

Microorganismos Hierro–Azufre Oxidantes Una Alternativa Biotecnológica

Iron–Sulfur Oxidizing Microorganism A Biotechnologic Alternative

Erica Mejía¹, Laura Osorno², Juan Ospina³

Fecha de recepción: Mayo 25 de 2014

Fecha de aceptación: Julio 5 de 2014

Resumen

Microorganismos hierro-azufre oxidantes juegan un papel fundamental en ambientes sedimentarios, especialmente cuando hay presencia de pirita (FeS_2), calcopirita (CuFeS_2), arsenopirita (FeAsS), galena (PbS) y esfalerita (ZnS). Estos microorganismos son importantes en la oxidación de un amplio rango de sulfuros metálicos en algunos suelos, sedimentos o superficies de rocas expuestas, sin importar el origen de estos minerales. La actividad microbiana oxidativa está siendo explotada industrialmente para la extracción de metales a partir de minerales. Actualmente, la bioextracción comercial de interés se centra en la recuperación de cobre, níquel, oro, plomo y cobalto. Pese a que el oro contenido en minerales sulfuros no se extrae biotecnológicamente a escala comercial, el tratamiento previo con microorganismos (biobeneficio) con el fin de eliminar la interferencia de la pirita y arsenopirita sí se hace a esta escala. Por ejemplo, la pirita encapsula oro en su estructura, por lo que lo hace inviable su recuperación química, tal como recuperación con cianuro o tiourea. Existe además un gran potencial en la bioextracción de una gran

-
- 1 Grupo Hombre, Proyecto y Ciudad, Universidad de San Buenaventura, Medellín. Grupo Microbiología de suelo, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. ermejia@unal.edu.co
 - 2 Grupo Microbiología de suelo, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. losorno@unal.edu.com
 - 3 Grupo de Investigación e Innovación Ambiental, Institución Universitaria Pascual Bravo. juan.ospina@pascualbravo.edu.co

variedad de metales de los minerales que lo contienen, como el caso del cobre. Es por esto que este trabajo pretende dar una revisión general de los efectos de los microorganismos hierro azufre oxidante en los procesos de beneficio.

Palabras clave: arsenopirita, calcopirita, pirita, biooxidación, biohidrometalúrgia, biominería.

Abstract

Iron-sulfur oxidizing microorganisms play an important role in some sedimentary environments, especially when there are pyrite (FeS_2), chalcopyrite (CuFeS_2), arsenopyrite (FeAsS), galena (PbS) and sphalerite (ZnS). Other microorganisms are important in oxidation of a wide range of metal sulfides in some soils and sediments or exposed at rock surfaces, nevertheless of the mode of origin of these minerals. The oxidative microbial activity is being industrially exploited in the extraction of metals from some metal sulfide ores. Currently, the bioextractable sulfidic ores of commercial interest include those of copper, nickel, zinc, gold, lead and cobalt. Although gold in sulfidic ores is not commercially bioextracted, microbial pretreatment (biobeneficiation) of such gold ores to remove interfering pyrite and arsenopyrite impurities is now being accomplished on a commercial scale. The pyrites in these ores encapsulate the gold, making it inaccessible to a chemical extractant such as aqueous cyanide or thiourea. A great potential exists for industrial bioextraction of a variety of other metal sulfide ores.

keywords: Arsenopyrite, chalcopyrite, pyrite, biooxidation, biohidrometallurgy, biomining.

1. Introducción

La lixiviación bacteriana de sulfuros metálicos, de interés en las industrias mineras colombianas y del mundo, ha presentado grandes avances y desarrollos en el transcurso de la última década ^[1]. Su alta versatilidad debido a su bajo costo de capital, adaptación a diferentes procesos mineros y ventajas ambientales, la hacen una oportunidad inexplorada en nuestro territorio ^[2-3].

El término biolixiviación enmarca la recuperación de metales pesados empleando en el proceso microorganismos y se ha establecido como una alternativa biotecnológica a los procesos convencionales de recuperación de metales valiosos ^[4-5]. Este término también hace referencia al proceso de oxidación biológica por el cual, metales en su forma iónica, son liberados de una matriz insoluble.

Los microorganismos empleados en estos procesos tienen varios propósitos, (i) convertir la matriz insoluble, como es el caso de los sulfuros, en

sulfatos metálicos solubles y, (ii) realizar un pretratamiento oxidante para la recuperación del valioso. Sin embargo, la oxidación biológica solo se ha empleado para destruir la matriz que contiene atrapado los metales, de interés para su posterior recuperación pero también es potencial para el proceso completo de beneficio [6]. El término que agrupa procesos biológicos con procesos de beneficio de minerales en la literatura es denominado “*biominería*” [7-10], aunque el término que mejor representa el proceso es biooxidación.

No todos los minerales de interés comercial en minería pueden ser tratados [1]. Los sustratos a ser tratados o pretratados deben contener en su estructura hierro o formas reducidas de azufre, o estar asociado a minerales que contengan estos elementos, debido a que durante el proceso son oxidados por el ataque no selectivo de los iones Fe^{3+} o ácido sulfúrico generado por los microorganismos [1].

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es presentar un panorama general asociado a la oxidación biológica de sulfuros. Dentro del documento se discutirán algunas características que describen los mecanismos de biooxidación y la biotecnología empleada en estos procesos. También se pondrá de manifiesto su importancia debida al creciente interés en este tipo de procesos.

2. Biominería

La biominería tiene sus raíces en la hidrometalurgia, ciencia antigua que se remonta a 177–122 AC [11]. La hidrometalurgia nace con el proceso de cementación del cobre, el cual tiene como objetivo la recuperación del ion Cu^{2+} a partir de soluciones ácidas de sulfato de cobre, mediante el tratamiento con iones metálicos como el hierro [12]. Esta transformación es representada mediante la siguiente ecuación [13].



Años más tarde, el advenimiento de la biominería inicia con el descubrimiento de la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, a mediados de la década del cuarenta [14-15] y un conocimiento incipiente de papel de las bacterias en la lixiviación del cobre en la década del sesenta [13-16]. Las investigaciones iniciales mostraron que las bacterias fueron eficaces en la biooxidación de la piritita y la biolixiviación de sulfuros de cobre como la calcopiritita, enargita y covelina [16-17].

Se puede decir, entonces, que la biominería descende de la unión de la biotecnología y la hidrometalurgia, donde el desarrollo de estos procesos se da como resultado de la interacción natural de los microorganismos y un sustrato mineral ^[18]. La biominería se puede dividir en dos ramas: la biolixiviación basada en la recuperación de metales base (como cobre, cobalto, níquel, zinc, uranio entre otros), allí la bacteria cataliza el proceso de disolución del metal y la biooxidación, en donde el objetivo de emplear bacterias es eliminar la interferencia del sulfuro que contiene oculto el oro y/o plata, ya que los metales (hierro y arsénico entre otros) que acompañan al sulfuro no tienen valor comercial en este tipo de procesos ^[10].

3. Microorganismos involucrados

Los microorganismos que participan en procesos de biolixiviación son principalmente bacterias acidófilas. Estas tienen capacidad de generar ambientes ácidos (pH menores a 3) por la producción de ácido sulfúrico. Además, son capaces de oxidar compuestos inorgánicos como azufre y/o hierro ferroso, siendo esta una de las principales razones para que los minerales se conviertan en fuente de energía para las bacterias ^[10]. Las bacterias comúnmente usadas pertenecen al género *Acidithiobacillus*, antes denominada *Thiobacillus* y reclasificadas por Kelly & Wood en el año 2000.

Dentro de este grupo se encuentran las bacterias mesófilas que viven a temperaturas que oscilan entre los 20-30°C, obtienen su fuente de energía del hierro y/o azufre, *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*. Estas bacterias son gram negativas al igual que las moderadamente termófilas (30-45°C) como *A. Caldus*. También se encuentran bacterias pertenecientes a las Gran-positivas como las moderadamente termófilas: *Lep-tospirillum*, *Acidimicrobium*, *Ferromicrobium* y *sulbocacillus* y las termófilas *Sulfolobus*, *Archeabacteria*, *Metallosphera* entre otras ^[10].

En general, crecen en ambientes ácidos, aeróbicos y en ambientes oxidantes. A diferencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* que está dotado con una amplia capacidad metabólica siendo capaz de obtener su energía oxidación del hierro y de compuestos reducidos del azufre. Además, de tener la habilidad de oxidar hidrogeno molecular, ácido fórmico, hierro ferroso y otros iones metálicos ^[10].

4. Características generales de los microorganismos hierro-azufre oxidantes

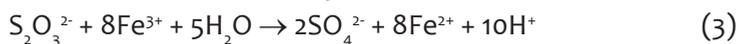
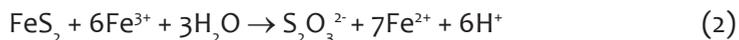
Los microorganismos involucrados en los procesos de biooxidación de minerales son los responsables de generar los iones férricos y un ambiente ácido en el cual se desarrollen las reacciones de biolixiviación y la solubilización de los valores contenidos en los minerales. Independientemente del tipo de proceso o la temperatura, estos microorganismos tienen una serie de características en común que los hacen especialmente adecuados para poder solubilizar metales valiosos a partir de sulfuros. Sus características: (i) son microorganismos autótrofos, no requieren una fuente adicional de carbono, lo que disminuye costos de operación, (ii) son quimiolitotrofos, obtienen su fuente de energía de la oxidación del ion ferroso o compuestos reducidos de azufre, (iii) son acidófilos, crecen en ambientes ácidos a pH ~ 2 y (iv) presentan una alta tolerancia a metales pesados ^[19].

5. Mecanismos de lixiviación biológica

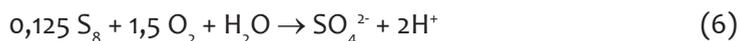
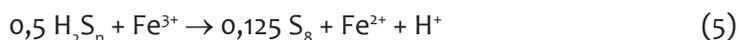
La lixiviación de sulfuros metálicos es un proceso químico en el cual un agente oxidante, como el ion Fe^{3+} o el ion H^+ , es el responsable de la oxidación del mineral y posterior liberación del metal. La función de los microorganismos como *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans* o *L. ferrooxidans* es regenerar estos agentes oxidantes ^[20].

Los microorganismos pueden estar en la solución lixivante o adheridos a la superficie del mineral, por medio de una sustancia polimérica extracelular (EPS) ^[20-21]. En la EPS, las reacciones de transferencia electrónica se dan con mayor rapidez y eficiencia a diferencia del resto de la solución lixivante ^[10, 20, 22-23]. Las reacciones de disolución varían de con el tipo de mineral empleado. Los mecanismos de oxidación bacteriana pueden tomar diferentes vías de acuerdo con el sulfuro metálico, empleando diferentes intermediarios ^[24]. Axel Schippers y Wolfgang Sand en 1998 propusieron dos modelos para representar la oxidación de sulfuros por medio de microorganismos. El primero denominado tiosulfato para sulfuros insolubles en medios ácidos, como la pirita (FeS_2) y la molibdenita (MoS_2); y el segundo, denominado polisulfuro para sulfuros solubles en medios ácido, tales como esfalerita (ZnS), calcopirita (CuFeS_2) y galena (PbS) ^[25].

En el mecanismo vía tiosulfato, la solubilización del mineral es promovida por el ataque del ion Fe^{3+} , donde el tiosulfato es el agente intermediario y el sulfato es el producto final predominante. Las reacciones de disolución para el caso de la pirita se presentan a continuación:



En el mecanismo vía polisulfuro, la solubilización del mineral se da por el ataque combinado del ion Fe^{3+} y de H^+ con azufre elemental como principal intermediario. El azufre puede ser oxidado por los microorganismos presentes en el medio lixivante, tales como *A. thiooxidans* o *A. caldus*, hasta sulfato a través de las siguientes reacciones:



El papel fundamental de los microorganismos azufre-hierro-oxidantes en el primer mecanismo es regenerar el ion Fe^{3+} a partir de la oxidación del ion Fe^{2+} y emplear la energía derivada de ese proceso para su metabolismo. En el segundo mecanismo se genera un ambiente ácido que promueve el ataque químico del mineral y luego mantener el hierro en su estado de oxidación (III) [25].

6. Efecto de la temperatura en la biooxidación de sulfuros

La disolución de minerales es un proceso químico donde el rol principal de los microorganismos es producir hierro férrico y protones (ácido). Algunos estudios indican que, en general, la velocidad de las reacciones químicas se duplica con el aumento en 10°C en la temperatura. A pesar de que la velocidad de descomposición es lo suficientemente rápida en $35\text{-}40^\circ\text{C}$ para la mayoría de los minerales, algunos como la calcopirita requieren temperaturas mayores, presentando un intervalo de $45\text{-}80^\circ\text{C}$ para hacer que el proceso sea económicamente viable [26-27]. Desafortunadamente, la disponibilidad de oxígeno disuelto en la lixiviación bacteriana de sulfuros es un factor crítico. Las

bacterias necesitan oxígeno durante la oxidación de las especies reducidas del hierro y azufre ^[11, 28]. La solubilidad del oxígeno en agua a 35°C es 8gm⁻³ y disminuye con el aumento en la concentración de iones en la solución y la temperatura. Por lo tanto, puede ser necesario un suministro externo de oxígeno para los microorganismos ^[28]. En los procesos de biooxidación, el intervalo de temperatura juega un papel importante para que las reacciones de oxidación no se inhiban. El rango de temperatura dependerá del tipo de mineral usado y el tipo de microorganismo (mesófilos, termófilos) ^[29].

7. Efecto del pH

El pH influye de forma significativa en la velocidad de crecimiento de los microorganismos ya que afecta a los grupos ionizables presentes en las enzimas situadas en el citoplasma y periplasma de la célula. Dichos grupos se encuentran en la forma iónica adecuada para mantener la conformación del centro activo de la célula y así enlazarse a los sustratos y catalizar la reacción ^[30].

Los microorganismos que participan en la lixiviación bacteriana de sulfuros son acidófilos, ya que son activos a pH ~3,0. Con un pH óptimo para *Acidithiobacillus ferrooxidans* en el intervalo de 1,5 a 2,5 ^[28-29].

Valores de pH ~1,0 presenta una fuerte inhibición del crecimiento del *A. ferrooxidans*. A diferencia de *A. thiooxidans*, que presenta valores de pH en medio de cultivo ~1,0; debido a la producción de ácido sulfúrico y a su capacidad de tolerar una mayor acidez ^[30, 31].

Por otro lado, la formación de precipitados en la biooxidación de sulfuros depende del valor de pH de la solución. A valores de pH por encima de 2,5 el hierro férrico tiene una baja solubilidad, ocasionando la formación de hidrosulfatos básicos de Fe³⁺, con fórmula general MFe₃(SO₄)₂(OH)₆, donde M es K⁺ (jarosita), Na⁺ (natrojarosita), NH₄⁺ (amoniojarosita), H₃O⁺ (hidroniojarosita), Ag⁺ (argentojarosita), Pb²⁺ (plumbojarosita), entre otros. Esta precipitación depende fundamentalmente del pH, la composición iónica y la concentración del medio ^[30]. La precipitación de Fe³⁺ ocurre incluso a bajos valores de pH, sin embargo, se observa que medios con valores de pH menores de 1,8 son efectivos para limitar la extensión de la precipitación de estos compuestos ^[30, 32]. Harvey & Crundwell ^[29] recomiendan que para mantener la actividad bacteriana en un proceso de biooxidación de sulfuros en reactores

de tanque agitado el pH de operación debe mantenerse en el intervalo de 1,6 – 1,8.

8. Efecto del potencial de óxido reducción

El potencial redox de la solución es un indicador indirecto del metabolismo energético o de la actividad bacteriana en el proceso de biolixiviación. Esta es una medida de la tendencia de la solución de ser oxidada o reducida. En este tipo de procesos se mide la relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$. Durante la fase de crecimiento exponencial, el potencial redox (Eh) de los medios con *A. ferrooxidans* se caracteriza por estar entre 320–580 mV^[51]. Normalmente, la extracción de los iones alcanza sus mayores velocidades cuando el Eh de la solución ácida ha superado los 400–450 mV^[33].

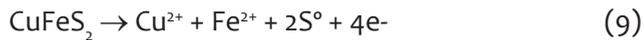
9. Tamaño de partícula

El área específica superficial es uno de los factores importantes que afectan el proceso de oxidación bacteriana. Generalmente, en los minerales refractarios, la fracción del área superficial ocupada por el sulfuro de interés es pequeña y se podría esperar que la velocidad de lixiviación sea proporcional a los pocos sitios activos de dicho sulfuro. A medida que el tamaño de partícula decrece, aumenta el área superficial y por ende el número de sitios activos, por lo que se cree que aumenta la eficiencia del proceso^[33-34]. Sin embargo, varios investigadores han encontrado que al disminuir el tamaño de partícula se generan factores inhibitorios, como efectos mecánicos, ya que se aumenta la posibilidad de colisión entre las partículas y las células y se genera estrés metabólico causado por concentraciones inhibitorias de metales pesados. Lo anterior, genera un efecto global negativo^[35-39].

10. Interacciones galvánicas

Los sulfuros son materiales semiconductores que presentan interacciones galvánicas cuando se encuentran en contacto físico, lo que es común en menas naturales^[40]. Este efecto puede llegar a ser uno de los factores más importantes a nivel electroquímico, regulando la disolución de los sulfuros en los procesos hidrometalúrgicos. En la interacción, el mineral con el más alto potencial de electrodo actúa como cátodo y se oxida, mientras que el

mineral con menor potencial, se convierte en el ánodo y se pasiva [28, 40]. Un ejemplo de interacción galvánica es la lixiviación acelerada del cobre de la calcopirita en contacto con la pirita. La pirita, con un potencial más alto, actúa como un cátodo, mientras que la calcopirita, con un menor potencial, es anódicamente disuelta [40-41], como se muestra en la siguiente reacción:



Cuando la galena forma un par galvánico con la pirita, la disolución de la galena se ve favorecida [42]. (Fig. 1).

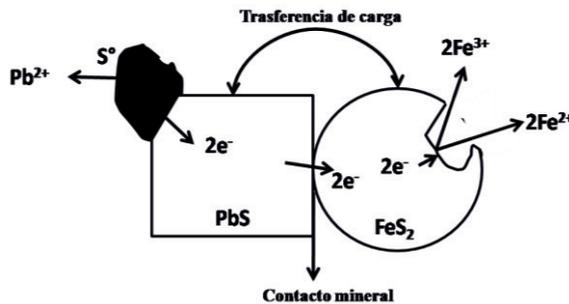


FIGURA 1. Interacción galvánica entre galena y pirita. Modificado [42].

La pirita también puede facilitar la corrosión de la esfalerita, porque tiene un potencial de electrodo menor. De otro lado, también se ha encontrado que cuando la esfalerita y galena entran en contacto, la galena actúa como ánodo de sacrificio y se oxida a expensas de la pasivación de la esfalerita [43-44]. La interacción galvánica afecta la lixiviación bacteriana de minerales, ya que retarda o aumenta la cinética de oxidación de los minerales que forman el par, dependiendo de las características electroquímicas de los mismos [28], [45-46].

11. Conclusiones

La solubilización de metales a partir del mineral que lo contiene o de concentrados es en gran medida un proceso químico, el cual se debe a la acción del hierro férrico y de protones; esta acción depende del tipo de mineral.

Al igual que en todos los procesos químicos, la velocidad de reacción se ve influenciada por diversos factores. Algunos minerales difíciles de degradar deben ser lixiviados a altas temperaturas para lograr así que la velocidad de lixiviación sea económicamente viable.

Dado que los microorganismos son los responsables de la producción de los agentes químicos para la lixiviación, y el contacto del microorganismo con el mineral acelera el proceso, hace que estos sean muy promisorios en estos procesos, además estos puedan sobrevivir a una gran variedad de temperaturas.

Como es conocido, los tipos de microorganismos usados en los procesos de recuperación de metales varían dependiendo de la temperatura a la que se lleve a cabo el proceso. Los procesos comerciales que operan a temperatura ambiente están dominados por bacterias gram-negativas, en consorcio con algunos microorganismos del género *Ferroplasma*, siempre y cuando el pH desciende por debajo de 1.3.

Aunque actualmente no hay procesos comerciales que operen por encima de los 70°C es probable que existan microorganismos termófilos, que se encuentran en manantiales calientes con alto contenido de azufre y pH bajos. La variación en los microorganismos presente en los procesos de bio-lixiviación es más dependiente de la temperatura que del tipo de azufre o hierro que contienen los minerales. Mientras que las condiciones de autotrofia y tolerancia a presencia de iones metálicos pesados es constante. A pesar de la gran variedad de microorganismos que pueden utilizarse, los usados en biooxidación tienen características bioquímicas comunes. Obtienen su energía de la oxidación del hierro o de compuestos reducidos de azufre, condición importante para la biooxidación de sulfuros metálicos. A pesar de que algunos microorganismos son capaces de utilizar ambas fuentes de energía, consorcios bacterianos de estos funcionan mucho mejor. En cultivos puros, algunos microorganismos crecen mejor en presencia de pequeñas cantidades de extracto de levadura o agregando aire enriquecido con CO₂. Sin embargo cuando crecen en consorcio parece no ser necesaria una fuente extra de carbono.

El uso de microorganismos hierro-azufre oxidantes es una alternativa biotecnológica en la biominería de la industria metalúrgica extractiva, disminuyendo costos de operación y el impacto ambiental.

En Colombia la aplicación de este tipo de procesos permitiría la recuperación de oro refractario, el cual es común encontrarlo en diversas zonas como es el caso del norte Antioqueño.

Perspectivas futuras

La biominería tiende a establecerse como un proceso fundamental en el beneficio de minerales, el cual permite incrementar la recuperación del metal valioso. Para vislumbrar la importancia de la implementación de estos procesos se muestra el caso de Chile, donde el 10 % de la extracción de cobre se produce a través de lixiviación bacteriana. Es así como la lixiviación bacteriana es un excelente ejemplo del uso controlado de microorganismo al servicio del hombre, evitando con eso el uso masivo de energía y reactivos químicos. Sin embargo, se hace necesario una mayor comprensión del proceso que permitan generar confianza en esta tecnología, la cual ya es aplicada en Brasil y Chile y de este modo aumentar su incorporación en los procesos Industriales de recuperación de metales como oro, plata y cobre. Por lo tanto, estudios detallados de los procesos Industriales actualmente establecidos permitirán masificar su uso y aumentar las velocidades de disolución.

Agradecimientos

A las Subdirecciones de Biotecnología, Energía y Minería de Colciencias. Al GMAB de la Universidad Nacional de Colombia. Al Grupo de Mineralogía Aplicada y Bioprocesos de la Universidad de Colombia. A la Institución Universitaria Pascual Bravo, por su interés en el desarrollo de nuevas tecnologías.

12. Referencias

- [1] D.E. Rawlings. Review. *“Characteristics and adaptability of iron –and sulfur– oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates”*, Microbial Cell Factories, 2005.
- [2] J. A. Brierley, L. Luinstra, *“Biooxidation-heap concept for pretreatment of refractory gold ore”*, In: *Biohydrometallurgical Technologies*, A.E. Torma, J.E. Wey & V.L. Lakshmanan Eds., The Minerals, Metals & Materials Society, pp. 437-448. 1993.
- [3] H. R. Waltlin, *“The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides-A review”*. *Hydrometallurgy*, 84, 1-2, 81-108, 2006.

- [4] S. R. Gilbert, C.O. Bounds, R. R. Ice. “Comparative economics of bacterial oxidation and roasting as a pre-treatment step for gold recovery from an auriferous pyrite concentrate”, *CIM Bulletin*, 81, 89-94, 1988.
- [5] J. Marsden and I. House, “*The chemistry of gold extraction*”. Ed. Ellis Horwood Limited, England. 1992.
- [6] M. Márquez, “Mineralogia dos processos de oxidacao sobre pressao e bacteriana do minerio de ouro da mina Sao Bento, MG”, Universidad de Brasilia, 1999.
- [7] K. Bosecker, “Bioleaching: metal solubilization by microorganism”. *FEMS Microbiology Reviews*. Vol. 20, pp. 591–604. 1997.
- [8] G. J. Olson, J. A. Brierley and C. L. Brierley. “Bioleaching review part B: Progress in bioleaching: applications of microbial processes by the minerals industries”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 63, pp. 249–257, 2003.
- [9] D. E. Rawlings, “Heavy metal mining using microbes”, *Annual Review Microbiology*, vol. 56, pp. 65–91, 2002.
- [10] T. Rohwerder and W. Sand. “The sulfane sulfur of persulfides is the actual substrate of the sulfur-oxidizing enzymes from *Acidithiobacillus* and *Acidiphilium spp*”, *Microbiology*, vol. 149, pp. 1699–1709, 2003.
- [11] G. Rossi. “The design of bioreactors”, *Hidrometallurgy*, vol. 59, pp. 217-231, 2001.
- [12] H. L. Ehrlich. “Geomicrobiology: its significance for geology”. *Earth-Science Reviews*, vol. 45, pp. 45–60, 1998.
- [13] F. Habashi, “A Short history of Hydrometallurgy”, *Hydrometallurgy*, vol. 79, pp. 15-22. 2005.
- [14] K. L. Temple, A. R. Colmer, “*The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium: Thiobacillus ferrooxidans*”, Engineering Experiment Station, West Virginia University, Morgantown, West Virginia, 1951.
- [15] F. Acevedo, “The use of reactor in biominig processes”, *Electric Journal of Biotechnology*, 3, pp. 184-190. Disponible en internet: <http://ejbiotechnology.uvc.cl/content/vol13/issue3/full/4/2000>.
- [16] C. L. Brierley. “*Biominig extracting metals whit microorganisms*”, [en línea]. [http://www.nae.edu/nae/pubundcom.nsf/weblinks/CGOZ-7CQRL8/\\$file/Biominig%20-CL%20Brierley%203_12_08.pdf](http://www.nae.edu/nae/pubundcom.nsf/weblinks/CGOZ-7CQRL8/$file/Biominig%20-CL%20Brierley%203_12_08.pdf). 2008.
- [17] J. A. Brierley and C. L. Brierley, “Present and future commercial applications of bio-hidrometallurgy”, *Hydrometallurgy*, vol. 59, pp. 233–239, 2001.

- [18] D. Morin, A. Lips, T. Pinches, J. Huisman, C. Frias, A. Norberg, E. Forssberg, “BioMinE –Integrated project for the development of biotechnology for metal-bearing materials in Europe”, *Hydrometallurgy*, vol. 83, pp. 69–76, 2006.
- [19] Rawlings, D. E., Heavy metal mining using microbes, *Annual Review Microbiology*, vol. 56. Pp. 65–91, 2002.
- [20] W. Sand, T. Gehrke, R. Hallmann and A. Schippers, “Sulfur chemistry, and the (In) direct attack mechanism- a critical evaluation of bacterial leaching”, *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 43, pp. 961–966, 1995.
- [21] P. Devasia, K. A. Natarajan, D. N. Sathyanarayana and G. Ramananda, “Surface chemistry of Thiobacillus ferrooxidans relevant to adhesion on mineral surface”, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 59, n°12, pp. 4051–4055, 1993.
- [22] T. Gehrke, J. Telegdi, D. Thierry and W. Sand, “Importance of extracellular polymeric substances from Thiobacillus ferrooxidans for bioleaching”, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 64, n°7, pp. 2743–2747, 1998.
- [23] H. Tributsch, “Direct versus indirect bioleaching”, *Hydrometallurgy*, vol. 59, pp. 177–185, 2001.
- [24] A. Schippers and W. Sand, “Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanism via thiosulfate or via polysulfides and sulfur”, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 65. n°1, pp. 319–321, 1999.
- [25] A. Schippers, T. Rohwerder and W. Sand. “Intermediary sulfur compounds in pyrite oxidation: Implications for bioleaching and biodepyritization of coal”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 52, pp. 104–110, 1999.
- [26] D. E. Rawlings, D. Dew and C. Plessis. “Biomining of metal-containing ores and concentrates”, *TRENDS in Biotechnology*, vol. 21, n°1, pp. 38–44, 2003.
- [27] D. E. Rawlings, N. J. Coram, N. M. Gardner and S. M. Deane, “*Thiobacillus caldus* and *Leptospirillum ferrooxidans* are widely distributed in continuous-flow biooxidation tanks used to treat a variety of metal-containing ores and concentrates”, in: D. E. Rawlings. Review. Characteristics and adaptability of iron – and sulfur – oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates. *Microbial Cell Factories*, 2005.
- [28] T. Das, S. Ayyappan, G. R. Chaudhury. “Factors affecting bioleaching kinetics of sulfide ores using acidophilic micro-organisms”, *BioMetals*, 12, pp. 1–10, 1999.
- [29] Harvey P.I. & Crundwell F.K., “The effect of As (III) on the growth of thiobacillus ferrooxidans in an electrolytic cell under controlled redox potentials. *Minerals Engineering*, vol. 9, no. 10. pp. 1059–1068, 1996.

- [30] J. M. Gómez, D. Cantero, "Biooxidación del ión ferroso". In: Fernando Acevedo y Juan Carlos Gentina (Editores), *Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras*, pp. 25-43, 2005.
- [31] M. Ossa. "Biolixiviación de sulfuros (pirita-arsenopirita) utilizando cepas nativas de acidófilos como pretratamiento, para el beneficio de metales preciosos, mina El Zancudo, Titiribí, Antioquia". Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, 2004.
- [32] J. Daoud, D. Karamanev. "Formation of jarosite during Fe²⁺ oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*", *Minerals Engineering*, 19, pp. 960-967, 2006.
- [33] F. Acevedo, J. C. Gentina, "Biolixiviación de minerales de cobre². In: Fernando Acevedo y Juan Carlos Gentina (Editores). *Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras*, pp. 25-43, 2005.
- [34] P. Valencia, F. Acevedo, "Are bioleaching rates determined by the available particle surface area concentration", *World J., Microbiol Biotechnol*, n° 25, pp. 101-106, 2008.
- [35] A. E. Torma, C. C. Walden, D. W. Duncan, R. M. R. Brannon. "The effect of carbon dioxide and particle surface on the microbiological leaching of a zinc sulfide concentrate", *Biotechnol Bioeng*, n° 14, pp. 777-786, 1972.
- [36] M. Nemati, S. T. L. Harrison, "A comparative study on thermophilic and mesophilic biooxidation of ferrous iron", *Minerals Engineering*, vol. 13, pp. 19-24, 1999.
- [37] M. Nemati, J. Lowenadler, S. T. L. Harrison, S.T.L. "Particle size effects in bioleaching of pyrite by acidophilic thermophile *Sulfolobus metallicus* (BC)", *Appl Microbiol. Appl Microbiol Biotechnol*, n°53, pp. 173-179, 2000.
- [38] H. Deveci, "Effect of particle size and shape of solids on the viability of acidophilic bacteria during mixing in stirred tank reactors", *Hydrometallurgy*, n° 71, pp. 385-396, 2004.
- [39] F. Acevedo, J. C. Gentina, P. Valencia, P., "Optimization of pulp density and particle size in the biooxidation of a pyritic gold concentrate by *Sulfolobus metallicus*", *World J. Microbiol Biotechnol*, n° 20, pp. 865-869, 2004.
- [40] I. Suzuki, "Microbial laching of metals from sulfide minerals", *Biotechnology Advances*, n° 19, pp. 119-132, 2001.
- [41] C. Klauber, "A critical review of the surface chemistry of acidic ferric sulphate dissolution of chalcopyrite with regards to hindered dissolution", *Int. J. Miner. Process*, n° 86, pp. 1-17, 2008.
- [42] P. R. Holmes, F.K. Crundwell, "Kinetic aspects of galvanic interactions between minerals during dissolution", *Hydrometallurgy*, n° 39, pp. 353-375, 1995.

- [43] E. Da Silva, "Review: Biotechnology: developing countries and globalization", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol 14, pp. 463–486, 1998.
- [44] G. Urbano, A. M. Meléndez, V. E. Reyes, M. A. Veloz, I. González, "Galvanic interactions between galena – sphalerite and their reactivity". *International Journal of Mineral Processing*, vol. 82, pp. 148–155, 2007.
- [45] P. K. Abraitis, R.A.D. Patrick, G. H. Kelsall, D.J. Vaughan, "Acid leaching and dissolution of major sulphide ore minerals: processes and galvanic effects in complex systems", *Mineralogical Magazine*, n° 68, vol. 2, pp. 343–351, 2004.
- [46] R. Cruz, R. M. Luna-Sánchez, G.T. Lapidus, I. González, M. Monroy, M., "An experimental strategy to determine galvanic interactions affecting the reactivity of sulfide mineral concentrates", *Hydrometallurgy*, n° 78, pp. 198– 208, 2005.
- [50] D. P. Kelly and A.P Wood, "Reclassification of some species of Thiobacillus to the newly designated genera Acidithiobacillus gen. nov., Halothiobacillus gen. nov. and Thermithiobacillus gen. nov.," *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, 2000.
- [51] G. Rossi (Eds.), "Biohydrometallurgy", McGraw-Hill Book Company GmbH, Hamburg, 1990.