, 10; 10; p 219-241. ISSN: 2250-5555. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/37028>.

GUTIÉRREZ, Adolfo. A; CHONG D., Guillermo. y ESPINOZA R. Sergio. «Niveles de exposición de yacimientos del distrito minero Agua de Dionisio (YMAD), Catamarca». *Revista de la Asociación Geológica Argentina* [en línea] [consulta 13 may. 2021]. 2006, 61: p 269-278. ISSN: 0004-4822. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0004-48222006000200010&script=sci_abstract&lng=pt.

HALLBERG, Kevin B. y JOHNSON, D. Barrie. «Biodiversity of acidophilic prokaryotes». *Advances in Applied Microbiology* [en línea] [consulta 01 jun. 2021]. 2001, 49: p 37–84. DOI: 10.1016/s0065-2164(01)49009-5. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065216401490095>.

- HALLBERG, Kevin B. «New perspectives in acid mine drainage microbiology». *Hydrometallurgy* [en línea] [consulta 14 ago. 2021]. 2010, 104(3-4), p 448–453. DOI:10.1016/j.hydromet.2009.12.01. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304386X10001593?via%3Dihub>.
- HARVEY, Todd J. y BATH, Murray. *Biomining*. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 96-112 p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en:
<https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.
- HOLMES, David S. y BONNEFOY, Violaine. *Biomining*. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 281-307 p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en:
<https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.
- HO LOCK, Delia. «Introducción a la Biometalurgia». // *Revista De Química* [en línea] [consulta 28 feb. 2021]. 2004, Vol. 18, Num. 1, p 19-22. Disponible en:
<https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/18690>.
- HSU, Cheng-Hsien y HARRISON, Roger G. «Bacterial leaching of zinc and copper from mining wastes». *Hydrometallurgy* [en línea] [consulta 17 sep. 2021]. 1995, 37: p 169–179. DOI: 10.1016/0304-386X(94)00051-4. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0304386X94000514>.
- HUBER, H y STETTER, K.O. «Thiobacillus prosperus sp. nov., represents a new group of halotolerant metal-mobilizing bacteria isolated from a marine geothermal field». *Archives of Microbiology* [en línea] [consulta 05 ago. 2021]. 1989, 151, p 479–485. DOI:10.1007/bf00454862. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/BF00454862>.
- JAIN, Nalini y SHARMA, Durlubh. K. «Biohydrometallurgy for Nonsulfidic Minerals—A Review». *Geomicrobiology Journal* [en línea] [consulta 03 dic. 2021]. 2004, 21(3), p 135–144. DOI:10.1080/01490450490275271. Disponible en:
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01490450490275271>.
- JIA, Baolei; CHEONG, Gang-Won y ZHANG, Shihong. «Multifunctional enzymes in archaea: promiscuity and moonlight». *Extremophiles* [en línea] [consulta 17 jul. 2021]. 2013, 17(2), p 193–203. DOI:10.1007/s00792-012-0509-1. Disponible en:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00792-012-0509-1>.

JOHNSON, D.B y ROBERTO, F.F. «Heterotrophic acidophiles and their roles in bioleaching of sulfide minerals». 1997. In: RAWLINGS, D.E (ed) *Biomining*. Springer, Berlin Heidelberg New York, p 259–279. DOI:10.1007/978-3-662-06111-4_13.

JOHNSON, D. Barrie. «Biodiversity and ecology of acidophilic microorganisms». *FEMS Microbiology Ecology* [en línea] [consulta 13 ago. 2021]. 1998, Rev 27: p 307–317. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1998.tb00547.x>. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsec/article/27/4/307/484491>.

JOHNSON, D. Barrie y HALLBERG, Kevin B. «Acid mine drainage remediation options: a review». *Science of the Total Environment* [en línea] [consulta 20 may. 2021]. 2005, 338(1–2): p 3–14. DOI:10.1016/j.scitotenv.2004.09.002. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969704006199>.

JOHNSON, D. Barrie y HALLBERG, Kevin B. *Biomining*. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 237-262 p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.

JOHNSON, D. Barrie. «Biomining—biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials». *Current Opinion in Biotechnology* [en línea] [consulta 27 abr. 2021]. 2014, 30, p 24–31. DOI:10.1016/j.copbio.2014.04.008. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958166914000809?via%3Dihub>.

KARAVAIKO, G.I; BOGDANOVA, T.I; TOUROVA, T.P; KONDRAT’EVA, T.F; TSAPLINA, I.A; EGOROVA M.A; KRASIL’NIKOVA, E.N y ZAKHARCHUK, L.M. «Reclassification of ‘*Sulfobacillus thermosulfidooxidans* subsp. *thermotolerans*’ strain K1 as *Alicyclobacillus tolerans* sp. nov. and *Sulfobacillus disulfidooxidans* Dufresne *et al.* 1996 as *Alicyclobacillus disulfidooxidans* comb. nov., and emended description of the genus *Alicyclobacillus*». *Int J Syst Evol Microbiol* [en línea] [consulta 11 sep. 2021]. 2005, 55: p 941–947. DOI: 10.1099/ijs.0.63300-0. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijs.0.63300-0#tab2>.

KELLY, D.P y WOOD, A.P. «Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidothiobacillus* gen. Nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov.». *International Journal of Systematic and Evolutionary*

Microbiology [en línea] [consulta 09 jun. 2021]. 2000, 50: p 511–516. DOI:

10.1099/00207713-50-2-511. Disponible en:

<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-50-2-511#tab2>.

KHALID, A.M; ANWAR, M.A; SHEMSI, A.M; NIAZI, G y AKHTAR, K.

«Biohydrometallurgy of low-grade, carbonate bearing sandstone uranium ore». 1993. In: Torma, A.E; Wey, J.E y Lakshmanan. V.I. editors. *Biohydrometallurgical technologies*. Warrendale, PA: The Minerals, Metals and Materials Society. p 285–292.

KUPKA, D y KUPSÁKOVÁ, I. «Iron (II) oxidation kinetics in *Thiobacillus ferrooxidans* in the presence of heavy metals». *Process Metallurgy* [en línea] [consulta 12 nov. 2021]. 1999, p 387–396. DOI:10.1016/S1572-4409(99)80039-x. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S157244099980039X>.

LAVANDAIO, Eddy Omar Luis y CATALANO, Edmundo. «Historia de la Minería Argentina. Tomo I». *Servicio Geológico Minero Argentino. Instituto de Geología y Recursos Minerales* [en línea] [consulta 29 may. 2021]. Buenos Aires, 2004, Anales N° 40, p 314.

ISSN: 0328-2325. Disponible en: <https://repositorio.segemar.gov.ar/handle/308849217/2873>.

LAVANDAIO, Eddy Omar Luis. «Conozcamos más sobre Minería». // *En Serie Publicaciones N°168 Instituto de Geología y Recursos Minerales SEGEMAR* [en línea] [consulta 25 may. 2021], 2da ed, Buenos Aires, 2014. ISSN 0328-2317. Disponible en: <http://repositorio.segemar.gov.ar/308849217/2794>.

LAWRENCE Richard W. *Advances in Bioprocess Engineering II*. Kluwer Academic Publishers. 1997, p 229-250. DOI: 10.1007/978-94-017-0643-8_13. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-94-017-0643-8_13.

LLAMBÍAS, E. «Geología de los Yacimientos Mineros de Agua de Dionisio, provincia de Catamarca, República Argentina». *Revista de la Asociación de Mineralogía, Petrología y Sedimentología*. 1970, 1: p 3-32.

LOAYZA, C y LY, E.M. «Biooxidation of arsenopyrite concentrate for industrial plant Tamboraque using acid mine drainage». In: *Proceedings of the Biomine conference*. Perth, 1999, p 162–167.

LOCUTURA, Juan; RAMALLO, León y TORNOS, Fernando. «ANEXO II: ANÁLISIS METALOGENÉTICO DE LA QUEBRADA DE HUMAHUACA». *SEGEMAR INSTITUTO DE GEOLOGÍA Y RECURSOS MINERALES* [en línea] [consulta 28 may. 2022]. En: ESTUDIO GEOLÓGICO INTEGRADO DE LA QUEBRADA DE HUMAHUACA. 1998, p 63. Disponible en:

https://repositorio.segemar.gov.ar/bitstream/handle/308849217/84/Anexo%20II_Metalogenia.PDF?sequence=45&isAllowed=y

LOGAN, Thomas C; SEAL, Thom y BRIERLEY, James A. *Biomining*. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 113-138 p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.

NATARAJAN, K. A. *Biotechnology for Gold Mining, Extraction, and Waste Control. Biotechnology of Metals*. 2018, p 179–210. DOI:10.1016/b978-0-12-804022-5.00008-6.

NECULITA, Carmen Mihaela; ZAGURY, Gérald J y BUSSIÈRE, Bruno. «Passive treatment of acid mine drainage in bioreactors using sulfate-reducing bacteria». *Journal of Environmental Quality* [en línea] [consulta 15 abr. 2021]. 2007, 36(1): p 1–16.

DOI:10.2134/jeq2006.0066. Disponible en: <https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2134/jeq2006.0066>.

NEMATI, M; HARRISON, S.T.L; HANSFORD, G.S y WEBB, C. «Biological oxidation of ferrous sulfate by *Thiobacillus ferrooxidans*: a review on the kinetic aspects». *Biochemical Engineering Journal* [en línea] [consulta 26 sep. 2021]. 1998, 1: p 171–190. DOI:

10.1016/S1369-703X(98)00006-0. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X98000060>.

NORRIS, Paul R. “Acidophilic Bacteria and Their Activity in Mineral Sulfide Oxidation”. 1990. En: *Microbial Mineral Recovery*. Ehrlich H. L y Brierley C. L. (ed.), McGraw-Hill, New York, p 3-27.

NORRIS, P.R; BURTON, N.P y FOULIS N.A. «Acidophiles in bioreactor mineral processing». *Extremophiles* [en línea] [consulta 09 ago. 2021]. 2000, 4: p 71–76. DOI:

10.1007/s007920050139. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s007920050139>.

NORRIS, Paul R. *Biomining*. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 199-216 p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.

MALIK, Anushree; DASTIDAR, Manisha Ghosh y ROYCHOUDHURY, Pradip Kumar. «Biodesulphurization of coal: effect of pulse feeding and leachate recycle». *Enzyme and Microbial Technology* [en línea] [consulta 25 sep. 2021]. 2001, 28(1), p 49–56. DOI:10.1016/s0141-0229(00)00283-0. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141022900002830?via%3Dihub>.

MALVICINI, Lidia y LLAMBÍAS, Eduardo. «Mineralogía y origen de los minerales de manganeso y sus asociados en Farellón Negro, Alto de la Blenda y Los Viscos, Hualfín, Catamarca». // *Revista de la Asociación Geológica Argentina* [en línea] [consulta 07 may. 2021]. Tomo XVIII, N^{os} 3-4, (Julio-Diciembre) 1963, p 177-199. Disponible en: <http://repositorio.segemar.gov.ar/308849217/2043>.

MARTIN, Jose L, MALANCA, S y SUREDA R.J. «Nuevos hallazgos paleontológicos en el Ordovícico de la sierra de Aguilar, Jujuy, Argentina. Implicancias estratigráficas y consideraciones geológicas». *VIII Congr Geol Bol*, Bodas de Plata SGB, La Paz (in press), 1986.

MARTIN, Jose L, MALANCA, S y SUREDA R.J. «La fauna graptolítica de la sierra de Aguilar, Jujuy, Argentina. Algunos comentarios sobre las formaciones ordovícicas». *Cuarto Congr Latinoarn Paleont*. Santa Cruz de la Sierra, 1987, 2: p 599-619.

MARTIN, Jose L; SUREDA, Ricardo J; y FLORES, Fernando J. «Investigación geoquímica en un yacimiento 'sedex' del Ordovícico Inferior: Mina El Aguilar, Jujuy, Argentina (2312'S)». *Revista Geológica de Chile* [en línea] [consulta 07 may. 2021]. 1994, 21-1, p 71-90. DOI: <http://dx.doi.org/10.5027/andgeoV21n1-a04>. Disponible en: <http://www.andangeology.cl/index.php/revista1/article/view/V21n1-a04>.

MARTÍNEZ, Facundo; FOGLIATA, Ana Silvia; MONTENEGRO, Nicolás y HAGEMANN Steffen. «Metalogénesis de la veta Farallón Negro rama norte, Farallón Negro, provincia de Catamarca». // *Revista de la Asociación Geológica Argentina* [en línea] [consulta 09 may.

2021]. 2014, 71; 4; p 553-561. ISSN: 1851-8249. Disponible en:
<https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/7243>.

MARSH, Rowena M. y NORRIS, Paul R. «The isolation of some thermophilic, autotrophic, iron- and sulphur-oxidizing bacteria». *FEMS Microbiology Letters* [en línea] [consulta 18 ago. 2021]. 1983, 17(1-3), p 311–315. DOI:10.1111/j.1574-6968.1983.tb00426.x. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsle/article/17/1-3/311/548097>.

MERUANE, G; SALHE, C; WIERTZ, J y VARGAS, T. «Novel electrochemical-enzymatic model which quantifies the effect of the solution Eh on the kinetics of ferrous iron oxidation with *Acidithiobacillus ferrooxidans*». *Biotechnology and Bioengineering* [en línea] [consulta 12 oct. 2021]. 2002, 80: p 280–288. DOI: 10.1002/bit.10371. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bit.10371>.

MCCREADY, R.G.L y GOULD, W.D. «Bioleaching of uranium». In: *Microbial Mineral Recovery* (EHRlich, H.L. y BRIERLEY, C.L. Eds.). 1990, p. 107–125. McGraw-Hill, New York, NY.

MORIN, D. «Bacterial leaching of refractory gold sulfide ores». In: *Bioextraction and Biodeterioration of Metals* (GAYLARDE, C.C. y VIDELA, H.A., Eds.), p. 25–62. 1995, Cambridge University Press, Cambridge.

MORIN, Dominique Henri Roger y D'HUGUES, Patrick. *Biomining*. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 34-55 p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.

OKIBE, Naoko y JOHNSON D. Barrie. «Biooxidation of pyrite by defined mixed cultures of moderately thermophilic acidophiles in pH-controlled bioreactors: significance of microbial interactions». *Biotechnology and Bioengineering* [en línea] [consulta 27 jul. 2021]. 2004, 87: p 574–583. DOI: 10.1002/bit.20138. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bit.20138>.

OSEI-OWUSU, J. «Operating cost reduction initiatives at the Ashanti BIOX™ plant as at July 2001». In: *Proceedings of the 4th BIOX™ users group meeting*. 2001, Wiluna, p 39–43.

OVEJERO, Ana Ingrid. «Mineralización y texturas de oxidación: vetas filo oeste y encuentro. Departamento Belén. Provincia de Catamarca». *Universidad Nacional de Catamarca, Editorial Científica Universitaria* [en línea] [consulta 13 may. 2021]. 2007, p 95. ISBN: 978-987-661-272-2. Disponible en:

<http://editorial.unca.edu.ar/Publicacione%20on%20line/DIGITESIS/Ovejero%20Ingrid/index.htm>.

PEIRANO, A. «Un centro volcánico moderno en el Distrito de Hualfín, provincia de Catamarca». *3° Cuadernos de Mineralogía y Geología, Universidad Nacional de Tucumán* [en línea] [consulta 24 may. 2021]. 1944, 12- 13: p 272-281 y 28-60.

PETERSEN, J y DIXON, D.G. «Thermophilic heap leaching of a chalcopyrite concentrate». *Minerals Engineering* [en línea] [consulta 20 jun. 2021]. 2002, 15(11), p 777–785. DOI:10.1016/S0892-6875(02)00092-4. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0892687502000924>.

PETERSEN, Jochen y DIXON, David G. *Biomining*. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 152-176 p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en:

<https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.

PLUMB, J.J; GIBBS, B; STOTT, M.B; ROBERTSON, W.J; GIBSON, J.A.E; NICHOLS, P.D; WATLING, H.R y FRANZMANN, P.D. «Enrichment and characterisation of thermophilic acidophiles for the bioleaching of mineral sulphides». *Minerals Engineering* [en línea] [consulta 04 jul. 2021]. 2002, 15: p 787–794. DOI:10.1016/S0892-6875(02)00117-6.

Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/232399643_Enrichment_and_characterisation_of_thermophilic_acidophiles_for_the_bioleaching_of_mineral_sulphides.

POGLIANI, Cristina. «Inmovilización Y Crecimiento De Thiobacillus Thiooxidans Y Thiobacillus Ferrooxidans Sobre Diferentes Soportes: Uso De Biopelículas En La Biolixiviación De Minerales Sulfurados». Tesis doctoral En Universidad Nacional de La Plata [en línea] [consulta 21 mar. 2021], Buenos Aires, 1999. DOI:10.35537/10915/2541.

Disponible en: <https://doi.org/10.35537/10915/2541>.

PORZIONATO, Natalia; TUFO, Ana; CANDAL, Roberto y CURUTCHET, Gustavo. «Metal bioleaching from anaerobic sediments from Reconquista River basin (Argentina) as a potential remediation strategy». *Environmental Science and Pollution Research* [en línea] [consulta 16 ago. 2019]. 2016, 24(33), 25561–25570. DOI:10.1007/s11356-016-6717-y. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-016-6717-y>.

PRADHAN, N; NATHSARMA, K. C; SRINIVASA RAO, K; SUKLA, L. B y MISHRA, B. K. «Heap bioleaching of chalcopyrite: A review». *Minerals Engineering* [en línea] [consulta 29 may. 2022]. 2008, 21(5), p 355–365. DOI:10.1016/j.mineng.2007.10.018. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0892687507003160>.

RATHNA, Ravichandran y NAKKEERAN, Ekambaram. Biological treatment for the recovery of minerals from low-grade ores. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. 2020, p 437–458. DOI: 10.1016/b978-0-444-64321-6.00022-7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444643216000227>.

RAUCH, Jason N y PACYNA, Jozef M. «Earth's global Ag, Al, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, and Zn cycles». *Global Biogeochemical Cycles* [en línea] [consulta 28 ago. 2021]. 2009, 23(2):GB2001. DOI: 10.1029/2008GB003376. Disponible en: <https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1029/2008GB003376>.

RAWLINGS, Douglas E. y SILVER, Simon. «Mining with microbes». *Biotechnology* [en línea] [consulta 31 jul. 2021]. 1995, 13, p 773 – 778. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt0895-773>. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nbt0895-773>.

RAWLINGS, Douglas E. «Industrial practice and the Biology of Leaching of Metals from Ores». *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* [en línea] [consulta 01 ago. 2021]. 1998, 20, p 268-274. DOI: 10.1038/sj.jim.2900522. Disponible en: <https://academic.oup.com/jimb/article/20/5/268/5991631>.

RAWLINGS, Douglas E. «Heavy metal mining using microbes». *Annual Review of Microbiology* [en línea] [consulta 28 ago. 2021]. 2002, 56: p 65–91. DOI: 10.1146/annurev.micro.56.012302.161052. Disponible en: https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.micro.56.012302.161052?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed.

RAWLINGS, Douglas E. «Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates». *Microbial Cell Factories* [en línea] [consulta 02 dic. 2021]. 2005, 4:13. DOI: 10.1186/1475-2859-4-13. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1142338/>.

RAWLINGS Douglas E. y JOHNSON, Barrie. *Biomining*. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. v-vi p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.

RAWLINGS, Douglas E. *Biomining*. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 177-198 p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.

RAWLINGS, Douglas E. «Biomining (Mineral Bioleaching, Mineral Biooxidation)». *Encyclopedia of Earth Sciences Series* [en línea] [consulta 10 dic. 2021]. 2011, p 182–185. DOI:10.1007/978-1-4020-9212-1_34. Disponible en: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-1-4020-9212-1_34.

REED, Christopher. J; LEWIS, Hunter; TREJO, Eric; WINSTON, Vern y EVILIA, Caryn. «Protein Adaptations in Archaeal Extremophiles». *Archaea* [en línea] [consulta 17 oct. 2021]. 2013, 1–14. DOI:10.1155/2013/373275. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3787623/>.

REZZA I, SALINAS E, ELORZA M, SANZ DE TOSETTI M y DONATI E. «Mechanism involved in bioleaching of an aluminosilicate by heterotrophic microorganisms». *Process Biochemistry* [en línea] [consulta 05 nov. 2021]. 2001, 36: p 495–500. DOI:10.1016/S0032-9592(00)00164-3. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0032959200001643>.

ROBERTO, F. F. «Commercial heap biooxidation of refractory gold ores – Revisiting Newmont’s successful deployment at Carlin». *Minerals Engineering* [en línea] [consulta 29 may. 2022]. 2017, 106, 2–6. DOI:10.1016/J.MINENG.2016.09.017. Disponible en: [HTTPS://WWW.SCIENCEDIRECT.COM/SCIENCE/ARTICLE/ABS/PII/S0892687516303259?VIA%3DIHUB](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0892687516303259?VIA%3DIHUB)

ROBERTS, Mark C. «Predicting metal consumption: the case of US steel». *Resources Policy* [en línea] [consulta 19 dic. 2021]. 1990, 16(1): p 56–73. DOI:10.1016/0301-4207(90)90018-7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0301420790900187>.

RODRÍGUEZ, Y; BLÁZQUEZ, M.L; BALLESTER, A; GONZÁLEZ, F; y MUÑOZ, J.A. «La biolixiviación al comienzo del siglo XXI». *Revista De Metalurgia* [en línea] [consulta 03 dic. 2021]. 2001, 37(5), p 616–627. DOI: <https://doi.org/10.3989/revmetalm.2001.v37.i5.528>. Disponible en:

<https://revistademetalurgia.revistas.csic.es/index.php/revistademetalurgia/article/view/528>.

ROHWERDER, T; GEHRKE, T; KINZLER, K y SAND, W. «Bioleaching review part A: progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation». *Applied Microbiology and Biotechnology* [en línea] [consulta 05 dic. 2021]. 2003, 63: p 239–248. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1448-7>. Disponible en:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-003-1448-7>.

ROSA, D.R.N y ROSA, R.N. «Copper depletion in the Iberian Pyrite Belt: another indicator of global scarcity». *Applied Earth Science* [en línea] [consulta 29 may. 2021], 2011, 120(1): p 39–43. DOI:10.1179/1743275811Y.0000000020. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1179/1743275811Y.0000000020?journalCode=yaes> 20.

ROSSI, G. Biohydrometallurgy. Mc Graw- Hill Book Company, Hamburg, 1990, Capítulo 1.

ROSSI, G. «Biodepyritization of coal: achievements and problems». *Fuel* [en línea] [consulta 08 jun. 2021]. 1993. 72(12), p 1581–1592. DOI:10.1016/0016-2361(93)90340-8. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0016236193903408>.

SAADE HAZIN, Miryam. «Desarrollo minero y conflictos socioambientales : los casos de Colombia, México y el Perú». *CEPAL - Serie Macroeconomía del Desarrollo* [en línea] [consulta 21 dic. 2021]. Santiago de Chile, 2013, N° 137. ISSN: 1680-8843. Disponible en: https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/5369/LCL3706_es.pdf.

SAAVEDRA, Albert y CORTÓN, Eduardo. «Biotecnología microbiana aplicada a la minería». *Revista Química Viva* [en línea] [consulta 23 feb. 2021]. 2014, Número 3, p 148-163. ISSN: 1666-7948. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/33444>.

SAND, Wolfgang; GERKE, Tilman; HALLMANN, R y SCHIPPERS, Axel. «Sulfur chemistry, biofilm, and the (in)direct attack mechanism - a critical evaluation of bacterial leaching». *Applied Microbiology and Biotechnology* [en línea] [consulta 12 sep. 2021]. 1995, 43(6), p 961–966. DOI:10.1007/bf00166909. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00166909#citeas>.

SAND, Wolfgang; GEHRKE, Tilman; JOZSA, Peter-Georg y SCHIPPERS, Axel. «(Bio)chemistry of bacterial leaching-direct vs. indirect bioleaching». *Hydrometallurgy* [en línea] [consulta 06 sep. 2021]. 2001, 59, p 159-175. DOI: 10.1016/S0304-386X(00)00180-8. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304386X00001808>.

SASSO, A. y CLARK, A. «El Grupo Farallón Negro: evolución magmática, hidrotermal y tectónica e implicancias para la metalogenia de cobre-oro en el retroarco andino, Catamarca». *Recursos Minerales de la República Argentina, Instituto de Geología y Recursos Minerales, SEGEMAR*. Buenos Aires, 1999, Anales 35:1437-1450.

SCHAEKERS D.M. «Evaluation of the stability of residues from biological oxidation of sulfidic ores». 1998, Billiton Process Research, report no PR 98/45.

SCHIPPERS, Axel y SAND, Wolfgang. «Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur». *Applied and Environmental Microbiology* [en línea] [consulta 30 ago. 2021]. 1999, 65: p 319–321. DOI:10.1128/AEM.65.1.319-321.1999. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC91023/>.

SCHNELL, Henry A. Bioleaching of copper. 1997. In: Rawlings D.E (ed) *Biomining*. Springer, Berlin Heidelberg New York, p 21–43. DOI:10.1007/978-3-662-06111-4_2.

SHEORAN, A.S y SHEORAN, V. «Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: a critical review». *Minerals Engineering* [en línea] [consulta 27 may. 2021]. 2006, 19(2): p 105–116. DOI:10.1016/j.mineng.2005.08.006. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0892687505002876>.

SHIERS, D.W; BLIGHT, K.R y RALPH, D.E. «Sodium sulphate and sodium chloride effects on batch culture of iron oxidising bacteria». *Hydrometallurgy* [en línea] [consulta 03 jun. 2021]. 2005. 80(1-2), p 75–82. DOI: 10.1016/j.hydromet.2005.07.001. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/229116282_Sodium_sulphate_and_sodium_chloride_effects_on_batch_culture_of_iron_oxidising_bacteria.

SHIRATORI, T; INOUE, C; SUGAWARA, K; KUSANO, T y KITAWARA, Y. «Cloning and expression of *Thiobacillus ferroxidans* mercury ion resistance genes in *Escherichia coli*». *Journal of Bacteriology* [en línea] [consulta 04 ago. 2021]. 1989, 171:3458–3464. DOI: 10.1128/jb.171.6.3458-3464.1989. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC210071/>.

SISTER, Raúl Guillermo. «Informe geológico económico de Farallón Negro y zona adyacente, Distrito Hualfín, Departamento Belén, provincia de Catamarca». *Ópera Lilloana* [en línea] [consulta 26 jun. 2021]. 1965, 8:15-35 y 81- 83. ISSN: 0078-5245.

STEPHENSON, D y KELSON, R. «Wiluna BIOX™ plant – expansion and new developments». 1997. In: Proceedings of the Biomine ‘97 conference, Sydney, p M4.1.1–8.

STOTT, M.B; WATLING, H.R; FRANZMANN, P.D y SUTTON, D. «The role of iron-hydroxy precipitates in the passivation of chalcopyrite during bioleaching». *Minerals Engineering* [en línea] [consulta 16 ago. 2021]. 2000, 13(10-11), p 1117–1127. DOI:10.1016/s0892-6875(00)00095-9. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/229418794_The_Role_of_Iron-Hydroxy_Precipitates_in_the_Passivation_of_Chalcopyrite_During_Bioleaching.

SUGIO, T; FUJII, M; TAKEUCHI, F; NEGISHI, A; MAEDA, T y KAMIMURA, K. «Volatilization by an iron oxidation enzyme system in a highly mercury resistant *Acidithiobacillus ferroxidans* strain MON-1». *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* [en línea] [consulta 14 jul. 2021]. 2003, 67: p 1537–1544. DOI:10.1271/bbb.67.1537. Disponible en: <https://academic.oup.com/bbb/article/67/7/1537/5944611?login=false>.

SUREDA, R. J y AMSTUTZ, G. C. «Neue Untersuchungen iiber die schichtgebundenen Pb-Zn-Lagerstlitten in der Sierra de Aguilar, Provinz Jujuy, Argentinien». *Zbl Geol Palltont*. 1981, I (3/4): p 494-504.

SUREDA, R. J. y MARTIN, J. L. «El Aguilar Mine: An Ordovician Sediment-Hosted Stratiform Lead-Zinc Deposit in the Central Andes». En: Fontboté L., Amstutz G.C., Cardozo M., Cedillo E., Frutos J. (eds) *Stratabound Ore Deposits in the Andes. Special Publication*

No. 8 of the Society for Geology Applied to Mineral Deposits, vol 8. Springer, Berlín, [en línea] [consulta 22 ago. 2021]. 1990, p 161–174. DOI:10.1007/978-3-642-88282-1_10. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-88282-1_10.

SUREDA, R. J; PEREZ, H.D; MARTIN, J.L y FLORES, F.J. «Exploración y desarrollo en un depósito Sedex (Zn,Pb,Ba) de la Sierra de Aguilar: Mina Esperanza, Jujuy». 1994.

SWART, Pilar y DEWULF, Jo. «Quantifying the impacts of primary metal resource use in life cycle assessment based on recent mining data». *Resources, Conservation and Recycling* [en línea] [consulta 18 ago. 2021], 2013, 73(0): p 180–187. DOI: 10.1016/j.resconrec.2013.02.007. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921344913000360>.

TCHA, M y TAKASHINA, G. «Is world metal consumption in disarray? ». *Resources Policy* [en línea] [consulta 15 abr. 2021]. 2002, 28(1–2): p 61–74. DOI:10.1016/S0301-4207(03)00006-0. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301420703000060>.

TORMA, A.E. «Leaching of metals». In: *Biotechnology* (REHM, H.J. y REED, G. Eds.), Vol. 1989, 6B, p 367–399. VCH, Weinheim.

TRIBUTSCH, Helmut y ROJAS-CHAPANA, José A. *Biomining*. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 263-280 p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.

TUFFIN, I.M; DE GROOT, P; DEANE, S.M y RAWLINGS, D.E. «An unusual Tn21-like transposon containing an *ars* operon is present in highly arsenic resistant strains of the biomining bacterium *Acidithiobacillus caldus*». *Microbiology* [en línea] [consulta 05 ago. 2021]. 2005, 151: p 3027–3039. DOI: 10.1099/mic.0.28131-0. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.28131-0#tab2>.

TUOVINEN, O.H; NIEMELA, S.I y GYLLENBERG, H.G. «Effect of mineral nutrients and organic substances on the development of *Thiobacillus ferrooxidans*». *Biotechnology and Bioengineering* [en línea] [consulta 08 sep. 2021]. 1971, 13: p 517–527. DOI:10.1002/bit.260130406. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/bit.260130406>.

VAN ASWEGEN, P.C; MARAIS, H.J y HAINES, A.K. «Design and operation of a commercial bacterial oxidation plant at Fairview». In: Proceedings of the Perth, international gold conference. Randol, Perth, 1988, p 144–147.

VAN ASWEGEN, Pieter C. «Bio-oxidation of refractory gold ores - the GEMIN experience». 1993. BIOMINE'93, Application of biotechnology to the mineral industry. Australian mineral foundation, Adelaide, 1994, Chapter 10.

VAN ASWEGEN, Pieter C; VAN NIEKERK, Jan y OLIVIER, Waldemar. Biomining. 1a. ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007. 1-33 p. ISBN: 13 987-3-540-34909-9. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-34911-2>.

VAN NIEKERK, J. «Pilot scale testing of the disposal of arsenic trioxide using the BIOX™ process at Fairview BIOX™ plant». In: Proceedings of the 4th BIOX™ users group meeting. Wiluna, 2001, p 17–29.

VELASCO SARAGONI, Nonoy. «Estudio Electroquímico de la Lixiviación de Pirita». Universidad de Chile - Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas [en línea] [consulta 16 oct. 2021]. Santiago, Chile, 2009. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/103538>.

VILLARROEL, D. «Process for refining copper in solid state». *Minerals Engineering* [en línea] [consulta 30 jul. 2021]. 1999, 12(4), p 405–414. DOI:10.1016/s0892-6875(99)00020-5. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0892687599000205>.

WILLIAMS, Tamsin L; GUNN, Michael J; JAFFER, Ashraf; HARVEY, Paul I y TITTES, Pamela R. Hydrometallurgy 2008 - Proceedings of the Sixth International Symposium. 1st ed. 2008. Littleton, Colorado, U.S.A, Society for Mining, Metallurgy, and Exploration, Inc, 2008. 474-483 p. ISBN: 978-0-87335-266-6. Disponible en: <https://www.911metallurgist.com/blog/wp-content/uploads/2015/10/BACTERIAL-OXIDATION-OF-A-REFRACTORY-ARSENOPYRITE-GOLD-CONCENTRATE.pdf>

YANG, Xiaojuan; ZHANG, Xiaoxue; FAN, Yanli y LI, Hongyu. «The leaching of pentlandite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* with a biological-chemical process». *Biochemical Engineering Journal* [en línea] [consulta 01 sep. 2021]. 2008, 42, p 166-171. DOI: 10.1016/j.bej.2008.06.014.

YARZÁBAL, A; BRASSEUR, G y BONNEFOY, V. «Cytochromes *c* of *Acidithiobacillus ferrooxidans*». *FEMS Microbiology Letters* [en línea] [consulta 06 nov. 2021]. 2002 209: p 189–195. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2002.tb11130.x. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsle/article/209/2/189/543201>.

YELLISHETTY, Mohan; MUDD, Gavin M; RANJITH P.G y THARUMARAJAH, A. «Environmental life-cycle comparisons of steel production and recycling: sustainability issues, problems and prospects». *Environmental Science & Policy* [en línea] [consulta 19 oct. 2021]. 2011, 14(6): p 650–663. DOI:10.1016/j.envsci.2011.04.008. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1462901111000669#!>.

YESILNACAR M.I y KADIRAGAGIL Z. «Effects of acid mine drainage on groundwater quality: a case study from an open-pit copper mine in eastern Turkey». *Bulletin of Engineering Geology and the Environment* [en línea] [consulta 11 abr. 2021]. 2013, 72(3–4): p 485–493. DOI:10.1007/s10064-013-0512-5. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10064-013-0512-5>.

Referencias de páginas web

AR ZINC S.A [en línea]. [consulta 21 may. 2022].

<<http://www.aguilar-arzinc.com/index.php>>.

CÁMARA ARGENTINA DE EMPRESARIOS MINEROS [en línea]. [consulta 18 may. 2022].

<<https://www.caem.com.ar/minerales/>>.

CENTRO DE INFORMACIÓN MINERA DE ARGENTINA [en línea]. [consulta 05 ago. 2021].

<<http://informacionminera.produccion.gob.ar/assets/datasets/BROCHURE%20Miner%C3%ADa%20en%20Argentina.pdf>>.

CODELCO EDUCA [en línea]. [consulta 07 mar. 2021].

<https://www.codelcoeduca.cl/codelcoeduca/site/edic/base/port/proceso_productivo.html>.

<https://www.codelcoeduca.cl/codelcoeduca/site/artic/20190109/asocfile/20190109004857/biolixiviacion_media_tecnico_060119.pdf>.

CHEMISTRY LIBRETEXTS: PRINCIPLES OF EXTRACTIVE METALLURGY [en línea]. [consulta 14 oct. 2021].

<<https://chem.libretexts.org/@go/page/24342>>.

DIRECCIÓN NACIONAL DE MINERÍA [en línea]. [consulta 07 oct. 2021].

<<https://web.archive.org/web/20130808025505/http://www.mineria.gov.ar/proyecto/Jujuy/aguilar.htm>>.

EL CRONISTA [en línea]. [consulta 21 may. 2022].

<<https://www.cronista.com/apertura/empresas/Minera-Aguilar-anuncio-el-cierre-de-su-planta-en-Jujuy-20201116-0010.html>>.

FACULTAD DE INGENIERÍA DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES [en línea]. [consulta 17 jun. 2022].

<<http://materias.fi.uba.ar/6305/download/Titulaciones%20Conductimetricas.pdf>>.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS [en línea]. [consulta 05 ago. 2021].

<https://www.indec.gob.ar/ftp/cuadros/economia/cenam17_07_18.pdf>.

LATINO MINERÍA [en línea]. [consulta 27 ago. 2021]

<<http://www.latinomineria.cl/reportajes/farallon-negro-mas-de-tres-decadas-produciendo/#>>.

MINING PRESS [en línea]. [consulta 14 ago. 2021]

<<http://miningpress.com/nota/134015/minera-aguilar-uno-de-los-pilares-de-la-mineria-argentina>>.

PORTAL OFICIAL DEL ESTADO ARGENTINO [en línea]. [consulta 05 ago. 2021].

<https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/mineria_argentina-primer_semestre_2020.pdf>.

SECRETARÍA DE MINERÍA - CEPXXI (CENTRO DE ESTUDIOS PARA LA PRODUCCIÓN) [en línea]. [consulta 17 jun. 2022].

<https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/preguntas_sobre_mineria_2.pdf>.

SIGAM [en línea]. [consulta 21 may. 2022].

https://sigam.segemar.gov.ar/segedoc/res/img/sigam_yacimientos/dp172.html

SRK CONSULTING [en línea]. [consulta 08 abr. 2021].

<https://dxi97tvbmhbca.cloudfront.net/upload/user/image/TMandziak_Mining_World_2015_HL_Design20200227191736976.pdf>.

U.S GEOLOGICAL SURVEY [en línea]. [consulta 13 nov. 2021]

<<http://minerals.usgs.gov>>.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA - FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS [en línea]. [consulta 07 jun. 2021]

<http://www.exactas.unlp.edu.ar/articulo/2018/7/25/bacterias_mineras>.

WORLD ECONOMIC FORUM [en línea]. [consulta 06 nov. 2021]

<<https://www.weforum.org/agenda/2021/10/all-tonnes-metals-ores-mined-in-one-year/>>.

Anexos

Anexo I: Datos de secuenciación del gen de ARNr 16S (Región V3-V4) de los microorganismos aislados.

>191204-021_I03_AF_785F.ab1 709 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, muestra 1)
GGACGTCGATGAGCGATGATGTGTTGGTACTGCTTAGTACTGCGTTGGTCTAACTACGCGCTTAGTCTCCGCCTGGGAAATACGGCC
CGCAGGGTTAAAAATCAAAGGGAATTTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACC
TTACCTGGATTGACATGTCGGAATCCTGCCAAAAATGGACATTGCCCTTCGGGGATCCCAACACGTGCGTGGGGTGTCTCCT
TCTCGTGTGAGATATGTTGTTTTATCCCCCGCAAAGAGCAACCCCCCTGTTCTTATTGCCAATGTTTCGGTGGGGCACTCTAAGGAG
ACTGCCGTGACAAAACCGAAGAAAGGTGGGATATGACGTGCTCCCTCATGGCCTTATGTCCGGGGCTACCCTTGCTACATGGGCGC
GACCATGGGAAACCCAGTGTGACGGTGAACCTAAACCCAAAAAGCGCCTCGTATTTAGATTGCTCTCTGCTCTCGTGGCGTGGAG
TGCAAAATCTTTAATCTCGCATGTCGCGTGGGATGTCGCGCTGAGAATACTTTCCCGGCTTGTGTACACACCGCTGTCACACCGTATGTT
ATTGTATCAAATTCATGTACTCTCACCTTCGGGAGGGCGGCTACCACGGTCTGGTCTAAGACTGGGGTGAAGTCAAAGGGGAACAAA
AA

>191204-021_K03_AF_907R.ab1 889 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, muestra 2)
CAAGTCGGTCTCAGCGGTGACTACCGGTTAGCTACGACACTGAATTGCTTAGGTACCCAACATCCAGCATTCTCGTTTAGGGCGTGG
ATACCAGGGTATCTATCTGTTTGTCCACGCTTCGCTGCCTCACGTACAGTAATGGACCCAGGTGGCCCCCTTCCCCCTGAGGTCTTT
CCAAAATCAACAATTTTCACTCTACCTGTGGAATTCAAAACCCCTCTCCAAACTCAAATGAGACGGCTTCTACCCACTTCCAAGG
TGAACCCCGGAAATTTACCACGAATGTGCCGTCCGCCAACCCCTTTTACCCCATCGATTCCAATAACGCCTGGCCCCCTCCGAT
TAACGCGGTTGGCGGGAACAAATTTACCCGATGTTACTTCGTGGGTCCGTTCTCCTCCTCCGATTAAGAACTTTATTTTCCTAACA
CCTTATTGACTTTACGGCTTGATGGATTCTGCTTACCCATTGTGCGATATCCCGGTTGCTGCTCTGGTAAGAATTCGGGCTGC
TGCTCCCCAGGATGCTGGATCGTGTCTCATACCAGTGAGGGAGGTCATGCTCGCAAAGCCTTACTGATCTACTACTGAATCGCA
CTTACGTAACCCCTAGCTGACTTTACCTTTGTCCCTCTGAATGCGGCGCATTAGATCCACCCTTCTCCCTGAGGGCTCATGCG
GGATAAATCTTATTTCTCAGTCTTTGTGCCCACTATGACACGTAGCCCTGCCCGTGGACTTGCATGTGTTAATCATGACCATCCGCA
TTACCTGTTGACGTGCCCTTTTCTTTCTTTTTAGGCATGCCCCAGCGGTTCAATCTGAGCAGAAAAAATAATAAAA

>191205-019_E01_AT_785F.ab1 1581 (*Acidithiobacillus thiooxidans*, muestra 1)
CGGACTCGATGATACTAGATGTTTGGTGCCACGCGTACTGAGTGTGCTAGCTAACGCGATAAGTATTCCGCCTGGGAAGTACGGCCG
AAGGTTAAACTCAAAGGAATTTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCT
GGGCTTGACATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCCTTCGGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTGTCAGCTCG
TGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTAGTTGCCAGCGGTTCCGGCCGGCACTCTAGGGAGACTG
CCGGTGACAAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCTTATGTCCAGGGTACACACGTGCTACAATGGCGCGTA
CAGAGGGAAGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCAGACCCAGAAAGCGCGTCTAGTTCGGATTGCAGTCTGCAACTCGACTGCATGAAGT
CGGAATCGTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTACACCATGGGAGTGGGA
TTGTACCAGAAGCCGTTAGCTAACCTTCGGGAGGGCGATGACCACGGTATGGTTTCATGACTGGGGTGAAGTCGAAAAAGGGGAACC
CCAAAAAACCCTTAAAGCCCAACAACCGTGTTCACCCAACTGGCCCATATTTCCCGTGGGCCCCGGACCTTACTCCCCCGAT
CGCCCGGTTACCCCAATCAAGCTGTCCCCCTTCCCATTTCTGTGAACGGCTGCGCCTCCGACTTCCCGGAGGAGGCCCAAT
CACCTCCGATCTACTTCGGCGGCAACAAGCCTCCCTTCCCAAAATTTGGGAAGCTTACTCCCCCCCCAACAATTCGAGCCTGGCGA
GAGGGAAGAAGCGCTTTTGTCTTTTTTGAAGAACTCAACAGGCAGGGGGAATTTCCCTCCTCCTTCCCCCCCCAACAATAAAAA
CCGACCCAAAGCCCGGCTCATTTTCTCCACCTCGGGTTTTGCCAGTGGGGCCCCCTCGCAAAAAAATAAACAACACCCCTC
CCACACAGAGGAAGGGGGGGGGGAGCCTCCCTCCGGCGGGGGGCTTTCCCTCCCCCCCCACACAAACCCCTTGGAAAG
GGCTTGTGCTTCCCTTCCCAACCAAAAAGGGGAACCCCTCCCCCGCCCTGCGAAAAAAGCAGGCTCCCTCCCCC
CTTGCTTCGGGGTAGGGTAAAATGGACCCTTTGGGGGGGGCCCCCCCCCGGGCCCCCAAAAATAGAAAAGAAACCTTGGCG
GCCCGGCCCCCCCGCGCCGAACCGTGACAAGGGAGAAAAGGAAGCTGCCTATGTTGTCCCGCTTGGGTGGGGCGGGGCC
CCCCCTTAAATTTGGGGTGTATAACAAGCAAAAAAATAAAGGAAAATTTGAAACGCTTGGTTCGCCACTCTGATTA

>191205-019_G01_AT_907R.ab1 1303 (*Acidithiobacillus thiooxidans*, muestra 2)
CCAAATGGGGTCTTACGGCGGATACCTATCGGTTAGCTACGACACTCAGTACGCGTGGCACCAACATCTAGTATTCTGTTAGG
GCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTCCACGCTTTCGTGCTCAGCGTCAGTATTGGCCAGGTGGCCGCTTCGCCAC
TGATGTTCTCAGATCTTACGCAATTCACCGCTACACCTGGAATTCACACCCCTCTCCATACTTAGTACACCGGTTTCCACCGCC
ATTCCAGGTTGAGCCGGGATTTACGACAGACTAATGCACCGCTACGACCCCTTACGCCAGTGATTCCGATTAACGCTTGA
CCCCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTCTTCTTCTGATTACGTCAACAGCAGGCGATATTAGCACCACCT
TTTCGCTCCACGAAAGAACTTTACAACCCGAAGGCCCTTCTTATTACAGCGGCAATGCTTTCGTCAGGGTTGCCCAATTGCGAAAA
TTCCCACTGTGCTCCGTTAGGAGTCTGGCCGTGCTCAGTCCAGTGGTGGTGGTCTCAGACCAGTACCAGTCTGCTGCG
CTTGGTAGCCCTTACCTACCACTAGCTAATCAGACAGTGGCTCTTCCAGCGGAGGTCGGAAGATCCCCCGCTTCCCTCA
GGGCTTATGCGGTATTAGCCAAAGTTCCCTGGGTTGTCCCCACTCAAAGACAGATTCTACGCTTACTACCCGTCGGCACTCGT
CAGCATCCGAAGACTGTTACCGTTGACTTGCATGTGTTAGGCATGCCCGAGCGTTCAATCTGAGCAGATGTCAAACATTA
AAAAACCCCGGGGGGAGCAAGAATAGGGGGAGGGCAAAATAGTATTAGCCTTCTGTTGTTAGGGGCTGAGAAAGAAA
AACACGTTTCTACTTTAAAAAACAATAAATGATTAATGTTTTACTTTTTTAAAGAGATAAAAAAATAAAAAAGGAAGAATTTTT
TTTTTTTATGTT
TT

Anexo II: Datos de Espectroscopia Atómica ICP-OES de los distintos metales de interés lixiviados (AySA)

Tabla XV. Datos de Espectroscopia Atómica ICP-OES de los distintos metales de interés lixiviados.

Día	Muestra	Ag (mg/L)	As (ug/L)	Co (ug/L)	Cu (mg/L)	Fe (mg/L)	Mn (mg/L)	Ni (mg/L)	Pb (mg/L)	V (ug/L)	Zn (mg/L)
-	Punto 1 de la curva	0,05	20	10	0,05	0,05	0,04	0,1	0,02	10	0,05
-	Punto 5 de la curva	2,5	1000	1000	5	5	2	10	2	1000	5
13-ago	Pila Arcinc		3617,6	691481,8	39		828,6	71,2	1,2		5094,9
15-ago	Pila Arcinc		2980,7	639474,2	35,5		727,3	67,6	1,1		4762,5
20-ago	Pila Arcinc		1605,8	645198,3	35,1		772,8	68,4	1		4682,3
22-ago	Pila Arcinc		1618,2	612827	30,7		606,2	56,4	0,9		4445,2
29-ago	Pila Arcinc		660,7	659441,3	30,1		567	57,6	0,9		4616,3
2-sep	Pila Arcinc		402,4	645533,9	30,7		687,7	61,5	0,8		4714,1
3-sep	Pila Arcinc		323,6	556592,5	29,4	1,9	641,2	56,8	1		4070,8
7-oct	Pila Arcinc	89,7	15402,2	386789,8	50,8		387,9				3845
8-oct	Pila Arcinc	15,9	88984	277237,2	36		296,7			1897,4	2629,1
10-oct	Pila Arcinc	83,1		313039,9	29,8		318,8			6550,4	2876
22-oct	Pila Arcinc	134		428273,8	33,2		429,3	4	3,85	5742,9	3841,6
25-oct	Pila Arcinc	50,9	42950,1	349817,3	24,5		355,3				3321,8
29-oct	Pila Arcinc	128,1	95693,6	344418,6	161,7	68,3	375,6				3575,8
31-oct	Pila Arcinc	58,4		315205,5	61,9		308,7				3432,9
4-nov	Pila Arcinc	75,3		362126,7	57,7		334,2				4151,4
5-nov	Pila Arcinc	5,1		377512,2	54,5		344,6	4,7		3079,7	4419,3
7-nov	Pila Arcinc	164,8	13686,4	418992,6	120,1	7	351	11,9	32,73	2388,4	4787,7
11-nov	Pila Arcinc	11,7	91775	337404,2	427,2	188,4	315,8		62,16	2489,2	4547,7
12-nov	Pila Arcinc	10,4	28595,2	402431,8	229,8		333,2	16	5,45		5257,6
14-nov	Pila Arcinc	49,2		400986,4	206,6		346,9	20,1			5744,4
19-nov	Pila Arcinc	26,9		410917,7	102,8		342	28			5797,4
21-nov	Pila Arcinc	51,2	44161	415421,8	170,4	70,8	345	17,8			5921,7
26-nov	Pila Arcinc	47,5		360928,3	241,3	36,8	303,7	16,6	13,28	3700,7	5813,8
28-nov	Pila Arcinc	11,6		441442,4	244	43,3	359,8	24,9			6578,6
2-dic	Pila Arcinc	2,5	78281,8	459580,1	393,2	56,9	359,4	39,2		1073,4	7782
20-ago	Pila Viscos		546,3	249,3		0,5	4,6				2,1
22-ago	Pila Viscos		579,1	13825,7	1,1	3,4	24,7	2,1			95,8
26-ago	Pila Viscos		533,3	200,4		1,3	3,4				1,3
29-ago	Pila Viscos		377,8	31,9		1,6	5,1				
2-sep	Pila Viscos		2665,5	56,6	3,8	0,6	1,9		2,1		0,5
3-sep	Pila Viscos		332	62,1		5,1	2,2		0,2		0,2
7-oct	Pila Viscos	23,4					54			1687,6	208,3
8-oct	Pila Viscos	92,7				78,7	72,8			11490,6	186,4
10-oct	Pila Viscos	3,6			31,4	1014,3	52,7		5,01		232,4
22-oct	Pila Viscos	6,7			2,1	282,6	66,9		21,64	1905,8	202,1
25-oct	Pila Viscos	75,7	29742,9		11,1	137,6	75,1		12,26	7573,2	50,4
29-oct	Pila Viscos	9,5	143398,9		97,5	43	95,3		16,37		118,4
31-oct	Pila Viscos	21,4	21415			39,9	154,7		9,41		242
4-nov	Pila Viscos	6,9	32854,7				152			8541,9	38,7
5-nov	Pila Viscos	7,1	11045,1		10,9	217,8	200,9		17,6	6832,8	66,1
7-nov	Pila Viscos	180,6	67393,4				207			2721,1	150,6
11-nov	Pila Viscos	378,7	28546,1		1,3	157,5	238,3			1863,5	235,9
12-nov	Pila Viscos	114,4	24552,7		8,3	343	306,1		1,51	1562,9	370,8
14-nov	Pila Viscos	0,9	25123,5			93,2	310,7			2525	148,6
19-nov	Pila Viscos	89,4					310,5				26,3
21-nov	Pila Viscos	7,6				119	337,6				26,4
26-nov	Pila Viscos	37,8				45	359,7			4179,3	101,1
28-nov	Pila Viscos	16,7	36151,8			8,8	410,8				375,3
2-dic	Pila Viscos	228,3			1,5		503,6			483,8	

Día	Muestra	Ag (mg/L)	As (ug/L)	Co (ug/L)	Cu (mg/L)	Fe (mg/L)	Mn (mg/L)	Ni (mg/L)	Pb (mg/L)	V (ug/L)	Zn (mg/L)
-	Punto 1 de la curva	0,05	20	10	0,05	0,05	0,04	0,1	0,02	10	0,05
-	Punto 5 de la curva	2,5	1000	1000	5	5	2	10	2	1000	5
22-ago	Blanco OK Viscos		609,1	154,4	0,6	0,7	2,5				1,2
26-ago	Blanco OK Viscos		1006,9	40,7			1,3		0,2		0,1
2-sep	Blanco OK Viscos		1007,2	160,7		1,6	4,3				0,8
3-sep	Blanco OK Viscos		943,6	181,3		1,8	5				0,9
10-oct	Blanco OK Viscos	4					242,1		14,74	1537	31,2
22-oct	Blanco OK Viscos	6			4,5	24,6	260,2			3265,9	71,7
22-ago	AF Viscos		549,3	22		0,9	4,6				
26-ago	AF Viscos		1057,3	13,5		1,7	1,7				
2-sep	AF Viscos		843,1	67,2		1,4	4,2				0,2
3-sep	AF Viscos		831,3	51,7		1,5	4,1				0,1
10-oct	AF Viscos	42,8	1579,1				293,4				
22-oct	AF Viscos	148,8					314,8				7,8
22-ago	AF y AT Viscos		500,4	62,5		1,2	4,5				0,2
26-ago	AF y AT Viscos		878,3	54,7		1	2,7				0,2
2-sep	AF y AT Viscos		693,7	641,6		1,8	6				4,3
3-sep	AF y AT Viscos		781,3			7,3	5,6		1,1		
10-oct	AF y AT Viscos	6,9					309,5			2539,1	
22-oct	AF y AT Viscos				35,6	41,6	332,7			694,8	9,5
7-oct	Medio OK Arcinc	4,2			2,1	1,3	25			4032,7	172,7
8-oct	Medio OK Arcinc	8	65332,7		7,8	148,4	27,7			1315,2	264,6
10-oct	Medio OK Arcinc	50,3	25967,4		1,3		13,3			5108,3	149,8
22-oct	Medio OK Arcinc	32,2	29277				12,4				144,2
25-oct	Medio OK Arcinc	6,5			0,8	42,9	17,7		1,26	4171,9	189,6
29-oct	Medio OK Arcinc	5	110208,4		10	7,5	27		6,13	4224,8	215,7
7-oct	AcBio Arcinc	21,1	623173,4	11993,6	1691,6	576,5	100,1		12,23	6133,7	2048,2
8-oct	AcBio Arcinc	3,6	826008,8	32482,7	2272,8	402,4	88,3		20,03		2518,2
10-oct	AcBio Arcinc	358	682153,3	8104,6	1662,4		25,8		9,02		1592
22-oct	AcBio Arcinc	403	695005,5	14187	1829,5	44,2	40,6		2,18		1908,8
25-oct	AcBio Arcinc	30,2	855418,9	19586,9	2056,5	44,7	37,7				1959,7
29-oct	AcBio Arcinc	6,7	697887,2	27368,4	1853	9,7	34,1				1754,9

Aclaraciones: La cuantificación dio 0 para las celdas que se encuentran vacías. Para las celdas con los datos en rojo o blanco, la cuantificación supero por más de un 20% el valor máximo de la curva y no se tuvieron en cuenta.

Anexo III: Análisis y resultados de DRX y FRX

Todavía se esperan los resultados de las muestras que se enviaron a analizar por difracción de rayos X (DRX) y fluorescencia de rayos X (FRX) para tener información estructural detallada y un análisis elemental de los residuos minerales. Los resultados se demoraron por la pandemia de la COVID-19 y porque las instituciones encargadas de realizar los ensayos no están trabajando al 100% y en este momento tienen otras prioridades.

Las muestras que se enviaron a analizar al SEGEMAR y al CETMIC (Centro de Tecnología de recursos Minerales y Cerámica) son las siguientes:

- Batches de Los Viscos con las condiciones ya optimizadas (3% de densidad de pulpa).
- El mineral Arcinc tratado con el ácido biogenerado, y el blanco, de los ensayos en batch.
- Los minerales de ambas pilas, después de los 3 tratamientos (por triplicado).

El análisis de DRX permitiría determinar los minerales presentes en la muestra y determinar cómo se modificaron con respecto al mineral sin tratar. Con el análisis de FRX, se podría determinar la composición química del mineral tratado por el proceso de biolixiviación.