

**BIOLIXIVIACIÓN PARA UNA MINERÍA LIMPIA Y AMIGABLE CON EL  
AMBIENTE**

**FRAY LUIS BAUTISTA LOBO**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA AMBIENTAL  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2016**

**BIOLIXIVIACIÓN PARA UNA MINERÍA LIMPIA Y AMIGABLE CON EL  
AMBIENTE**

**FRAY LUIS BAUTISTA LOBO**

**Monografía presentada como requisito para optar al título de  
Especialista en química ambiental**

**Director**

**MAIRA ALEJANDRA YEPES CASTAÑO**

**Bacterióloga y laboratorista clínico**

**Especialista en Epidemiología**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER**

**ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA AMBIENTAL**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE QUÍMICA**

**BUCARAMANGA**

**2016**

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
INTRODUCCIÓN	9
1. MARCO REFERENCIAL	13
1.1 ANTECEDENTES	13
1.1.1 Microorganismos identificados por la biolixiviación para la minería	15
1.1.2 Bacterias más utilizadas en la biolixiviación	17
1.1.3 Biopelículas	18
1.1.4 Medios de cultivo y aislamiento para identificación de microorganismo en la minería	19
2. LA MINERÍA Y LA BIOLIXIVIACIÓN	23
2.1 IMPACTO AMBIENTAL POR LA MINERÍA	23
2.1.1 Clasificación de los impactos de la minería	27
2.2 LA BIOLIXIVIACIÓN	28
2.2.1 Mecanismos de la biolixiviación	29
2.2.2 Mecanismo directo de la biolixiviación	30
2.2.3 Mecanismo Indirecto	31
2.3 METODOS DE BIOLIXIVIACION	35
2.3.1 La biolixiviación en pilas	35
2.3.2 Lixiviación “in situ”.	35
2.3.3 Lixiviación en montones	35
2.3.4 Lixiviación dinámica	36
3. SITUACION ACTUAL DE LA MINERÍA EN COLOMBIA	37
3.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA BIOLIXIVIACION	40
3.1.1 Ventajas	40
3.1.2 Desventajas	42
	5

4. CONCLUSIONES	43
BIBLIOGRAFIA	45

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Condiciones óptimas de bacterias asociadas a la lixiviación de minerales	16
<b>Tabla 2.</b> Algunas de las bacterias acidófilas que crecen en los ambientes de lixiviación de menas minerales..	18
<b>Tabla 3.</b> Impactos causados por la actividad minera	26
<b>Tabla 4.</b> Mecanismos de biolixiviación	29
<b>Tabla 5.</b> Reacciones que se suceden durante el lixiviado del Hierro. Aunque algunas pueden ocurrir químicamente el efecto catalizador de las bacterias es más importante.	33
<b>Tabla 6.</b> Unidades de producción minera con título y sin título minero.	38
<b>Tabla 7.</b> Tabla de departamentos: producción de carbón, metálicos, no metálicos y piedras	39
<b>Tabla 8.</b> Unidades de producción minera en explotación de metales.	40

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Esquema visualizando los distintos tipos de lixiviación de un sulfuro.	30
<b>Figura 2.</b> Mecanismo de biolixiviación directa.	31
<b>Figura 3.</b> Esquema del mecanismo indirecto de biolixiviación (Aguilera, 2007).	32
<b>Figura 4.</b> Esquema comparativo de los mecanismos de ataque indirecto propuestos por Sand. (A) vía tiosulfato y (B) vía piro sulfuró.	33

## RESUMEN

**TITULO:** BIOLIXIVIACIÓN PARA UNA MINERÍA LIMPIA Y AMIGABLE CON EL AMBIENTE.\*

**AUTOR:** FRAY LUIS BAUTISTA LOBO.\*\*

**Palabras clave:** biolixiviación, bacterias quiolitotróficas, minería, minerales refractarios, impacto ambiental, tecnología limpia.

**Introducción:** La minería a nivel mundial y nacional genera diariamente toneladas de contaminante que son arrojados a los diferentes afluentes hídricos, suelos y el aire en sus procesos de extracción y tratamiento de los diferentes minerales; la destrucción de una gran variedad de ecosistemas ha llevado a los grandes países, a la toma de conciencia sobre las consecuencias que trae el excesivo uso de sustancias químicas en la minería, que contaminan a nuestro planeta y el preocupante cambio del estado climático, el calentamiento global, toda esta problemática generada por el desarrollo antropogénicas.

Mediante una revisión bibliográfica relacionada con los diferentes problemáticas y soluciones mediante el uso de tecnologías limpias desarrolladas por el trabajo multidisciplinario de la biotecnología, la microbiología y la minera se creó la biolixiviación como una nueva alternativa para el proceso de minerales de baja ley y refractarios.

**Justificación:** La biolixiviación como tecnología aparece como una herramienta para desarrollar una minería limpia y amigable con el ambiente, los métodos y protocolos que nos brinda la biolixiviación permiten la identificación, aislamiento y cultivo de microorganismos que tienen la capacidad de disolver y exponer los minerales, mediante procesos metabólicos naturales en forma directa o indirecta en áreas donde se encuentran minerales de baja ley o refractarios que por métodos convencionales hacen que su explotación sea costosa y contaminante. Por ser una tecnología relativamente nueva tiene sus ventajas y desventajas en comparación con los métodos mineros actuales.

**Conclusión:** La biolixiviación es el futuro de la minería y del medio ambiente, el desarrollo y avance en esta área garantizan a las nuevas generaciones la disminución y mitigación de contaminantes que permitan preservar los recursos como el agua, los suelos y parte del aire.

---

\*Monografía de Grado

\*\*Universidad Industrial de Santander. Especialización En Química Ambiental. Facultad De Ciencias. Escuela De Química. Director: YEPES CASTAÑO Maira Alejandra. Bacterióloga, Laboratorista clínico y especialista en Epidemiología

## SUMMARY

**TITLE:** BIOLEACHING FOR A CLEAN MINING, FRIENDLY WITH THE ENVIRONMENT.\*

**AUTHOR:** FRAY LUIS BAUTISTA LOBO.\*\*

**Keywords:** bioleaching, chemolithotrophic bacteria, mining, refractory minerals, environmental impact, clean technology.

**Introduction:** Mining globally and nationally generated daily tons of pollutant that are thrown into the various water streams, soil and air in their process of extraction and processing of different minerals; the destruction of a variety of ecosystems has led to large countries, the awareness of the consequences it brings excessive use of chemicals in mining, polluting our planet and the worrying state of climate change, warming overall, all these problems generated by the anthropogenic development.

Through a literature review related to the different problems and solutions through the use of clean technologies developed by the multidisciplinary work of biotechnology, microbiology and mining bioleaching as a new alternative for processing low-grade ore and refractory was created.

**Justification:** Bioleaching as technology appears as a tool for developing a clean and environmentally friendly mining, methods and protocols which gives us the bioleaching allow the identification, isolation and cultivation of microorganisms having the ability to dissolve and expose minerals by processes natural metabolic directly or indirectly in areas where low-grade ores or refractory to conventional methods make harvesting is expensive and polluting are. Being a relatively new technology has its advantages and disadvantages compared to the current mining methods.

**Conclusion:** bioleaching is the future of mining and environmental conservation, development and progress in this area guarantee future generations the reduction and mitigation of pollutants that preserve resources such as water, soil and of the air.

---

\*Degree Paper

\*\*Universidad Industrial de Santander. Especialización En Química Ambiental. Facultad De Ciencias. Escuela De Química. Director: YEPES CASTAÑO Maira Alejandra. Bacterióloga, Laboratorista clínico y especialista en Epidemiología

## INTRODUCCIÓN

La minería es una actividad que comenzó como una de las ramas del desarrollo de los diferentes imperios hasta los gobiernos actuales a través de la obtención de minerales en su inicio como metales preciosos, metales de uso diario para forjar herramientas como el cobre, el hierro, el aluminio, el acero por aleaciones y otros compuestos que son base para formación, de productos industriales en todos los campos.

La biolixiviación es una rama de la biotecnología aplicada a la minería para una producción limpia y amigable con el ambiente. Uno de los primeros en estudiar y descubrir las bacterias quimiolitotróficas en la microbiología fue Sergei Winogradsky en el año de 1880, él aisló y describió las primeras bacterias quimiolitotróficas (Brannan, 1986). Luego, en los años 50, se dieron avances en los estudios sobre las bacterias en la minería y su capacidad de alimentarse de minerales con altos contenidos de sulfuros y sustancias que generan contaminación a nivel atmosférico, hídrico y edafológico.

La explotación indiscriminada en la industria minera y la liberación de sustancias como sulfuros generan gases, drenajes ácidos y residuos minerales que degradan y contaminan aguas, aire y suelos. El drenaje ácido se genera por la oxidación de los sulfuros metálicos y son soluciones que se caracterizan por tener valores bajos de pH y altas concentraciones pueden convertirse en un problema ambiental severo al contaminar suelos, sedimentos, aguas superficiales y subterráneas (Lin, Z. 1997). La minería se muestra como una actividad depredadora del medio ambiente, sin considerar que el problema no está en la minería como proceso, sino como se produce su explotación las políticas socioeconómicas y necesidades de las comunidades cerca a las áreas mineras donde se realizan estas actividades sin considerar el daño que causa al ambiente. La industria minero-metalúrgica, por

lo tanto, es considerada de alto impacto, pues afecta el ambiente desde el subsuelo hasta la estratosfera (Medraza, 2009; Bruguera, 2009; Gallardo, 2009; Pérez, 2009). El afán por la explotación minera y el uso de métodos convencionales, generan contaminación de forma indiscriminada a los grandes afluentes hídricos y suelos de cultivo, llevando al planeta a una de las más grandes problemáticas como el calentamiento global y contaminación progresiva del agua en sus diferentes estados naturales.

Los grandes avances en el campo de la microbiología y la biotecnología en sus diferentes procesos de desarrollo a través del método científico y el trabajo multidisciplinario en estudios de las especies microbianas nativas de las áreas mineras su actividad metabólica sobre los minerales y su capacidad de adaptación, dieron la pauta para crear la técnica llamada biolixiviación como herramienta para su aplicación en la minería, posibilitando una explotación sostenible y amigable con el ambiente. El proceso de biolixiviación se produce por la acción que ejercen los microorganismos sobre el material para compensar sus necesidades respiratorias y nutricionales de las menas, por ejemplo los microbios tales como bacterias y hongos convierten compuestos metálicos en sus formas solubles en agua y son biocatalizadores de estos procesos de lixiviación (Rodríguez, 2001).

Los microorganismo utiliza al mineral como combustible, utilizando la transferencia de electrones para sus propios propósitos de supervivencia, y liberando metales sin necesitar una aplicación externa de energía (Guerrero, 2014). La oxidación bacteriana depende del tipo de sulfuro a metabolizar ya que las bacterias presenta cierta selectividad para el consumo y metabolismo de los sulfuros, su capacidad de adherencia hacen la selectividad del microorganismo por hidrofobicidad, fuerzas electrostáticas y fuerzas de Van der Waals.

# 1. MARCO REFERENCIAL

## 1.1 ANTECEDENTES

La explotación minera es causa generadora de contaminantes que afecta las aguas, suelos y aire de las áreas cercanas a los sitios de desarrollo minero, la formación de drenajes ácidos, acumulación de metales pesados en el suelo, la liberación de material particulado en el aire son alarmas que indican que se deben realizar o tomar estrategias que reduzcan o minimicen, estos contaminantes el deterioro de los diferentes hábitats y ecosistema a nivel mundial (Sánchez, L. 2002). El uso excesivo de reactivos químicos para la extracción de los minerales, el uso de grandes hornos la emanación de gases tóxicos y residuos químicos que son descartados cerca de las áreas de explotación lleva a replantear y mirar otras opciones que permitan la extracción de material y la reducción de la contaminación.

La observación en la naturaleza de los diferentes procesos biológicos, permitió identificar que los microorganismos desde tiempos inmemorables cumplían esta función de forma natural; las bacterias como la minería siempre han estado una a la mano de la otra en la naturaleza realizando procesos biogeoquímicos en las diferentes canteras o menas a nivel mundial.

Los microorganismos siempre han existido desde del inicio de la vida en nuestro planeta la capacidad de adaptación a los diferentes cambios climáticos y lo simple de sus estructuras celulares y moleculares les permito acoplarse al medio. La mayoría de estos microorganismo obtienen la energía de los diferentes compuestos inorgánicos por lo que son llamadas quimiolitotróficas en el caso de las bacterias (Brock, 2010). La capacidad de ciertos microorganismos bacterianos y fúngicos de liberar los minerales de las rocas motivo a la microbiología para

crear protocolos de aislamiento e identificación de las bacterias quimiolitotróficas (Merino, J. 1973). Para la realización de estas actividades deben tomar las muestras de las áreas explotadas observando las cualidades del medio, como la acidez, temperatura y la baja concentración de materia orgánica disuelta en el medio para garantizar los resultados (Segura, D. 1998). En 1947, Colmer y Hinkle aislaron por primera vez la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*, y se observó que era capaz de oxidar el hierro (Lefimil, C. 2014).

La biotecnología se presenta como la conjugación de procesos y técnicas aplicadas a la gran diversidad de organismos para la obtención de productos de origen animal y vegetal en todas sus dimensiones desde lo macroscópico a lo microscópico para su mejoramiento y aprovechamiento de sus cualidades en las diferentes áreas para la obtención de productos de mejor calidad (Morris, M.S. 1989), la acción de la biotecnología en la biominería ofrece las técnicas para determinar que microorganismo son más aptos para iniciar los procesos de degradación y aprovechamiento de los minerales de baja ley y refractarios que por los métodos tradicionales o químicos de difícil extracción. La biotecnología brinda a la minería la oportunidad de obtener minerales disminuyendo sus impactos, y dándole una mayor sostenibilidad y rentabilidad.

Las tecnologías mineras actuales generan grandes residuos que impactan los diferentes ecosistemas que los rodean, la biolixiviación ofrece la reducción del uso de materias primas, energía y un control más directo sobre los residuos producidos durante los mecanismos de extracción de los minerales (Cortes, A. 1998). El procesamiento de los minerales y otros compuestos naturales que se encuentran en las diferentes menas en sus áreas de producción dispone de la biotecnología como base para establecer los procesos de biolixiviación para liberar de las rocas los compuestos que son causantes de contaminación en los procesos biogeoquímicos estimulados para la degradación del azufre y minerales sulfurados, en el cobre, plomo, zinc, hierro, níquel, uranio, materiales y derivados utilizando microorganismos de tipo acidófilas (Misari, Fidel; 1985), como

pretratamiento en la extracción de oro refractario antes de los procesos de lixiviación con cianuro (Hernández, G. et al., 1998). Se conocen como refractario aquel mineral que se encuentra en cantidades mínimas y de difícil extracción esta cualidad se presenta como oclusión o diseminación de finas partículas microscópicas menores a  $10\ \mu\text{m}$  que están encapsuladas con otros minerales sulfurados como la arsenopirita o arsénico sulfuro de hierro, pirita o sulfuro de hierro u óxido de sílice los cuales son difícil de obtener con los métodos convencionales de cianuración y lixiviación (Parga, J. 1996). La biolixiviación emplea los microorganismos de forma directa o indirecta, para disolver los sulfuros presentes en los minerales a partir de las rocas que los contienen. (Vázquez. C. 2007). La lixiviación bacteria o biolixiviación es un proceso natural donde la bacteria cumple un papel de catalizador liberando en forma soluble el mineral en medio de una solución ácida (Juárez, A. 2004).

**1.1.1 Microorganismos identificados por la biolixiviación para la minería.** La explotación minera y los diferentes microorganismos nativos que forman parte de los ecosistemas de las áreas al estar en contacto directo con los suelos y aguas se adaptan a las condiciones que implica la remoción y liberación de los suelos donde están presentes los diferentes compuestos químicos como metales pesados que al mezclarse con el suelo y los afluentes hídricos generan cambios e impactan la biota, por la generación de contaminantes limitan y transforman los hábitats y ecosistemas que se encuentran a su alrededor, por eso la importancia de identificar que individuos tienen la capacidad de soportar estos medios, para subsistir y aprovechar estas condiciones modificando su metabolismo en el medio (Hursthouse, A. 2001).

Las condiciones extremas de acidez, temperatura, humedad y limitados tipos de sustratos generaría a nivel bacteriano una muy escasa respuesta pero por lo contrario estos seres microscópicos han demostrado una gran capacidad de

adaptación permitiendo ver la diversidad de flora microbiana existente, con al menos 11 divisiones procariotas (Hallberg, K. 2001).

Las diferentes actividades tienen como propósito transformar las matrices insolubles en solubles de sulfuros a sulfatos metálicos solubles, en pretratamientos oxidativos para la obtención de metales preciosos o de importancia para la industria. Cabe destacar que no todos los minerales pueden ser trabajados por el mismo proceso de lixiviación bacteriana ya que las condiciones ambientales de cada región poseen su propio pool de microorganismos adaptados a las condiciones de su región o área de explotación (Rawlings, D. 2005), en la tabla 1 se muestran los microorganismos más representativos y las condiciones ambientales en las que se desarrollan.

**Tabla 1.** Condiciones óptimas de bacterias asociadas a la lixiviación de minerales

<b>Microorganismos</b>	<b>Fuente energética</b>	<b>pH</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
<i>Thiobacillus ferroxidans</i>	Fe <sup>+2</sup> , U <sup>+4</sup> , S <sup>0</sup>	1.5	25 - 35
<i>Thiobacillus thlooxidans</i>	S <sup>0</sup>	2.0	25 - 35
<i>Leptospirillum ferroxidans</i>	Fe <sup>+2</sup>	1.5	25 - 35
<i>Sulfolobus</i>	S <sup>0</sup> , Fe <sup>+2</sup> , C orgánico	2.0	> a 60
<i>Ácidophilium cryotum</i>	C orgánico	2.0	25 - 35
<i>Th. Intermedius</i>	S <sup>0</sup> , S <sup>-2</sup> , C orgánico	2.5	30
<i>Th. Napolitanas</i>	S <sup>0</sup> , S <sub>2</sub>	2.8	30
<i>Th. Acidophilus</i>	S <sup>0</sup> , S <sup>-2</sup>	3.0	
<i>Th. Thioparus</i>	S <sup>0</sup> , S <sup>-2</sup>	3.5	
<i>Thiobacillus TH2 y TH3</i>	Fe <sup>+2</sup> , S <sup>-2</sup>	6.0	50
<i>Metallogenium sp.</i>	Fe <sup>+2</sup>	4.5	
<i>Heterótrofos</i>	C orgánico		25 - 40

Fuente: Web. CODELCO.

**1.1.2 Bacterias más utilizadas en la biolixiviación.** La transformación biogeoquímica de los compuestos en la naturaleza la realizan los pequeños mineros microscópicos de origen bacteriano y fúngico son usadas en la transformación de los minerales que presentan oxidación tomando como energía para su metabolismo la oxidación del hierro y el azufre (Francisco, P. 2000). El *Thiobacillus ferroxidans* se encuentra en depósitos de calcopirita y pirita es uno de los más representativos en el campo de la explotación minera ya que posee la capacidad de catalizar compuestos reducidos de azufre y ion ferroso, utilizando oxígeno como aceptor electrónico y generando ácido sulfúrico como producto final (Rossi, G. 2001). *Thiobacillus thiooxidans* posee la capacidad de aumentar la velocidad de oxidación de las inclusiones de pirita en el carbón y fijar el carbón atmosférico para su metabolismo (Colmer, A., Hinkle, E. 1947) se caracterizan por estar en ambientes ácidos con pH menor a 3, con alta concentración de iones metálicos y la capacidad de usar el ion ferroso o los compuestos de azufre reducido como fuente de energía (Rawlins, D. 1998). *Acidithiobacillus ferroxidans*, se encuentra en depósitos de pirita es una bacteria del género *Acidithiobacillus*, mesófilas y se desarrollan en un rango de pH entre 1,8 y 2,0 oxida iones ferrosos en soluciones de ácido sulfúrico para obtener energía para crecer y fijar dióxido de carbono su tarea oxidando sulfuros en sulfatos solubles favorece su acción en la minería para la recuperación de minerales de baja ley (Menadier, M. (2009). *Leptospirillum ferroxidans* se encuentra en depósitos de pirita, calcorita, gossan entre otros, es una bacteria que requiere oxígeno para poder hacer su labor, usada en la extracción del cobre de la calcopirita ya que su alimento favorito es el hierro y presenta ventajas frente a otras como mayor adherencia a sólidos, amplio rango de temperatura y de pH, además su enzima (medio por el cual trabaja) tiene mayor grado de saturación como acción de su metabolismo la reacción consiste en hierro oxidado y azufre reducido el cual es aprovechado por otra bacteria el *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* que toma este producto como su principal alimento trabaja en amplios rangos de temperatura y pH, prefiere temperaturas de 50° C y un pH de 2 para su mayor

rendimiento. En el proceso de la obtención del cobre su trabajo es oxidar el azufre para producir ácido sulfúrico, compuesto de valor comercial. El *Thiobacillus caldus* se encuentra en depósitos de arsenopirita produce ácido sulfúrico, solo es capaz de lixiviar eficazmente sulfuros metálicos puros. *Sulfolobus metallicus* se encuentran en depósitos de pirita son suficientemente solubles (Semenza, M. et al .2000). Es un archaea termófilo extremo, autotrófico obligado, anaerobio facultativo y acidófilos que crece en ion ferroso, oxida compuestos de sulfuro inorgánicos o minerales sulfurados (Han C. J. 1998) posee una alta tolerancia a la presencia de iones metálicos, altas concentraciones de sulfato de cobre (Remonsellez y cols., 2006). *Ferroplasma acidophilium* es un organismo que carece pared protectora celular, se halla en áreas de drenajes de minas abandonadas los cuales son ambientes ricos en hierro , ácidos y en depósitos de pirita. (Baker, B., Banfield, J. 2003). En la tabla 2. Describe las fuentes de energía utilizada en su metabolismo por las bacterias acidófilas y el tipo de fuente primaria de dióxido de carbono.

**Tabla 2.** Algunas de las bacterias acidófilas que crecen en los ambientes de lixiviación de menas minerales..

Organismo	Fuente de energía	Temperatura de crecimiento	Fuente primaria del carbono	Ref.
<i>Thiobacillus Ferrooxidans</i>	Fe <sup>+2</sup> , U <sup>+4</sup> , S <sup>0</sup>	Mesófilo	CO <sub>2</sub>	(3)
<i>Lepstospirillum Ferrooxidans</i>	Fe <sup>+2</sup>	Mesófilo	CO <sub>2</sub>	(4)
<i>Thiobacillus Ferrooxidans</i>	S <sup>0</sup>	Mesófilo	CO <sub>2</sub>	(5)
Género <i>Sulfolobus</i>	S <sup>0</sup> , Fe <sup>+2</sup> , C org.	Termófilos	CO <sub>2</sub> C org.	(6 – 8)
<i>Acidophilium crytum</i>	C org.	Mesófilo	C org.	(9 y 10)
Bacterias similares a <i>Thiobacillus</i>	Fe <sup>+2</sup> , C org.	Termófilas Moderadas	CO <sub>2</sub> C org.	(11 y 12)

Fuente: Rev. Metalúrgica. Madrid. 24 (2). 1998

**1.1.3 Biopelículas.** Es la acumulación de bacterias, hongos y algas sobre una superficie donde crecen y se reproducen tomando el alimento del área donde se

encuentran formando colonias. Esta simbiosis favorece el desarrollo de cada uno de los individuos que forman parte en ese biopelícula ya que las secreciones, excreciones y residuos metabólicos sirven de alimento de una especie a otra (Betancourt, M et al. 2004). manteniendo un equilibrio a nivel de las minas estos consorcios microbianos establecen un control en sus actividades para garantizar el equilibrio en esos ecosistemas), cuando las condiciones son demasiado extremas los microorganismo se adaptan modificando su metabolismo y crecimiento formando pequeñas colonias (Berkeley, P. 2006) asociándose a otras especies para garantizar la supervivencia de esta manera en condiciones normales mientras habitan áreas que no han sido explotadas por la minería se mantienen en un estado de latencia no forman estas asociaciones,(Stewart, 2003, Harrison et al., 2005 y Martínez et al., 2006, Molokwane, P.E., Nkhalambayausi-chirwa, E.M., 2009), la capacidad de soportar condiciones extremas no está ligada a ninguna alteración genotípica sino a una característica fenotípica donde su crecimiento es lento permitiendo a las especies de una manera extrema enfrentar la amenaza ambiental (Stewart, 2003, Harrison et al., 2005 y Martínez et al., 2006).

**1.1.4 Medios de cultivo y aislamiento para identificación de microorganismo en la minería.** La gran variedad microbiana y las capacidades de adaptación de sus poblaciones forman consorcios que cumplen la función de biodegradadores en los suelos y aguas contaminadas su evolución ha servido para determinar las cualidades adaptativas para tomar los contaminantes y transformarlos en sustancias más simples lo cual ha permitido profundizar en el conocimiento acerca de la composición de las comunidades microbianas presentes en suelos contaminados, así como su evolución durante los procesos de biodegradación, para determinar cuáles son los microorganismos capaces de adaptarse a los hábitats contaminados (Silva, R., Miladis, C., Gómez, J. 2008).

Las actividades metabólicas de los microorganismos actúan en procesos de los ciclos biogeoquímicos, las bacterias quimiolitótrofos y fotótrofos son capaces de oxidar el azufre elemental y convertirlo en sulfato, otros mineralizan el azufre en compuestos orgánicos, además otras especies bacterianas intervienen en el ciclo del hierro en su solubilización pasando de férrica a ferrosa en una forma más soluble colocando a disposición de otras especies de organismos.

La toma de las muestras se debe hacerse en los sitios mineros por las áreas donde están los drenajes y de rocas, en frascos de vidrio estériles estas deben ser embaladas en cavas a temperaturas de 20 a 45 grados centígrados (Corrales. L; Sánchez. L. 2008). Los drenajes ácidos de las minas se identifican por acidez extrema (pH 2.5-4.0) y altas concentraciones de metales pesados, como los son Cu, Pb, Zn, Fe, Ni, donde se encuentran poblaciones nativas o propias del área de explotación existen bacterias oxidantes, capaces de metabolizar por oxidación progresiva los sulfuros presentes en el mineral. Las muestras se colocan en reposo a temperatura ambiente para facilitar que las bacterias ferruginosas y sulfuradas sobrevivan. Las muestras de roca se maceran con el fin de liberar las bacterias que pueden estar en las muestras. Se siembran en el medio de cultivo líquido 9k se deja incubar por siete días para aumentar la concentración de las bacterias y facilitar su aislamiento, luego de ser incubadas por siete días se hace una nueva siembra para aislamiento en el medio sólido 9k con un asa calibrada de 10 µl y siembra por estría se incuba a 37 grados centígrados por siete días a 5% de CO<sub>2</sub> (Agudelo J, Betancur U, Largo M. 2002). Dentro de los microorganismos encontrados en los ambientes ácidos y dentro de la familia de los procariontes se ha identificado las bacterias del género de *Thiobacillus*, *Leptospirillum* y *acidophilium* (Segura, D., 1998), capaces de contribuir en la degradación de sulfuros metálicos que se encuentra en minerales de baja ley o refractarios (Segura, D. 1998). Una buena toma de muestra de los drenajes mineros permite en agarosa libre de sustancias orgánicas para la preparación del medio, en este se usan agarosa, alcohol y agua destilada el cual es sometido a un mezclado por

agitación, se descarta el sobrenadante de alcohol, se repite el proceso el proceso de lavado dos veces con alcohol y una con agua destilada para eliminar el resto de alcohol, al terminar se agrega agua destilada y se lleva al autoclave para garantizar su esterilización.

Para la solución de Holmes se preparan con medio 9K, sulfato ferroso heptahidrato con acidez de 2 y agua destilada acida más una solución de sulfato ferroso con acidez 2 más agua destilada esterilizada y filtrada, se mezcla todos estos compuestos mencionados anteriormente y se obtiene un medio de cultivo óptimo para siembra y aislamiento de bacterias quimiolitotróficas (Quintana, M., Ly, J. Beuer et al.). Los medios de cultivo 9K y T&K, son los medios más utilizados para el crecimiento de *Acidithiobacillus*, (Barrie, J., 2006). Los medios líquidos como el 9K modificado son los más recomendados para aislamiento y crecimiento bacteriano, mientras que los medios sólidos son para obtención de cepas puras para el posterior análisis y estudio (Álvarez, M. 2005). Las bacterias sulforeductoras también utilizan como medio de cultivo el medio mineral postgate C modificado 0.5 de Hidrogeno fosfato de potasio, 4,5 de sulfato de sodio, 1g de cloruro de amonio, 0,06g de sulfato de magnesio con 7 de agua, 0,06g de cloruro de calcio y 6 de agua, 0.3 g de citrato de sodio y 0,004 de sulfato de hierro más 7 de agua y como fuente de carbón papel higiénico o periódico 2:1 (Guitierrez, A. et al, 2009). El crecimiento de las poblaciones bacterianas es exponencial en tiempos muy cortos, el cultivo de una especie bacteriana, permite descubrir sus necesidades metabólicas y condiciones ambientales que favorezcan su replicación y mantener un buen banco de las cepas cultivadas, para garantizar que las colonias cultivadas sobrevivan para continuar sus estudios (Garcés. M., Betancur. A., Agudelo. L., Macías. K., Salinas. A. 2006).

### Preparación del medio líquido 9k

se utilizan: 0.025 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  , 0.01g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 9g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.025g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

Se disolvieron los sólidos en 250 ml de agua destilada a pH final de 1.5, ajustado con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10 N y se esterilizan por autoclave a 121 libras de presión por 15 minutos (Corrales, et al; 2006).

Preparación del medio 9K sólido (5- 6). se generan dos soluciones:.

La solución A: 1.75 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  , 0.029 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.058g  $\text{KCl}$ , 0.029 g  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0.0084 g  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  , se disuelve en 210 ml de agua destilada ajustada a pH 1.9 con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10 N y esterilizada por autoclave a 121 libras de presión por 15 minutos.

La solución B: 37.3 g de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  en 290 ml de agua destilada a pH 1.9 con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10 N, 12 gr de agarosa. No se esterilizo por autoclave para evitar precipitación de compuestos y desnaturalización de la agarosa.

Una vez esterilizada la solución A, se filtró y mezcló con la solución B y se lleva a ebullición. Posteriormente se sirven en cajas de Patrie 15 ml de medio, se enfrían y refrigeran (Corrales, et al; 2006).

## 2. LA MINERÍA Y LA BIOLIXIVIACIÓN

### 2.1 IMPACTO AMBIENTAL POR LA MINERÍA

La minería en su desarrollo genera una gran variedad de impactos que afectan de diferentes maneras las áreas de explotación y las aledañas trayendo como consecuencia la contaminación progresiva de suelos, la tala de bosques nativos para la obtención de madera y el apuntalamiento de socavones también en las minas, además generan lixiviados, podemos mencionar la contaminación de grandes extensiones de suelos y cuerpos de agua, así como la transformación del paisaje a través de la destrucción de cerros, la construcción de diques y la acumulación de colas de minerales (Bady, I., Mancilla S. 2006). La minería como actividad antropogénica siempre está la búsqueda de materias primas para sus grandes industrias, la minería en su acción tiene en cuenta tres razones principales para la explotación de un mineral los cuales le aseguran que la inversión realizada para la extracción será recompensada con grandes cantidades del mineral de interés y estas son:

- Yacimientos con concentraciones altas del mineral.
- Que la explotación genere gran rentabilidad y sustentabilidad.
- Se fácil su transporte y tratamiento hacia la diferentes industrias siderúrgicas.

Un ejemplo claro de por qué la minería es de impacto al ambiente es que una mina que posee cobre al 1% toma una tonelada de material, extrae 10 kilogramos de cobre y quedan 990 kilogramos de residuos esto es una demostración de las consecuencias que trae la extracción de un mineral ahora imaginemos este procedimiento en metales preciosos o de carácter energético como el uranio la

contaminación es severa en comparación con otros minerales. La generación de una gran cantidad de residuos que son potencialmente nocivos para el ambiente son la mayor causa de impacto ambiental en las áreas de explotaciones y sus alrededores, sin tener en cuenta los factores climáticos que favorecen por la acción de las lluvias y afluentes hídricos la disolución de los compuestos que quedan en los materiales de relave o colas, la acción del viento en el arrastre de material y conducción de los gases tóxicos provenientes de los hornos de fundición de la siderúrgicas. El uso de precursores químicos para el tratamiento de los minerales generan una gran variedad de contaminantes hídricos como ácidos de origen metálicos en forma de iones de Cu, Zn, Pb, Fe, Cd, As, Ni, otros contaminantes están en los procesos de tostación minera aurífera como el cianuro de sodio, espumas, sulfato de sodio, el uso de sales de aluminio y hierro, residuos de explosivos (nitrógeno), aceites y petróleo usados para el mantenimiento de la maquinaria de excavación ( Vega, A. 1999).La calidad del aire se ve afectado por la emisión de material partícula proveniente de la explotación y tratamiento de los minerales extraídos estos a su generan gases tóxicos la generación de los contaminantes dependerá del tipo de mineral y el riesgo que este posee para la salud un ejemplo de estos son como altos niveles de arsénico, radio nucleótidos, plomo, uranio, plutonio los cuales tienden a ser los más peligrosos para el ambiente por sus características nocivas, además del tipo de explosivos que también generan gases y partículas que afectan todo el ambiente (Vega,1999), la obtención de minerales con altas carga de sulfuro metálicos son los generadores de drenajes ácidos que contaminan suelos y aguas con acidez menores de 3 y concentración de elementos altamente tóxicos disueltos se combinan con los suelos por donde pasan los afluentes hídricos, provenientes de las minas generando una contaminación masiva de los ecosistemas a través de sus suelos y aguas de superficie y subterráneas ( Lin, et al, 1997.,Moncur et al.,2004., Bain et al ., 2000., Armienta et al.,2001., Jung, 2001)en la contaminación de los suelos la comunidad científica estableció unos parámetros o niveles de referencia, que identifican y manejan los contaminantes

en los suelos para esto es necesario conocer los valores de los elementos potencialmente tóxicos, presentes en las áreas de estudio (Navas and Machín, 2002; Hamon et al., 2004). La minería dependiendo de la extracción del yacimiento y su ubicación se podría clasificar de la siguiente manera:

- Minería subterránea es la que se lleva a cabo en el interior de la corteza terrestre a través de túneles o cavernas.
- Minería de perforación ideal para mineral en estado líquido o gaseoso conocida como minería de pozos o de petróleo y sus derivados.
- Minería a cielo abierto o de superficie cuando el mineral está ubicado a poca profundidad.
- Minería de dragado realizada en ríos y el mar a través de barcazas o buques debidamente equipados para la extracción. En la **tabla 3**. Se expresan las condiciones que generan impacto ambiental por la actividad minera

**Tabla 3. Impactos causados por la actividad minera**

ACCION	PROBLEMAS AMBIENTALES	ATENUANTES NATURALES
Minería a cielo abierto	<p>Fuerte impacto visual en el caso de las canteras explotadas en laderas de montañas. Impacto menor si es una corta (rajo) desarrollada por debajo de la cola media.</p> <p>Graves problemas por la inmensa acumulación de residuos en escombreras (botaderos), particularmente en regiones lluviosas y montañosas.</p> <p>Formación de drenajes ácidos en las escombreras.</p> <p>Probable formación de un lago de drenajes ácidos interior una vez terminada la actividad minera.</p> <p>Contaminación de las aguas subterráneas.</p>	<p>La ausencia de sismicidad importante y el clima árido contribuyen a una mejor estabilidad de las escombreras.</p> <p>Si la roca encajante es caliza el problema de drenaje ácido se minimiza al igual que rocas ígneas con los feldespatos.</p>
Minería subterránea	<p>Potenciales colapsos localizados del terrenos en superficie una vez cesada la actividad minera.</p> <p>Formación de drenajes ácidos.</p> <p>Contaminación de las aguas subterráneas.</p>	<p>Si la roca encajante es caliza el problema de drenaje ácido se minimiza al igual que rocas ígneas con los feldespatos.</p>
Voladura de rocas y tráfico de vehículos	Generación de polvo	Problema menor en regiones lluviosas
Flotación	<p>Formación de grandes volúmenes de colas acumuladas en balsas (relaves).</p> <p>Inestabilidad de las balsas.</p> <p>Potencial formación de drenaje ácido en las balsas.</p>	<p>La ausencia de sismicidad importante y el clima árido contribuyen a una mejor estabilidad de las escombreras.</p> <p>Si los materiales y/o la ganga son carbonatados el problema de drenaje ácido se mitiga considerablemente.</p> <p>Suelos carbonatados neutralizarán las soluciones ácidas e impedirán un desarrollo en profundidad del problema.</p>
Fundición	<p>Escape a la atmosfera de SO<sub>2</sub>.</p> <p>Escape de particulado aéreo</p>	
<p>Lixiviación en pila 1: ácida.</p> <p>Lixiviación en pila 2: cianurada</p>	<p>Rotura en la base impermeable de una pila e infiltración de la solución ácida al subsuelo.</p> <p>Dispersión de aerosoles.</p> <p>Rotura en la base impermeable de una pila e infiltración de la solución cianurada al subsuelo.</p> <p>Rotura de un dique de contención de las soluciones cianuradas.</p> <p>Dispersión de aerosoles.</p>	<p>Si las soluciones pasan a suelo de la base de la pila y este es calcáreo, la solución se neutralizara.</p> <p>Corta vida del cianuro CN en la naturaleza el cual se degrada a NH<sub>4</sub> y CO<sub>3</sub>.</p>

Fuente: GEMM-Aula2punto.net:aulados.net/GEMM/GEMM.html

**2.1.1 Clasificación de los impactos de la minería.** Estos impactos afectan de forma directa la actividad socioeconómica:

- Impacto directo: Son aquellos que observamos a simple vista como el polvo, ruido, emisión de gases por la maquinaria utilizada para la extracción y transformación del mineral, explosiones, fluidos e impacto visual como cambios en el paisaje, tala de árboles y socavones, drenajes como causa de la explotación y tratamiento de los minerales.
- Impacto indirecto: Son aquellos que afectan a las comunidades aledañas y dueños de predios donde se realiza la actividad minera, infraestructura, expropiación de tierras, desplazamientos, y discriminación.

Los efectos directos son los causantes de los cambios en el ambiente la emisión de gases como dióxidos de azufre que contribuyen con la formación de las lluvias ácidas, la lixiviación de metales pesados por efluentes químicos provenientes de los relaves formando los drenajes ácidos, otros factores contribuyen al calentamiento global entre otros. Por otra parte la acción indirecta del impacto afecta a la población ya que la actividad minera mantiene su economía mientras esta está en producción ya que se ven directamente relacionados por los empleos y regalías que las empresas mineras generan en las áreas cercanas a la explotación minera (Oyarzun, R. 2010).

**2.1.1.1 Minerales de baja ley y refractarios sulfurados.** Son minerales que presentan concentraciones bajas de metales de interés como oro, plata, uranio, cobre, níquel y se encuentran mezclados con otros compuestos que dificultan la extracción, los cuales deben ser sometidos a procesos químicos como la tostación de cianuro para obtención de oro y de calentamiento que no casi siempre garantizan la extracción de estos minerales el uso de microorganismos en estos procesos como pre-tratamiento facilitan en el tratamiento un mayor

porcentaje de obtención del mineral de interés como los son los metales preciosos. (Azañero, A., et al 2009).

## 2.2 LA BIOLIXIVIACIÓN

La técnica de la biolixiviación es aplicada con mayor énfasis en minerales sulfurados como la pirita ( $\text{FeS}_2$ ), esfalerita ( $\text{ZnS}$ ), galena ( $\text{PbS}$ ), calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) entre otros las bacterias mediante la liberación de iones férricos sobre los minerales liberan el azufre y el ion ferroso oxidados por la presencia de oxígeno el cual utilizan como fuente de energía (Sand W, et al 2001). La solubilización de los metales usa la biolixiviación como pre tratamiento en otros procesos para la extracción de metal que se encuentra encapsulado un ejemplo de esto es el oro el cual se encuentra encapsulado en la arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ), en este caso los microorganismos rompen el encapsulado de la arsenopirita que contiene el oro dejándolo libre luego es lixiviado por cianuración este proceso también se realiza para extracción de plata y uranio (C. Brierley, 2008).

Los hongos y bacterias cumplen funciones de absorción de iones metálicos en la superficie microbiana; la penetración al interior del citoplasma de los metales mediante vacuolas o proteínas transportadoras. Estos microorganismos presentan cargas ionizadas aniónicas opuestas a nivel de la membrana celular, en los que se incluyen los diferentes grupos como: fosforil  $\text{PO}_3^-$ , Carboxil  $\text{COO}^-$ , sulfhidril  $\text{HS}^-$  y el hidroxil  $\text{OH}^-$ .

El estudio de estos microorganismos es tan fundamental para la aplicación en la ciencia moderna, ya que estas aplicaciones permiten a los científicos identificar otras funciones que anteriormente eran desconocidas que son útiles en la industria de alimentos. Microorganismos como: *Sachamoycess cerevisiae* (bacteria) y *Rhizpus arrizus* (hongo) los cuales absorben uranio; otras especies como la

*Spliaelotirus leptothriz* absorbe metales pesados (Arsénico (As), Cadmio (Cd), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Mercurio (Hg)

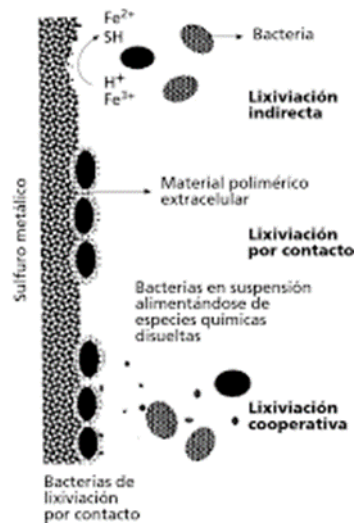
*Hypomicrobium Spp* lo hacen con el manganeso, la *gallionella* lo hace con el hierro, otros encapsulan el mineral como el *Pedromicribum Spp* con el oro (Alpaca, M. 1998) *Arsenito oxidizing* cepa LR1, del orden  $\beta$ -Proteo bacteria está relacionada con la movilización de oro en minas australianas (Santini, J., et al 2010).

**2.2.1 Mecanismos de la biolixiviación.** La acción de las bacterias sobre el mineral para la obtención de su alimento mediante procesos bioquímicos, propone que los microorganismos utilizan dos mecanismos en el cual cumplen una función biocatalítica o de canalización enzimática mediante el contacto de forma directa o indirecta el proceso de la biolixiviación ocurre mediante dos mecanismos: el directo y el indirecto (Rivera, R et al., 2010), )El mecanismo directo involucra la catálisis bacteriológica de la disolución de sulfuros minerales, mediante la interacción bacteria-mineral cuando ésta se encuentra adherida a la superficie del mineral; Mientras que en el mecanismo indirecto las bacterias catalizan la oxidación de Fe II a Fe III, este último actúa como oxidante en la disolución del mineral. Los mecanismos de la biolixiviación están especificados en la tabla 4.

**Tabla 4.** Mecanismos de biolixiviación

DIRECTO: Ataque enzimático, el contacto físico entre bacteria y mineral es necesario.
INDIRECTO: Ataque químico por productos del metabolismo ( $Fe^{3+}/H^+$ ), el papel de la bacteria es regenerar el medio oxidante
MIXTO O COOPERATIVO: Ambos mecanismo se llevan a cabo simultáneamente.

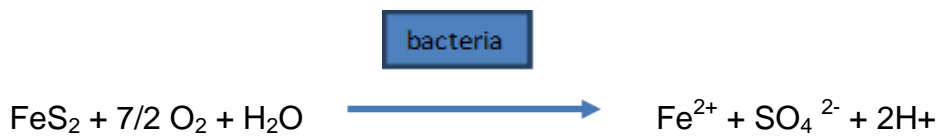
Fuente: Rev.Madrid.37(2001).<http://revistametalurgica.revistas.csic.es>



**Figura 1.** Esquema visualizando los distintos tipos de lixiviación de un sulfuro.

### 2.2.2 Mecanismo directo de la biolixiviación.

Las acción de los microorganismos se da en forma directa sobre la superficie del mineral al adherirse y liberando una actividad enzimática de oxidación sobre, por el cual hay un transporte de electrones que ocurre desde la parte reducida del mineral hasta el aceptor final de electrones, que por lo general es el oxígeno disuelto (Ballester, 2005). Este mecanismo particularmente es para la pirita, se puede representar mediante la siguiente reacción:



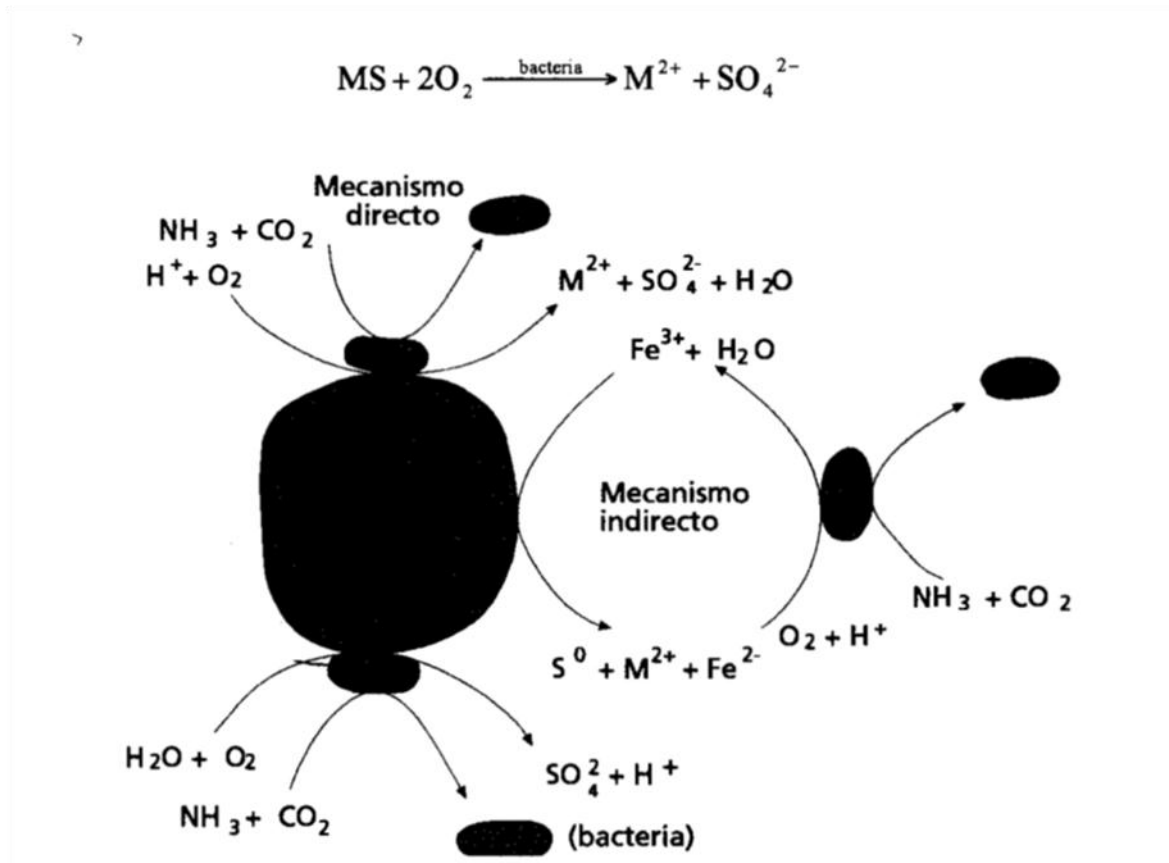
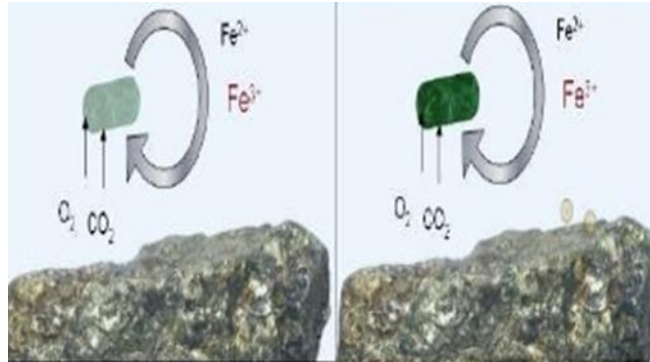


Figura 2. Mecanismo de biolixiviación directa.

La biodesulfurización es un proceso de remoción de pirita en el carbón al ser el compuesto que se encuentra en mayor proporción (Kiani et al., 2014; Caicedo y Márquez, 2013; Cardona y Márquez, 2009; Malik et al., 2004; Loi et al., 1994). Los sulfuro se transforma en un compuesto soluble en medios ácidos (sulfatos), por acción de los iones férricos actúan como agentes oxidantes y el oxígeno molecular es el aceptor final de electrones (Schippers, 2007).

**2.2.3 Mecanismo Indirecto.** Es un proceso sinérgico entre la oxidación química de metales sulfurosos por los iones  $Fe^{3+}$  y la re-oxidación biológica o enzimática de estos iones (Rohwerder y Sand, 2007), la interacción del mineral con los producto intermedios del metabolismo bacteriano un ejemplo claro de esto es la

pirita y su disolución (Gómez y Cantero, 2005), el azufre que se forma es oxidado por la bacteria en ácido sulfúrico (Ehrlich, H., Fox, S. 1997).

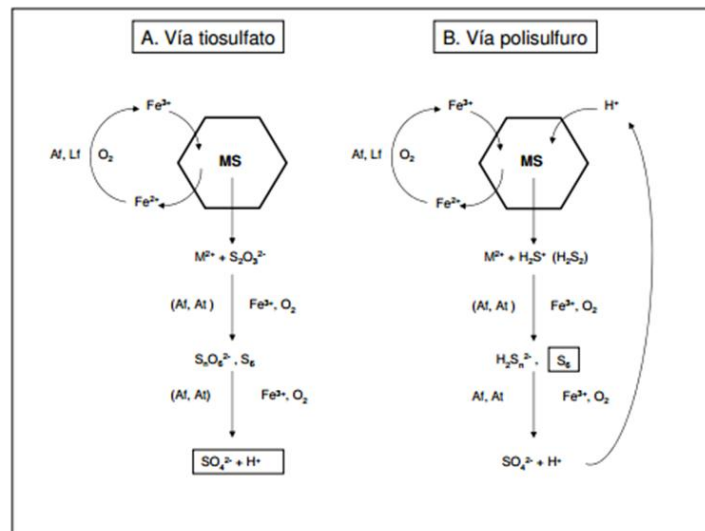


**Figura 3.** Esquema del mecanismo indirecto de biolixiviación (Aguilera, 2007).

Vía del tiosulfato: ocurre por la oxidación de sulfuros no solubles en ácido (pirita, molibdenita, wolframita), esta vía se da ya que las bandas de valencia se forman por combinación procedentes de orbitales de átomos metálicos, los sulfuros solo ceden electrones desde bandas de valencia del metal. se pueden romper por varias etapas de oxidación del ion férrico estas reacciones en los sulfuros no generan azufre como producto final sino tiosulfatos como primer producto liberado por los sulfuros de 6 procesos sucesivos de oxidación este luego es transformado tetrionato y otros politionatos hasta ser convertido en sulfato, esto ocurre en bacterias ferro-oxidantes (Schipper y Sand, 1999, Sand et al., 2000, Ballester 2006).

Vía polisulfuro: Ocurre por la oxidación de sulfuros solubles en ácido (calcopirita, esfalerita, galena, entre otros). Esto se da por un intercambio de electrones entre las bandas del metal con las bandas del azufre en el caso del hierro férrico los electrones pueden eliminar bandas de valencia se generan a partir de orbitales procedentes tanto del metal como azufre del sulfuro, en este caso tanto el hierro férrico como los protones pueden eliminar electrones de la banda de valencia, causando la rotura de la unión metal azufre. esta pérdida de electrones es

regulada por los poli sulfuro que son productos intermedios y tiene como resultado la formación de azufre elemental y oxidados hasta forma ácido sulfúrico (Schippers & Sand, 1999, Sand et al., 2000, Ballester 2005). La vías del mecanismo indirecto de biolixiviación están representadas en la figura 4; así mismo se mencionan las diferentes reacciones químicas del hierro de los mecanismo biolixiviación.



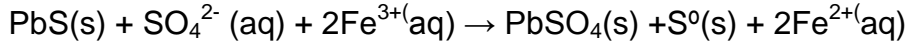
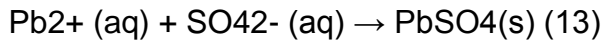
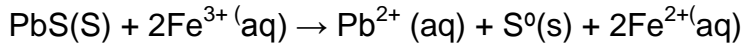
**Figura 4.** Esquema comparativo de los mecanismos de ataque indirecto propuestos por Sand. (A) vía tiosulfato y (B) vía pila sulfuró.

**Tabla 5.** Reacciones que se suceden durante el lixiviado del Hierro. Aunque algunas pueden ocurrir químicamente el efecto catalizador de las bacterias es más importante.

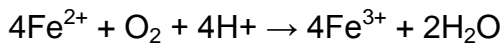
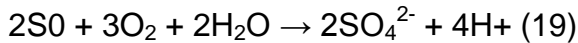
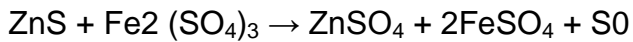
	Reacción	Tipo
1	$4 \text{FeS}_2 + 14 \text{O}_2 + 4 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 4 \text{FeSO}_4 + 4 \text{H}_2\text{SO}_4$	Bacteriana
2	$4 \text{FeSO}_4 + \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow 2 \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + 2 \text{H}_2\text{O}$	Bacteriana
3	$4 \text{FeS}_2 + 15 \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + 2 \text{H}_2\text{SO}_4$	Bacteriana
4	$\text{FeS}_2 + 6 \text{Fe}^{3+} + 3 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{S}_2\text{O}_3^{2-} + 7 \text{Fe}^{2+} + 6 \text{H}^+$	Bacteriana
5	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + 8 \text{Fe}^{3+} + 5 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{SO}_4^{2-} + 8 \text{Fe}^{2+} + 10 \text{H}^+$	Bacteriana
6	$\text{MS} + \text{Fe}^{3+} + \text{H}^+ \rightarrow \text{M}^{2+} + 0,5 \text{H}_2\text{S}_n + \text{Fe}^{2+} (n \geq 2)$	Bacteriana
7	$0,5 \text{H}_2\text{S}_n + \text{Fe}^{3+} \rightarrow 0,125 \text{S}_8 + \text{Fe}^{2+} + \text{H}^+$	Bacteriana
8	$0,125 \text{S}_8 + 1,5 \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2 \text{H}^+$	Bacteriana

Fuente: Ehrlich, H., Fox, S. (1967)

Reacción de galena o sulfuro de Plomo:



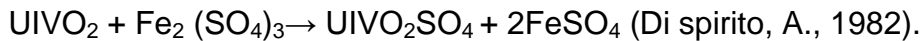
Reacción de Esfalerita o sulfuro de Zinc:



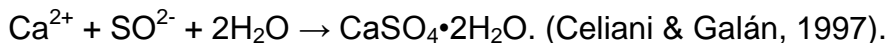
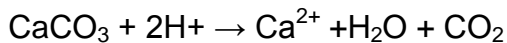
Reacción de Jarosita, Hidrato de Hierro:



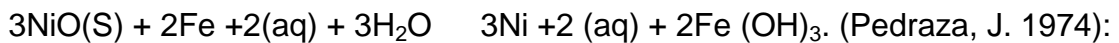
Reacción de Uranio:



Reacción de carbonato de calcio o yeso:



Reacción de Níquel:



Los elementos que forman los compuestos más oxidados en la naturaleza y forman parte del proceso metabólico de las bacterias biolixiviadoras son aquellos con alto y bajos contenidos de azufre como el ácido sulfhídrico, el azufre elemental y el tiosulfito que tiene como resultado y producto final de la oxidación es el ácido sulfúrico.

Los ambientes ácidos se forman por dos condiciones una son las zonas volcánicas por la producción de compuestos azufrados debido a la oxidación de

sulfuros metálicos y las otras antropogénicas por la actividad minera ( Johnson, 1995 ).

## **2.3 METODOS DE BIOLIXIVIACION**

**2.3.1 La biolixiviación en pilas.** Para este proceso se debe triturar el material extraído y depositado en unas pilas bañadas por una solución ácida donde están contenidas las bacterias lixiviantes con capacidad de oxidar azufre y hierro, esta solución o mezcla es percolada en la pilas (Comisión Chilena del Cobre Cochilco. 2009) para la liberación del mineral.

**2.3.2 Lixiviación “in situ”.** Es aquella que se realiza directamente en el área de explotación minera, donde ya se ha extraído la mayoría del mineral y solo queda aquel mineral de baja ley o concentración, su extracción es difícil por métodos químicos, el procedimiento consiste en regar las paredes con la solución lixiviante previamente el área fisurada o porosa para facilitar la acción de los microorganismos sobre estas áreas y así extraer el resto de mineral que se encuentra en el sitio (Gómez, E.1994).

**2.3.3 Lixiviación en montones.** Se prepara el terreno con material de impermeabilización para poder recoger el producto cuando este es regado por la solución ácida con microorganismo el cual es impregnado en los montones o montículos de material el cual presenta un tamaño más uniforme facilitando la acción del lixiviado en este caso, el mineral no es tan pobre como en el caso in situ, el tamaño de las partículas de mineral es mucho más uniforme y la lixiviación del metal es más rápida de esta manera cuando la solución ha hecho su trabajo es recogido en una canaletas donde luego es procesado para recuperar el materia (Kuenen, J. 1993)

**2.3.4 Lixiviación dinámica.** Es aquella que se realiza con el material extraído llevado a reactores donde se combinan con la solución acida que contiene las cepas de microorganismos encargados de exponer el mineral sometido en proceso de mezcla y agitación obteniéndose una solución homogénea y garantizando una mayor eficiencia en la producción esta técnica se usa en la extracción de menas refractarias de oro y plata (Gómez, E.1994).

### **3. SITUACION ACTUAL DE LA MINERÍA EN COLOMBIA**

Debido a las alzas en ciertos minerales de interés mundial como los son el oro y el carbón Colombia está siendo vista de una manera propicia por las grandes multinacionales que desean explotar estos valiosos recursos de nuestro país, la inversión extranjera a sido desde US\$ 11.900 millones para el último quinquenio, se estima que las exportaciones alcanzaran valores de US\$ 54 mil millones en el 2021 (Ronderos, M., 2011) en Colombia la explotación minera

El reciente censo minero departamental colombiano 2010-2011, realizado por el ministerio de minas y energía y recientemente publicado indican que ilegalidad minera del país es de un 63% en comparación con la minería legal.(Contraloría general. Contraloría delegada de minas y energía). Las unidades de producción minera en Colombia censadas indican un total de 14.357 minas donde el 63% no presentan título minero lo que corresponde a 9041 minas que trabajan sin la supervisión y control del estado la mayoría de estas se encuentran en el departamento de Antioquia con un total de 2021 donde 424 presenta título minero lo que corresponde al 14.1% y 1601 sin título minero que corresponde al 79.1% permitiendo el desarrollo de la minería ilegal (tabla 6)

**Tabla 6.** Unidades de producción minera con título y sin título minero.

Departamento	Total		Con título minero		Sin título minero	
	UPM	%Fila	UPM	%Fila	UPM	%Fila
<b>Total</b>	14.357	100,0%	5.316	37,0%	9.041	63,0%
<b>Antioquia</b>	2.025	14,1%	424	20,9%	1.601	79,1%
<b>Atlántico</b>	266	1,9%	29	10,9%	237	89,1%
<b>Bolívar</b>	1.432	10,0%	85	5,9%	1.347	94,1%
<b>Boyacá</b>	2.649	18,5%	1.804	68,1%	845	31,9%
<b>Caldas</b>	203	1,4%	55	27,1%	148	72,9%
<b>Caquetá</b>	219	1,5%	207	94,5%	12	5,5%
<b>Cauca</b>	544	3,8%	68	12,5%	476	87,5%
<b>Cesar</b>	135	,9%	121	89,6%	14	10,4%
<b>Córdoba</b>	303	2,1%	14	4,6%	289	95,4%
<b>Cundinamarca</b>	1.391	9,7%	695	50,0%	696	50,0%
<b>Chocó</b>	527	3,7%	4	,8%	523	99,2%
<b>Huila</b>	418	2,9%	308	73,7%	110	26,3%
<b>La Guajira</b>	282	2,0%	5	1,8%	277	98,2%
<b>Magdalena</b>	564	3,9%	5	,9%	559	99,1%
<b>Meta</b>	109	,8%	64	58,7%	45	41,3%
<b>Norte de Santander</b>	858	6,0%	464	54,1%	394	45,9%
<b>Risaralda</b>	161	1,1%	28	17,4%	133	82,6%
<b>Santander</b>	1.055	7,3%	477	45,2%	578	54,8%
<b>Tolima</b>	316	2,2%	129	40,8%	187	59,2%
<b>Valle Del Cauca</b>	249	1,7%	50	20,1%	199	79,9%
<b>Arauca</b>	45	,3%	19	42,2%	26	57,8%
<b>Casanare</b>	105	,7%	82	78,1%	23	21,9%
<b>Putumayo</b>	501	3,5%	179	35,7%	322	64,3%

Fuente: Contraloría General de Colombia. Sección: Minas y Energía

Los departamentos más productores de carbón en Colombia se encuentran en los departamentos de Boyacá con un 56.1%, Norte de Santander con un 49,4% Valle del Cauca con un 43,8% y Cundinamarca con un 43,4% en relación con los demás departamentos del país.(tabla 9). La explotación de minas con metales encontramos a los departamentos del Choco con un 99.7 %, Caldas con 89,2%, Bolívar con un 87,6%, y Antioquia con un 75,8 (tabla 7).

**Tabla 7.** Tabla de departamentos: producción de carbón, metálicos, no metálicos y piedras

Departamento	Total		Carbón		Metálicos		No Metálicos		Piedras	
	UPM	%Fila	UPM	%Fila	UPM	%Fila	UPM	%Fila	UPM	%Fila
<b>Total</b>	14,357	100.0%	2,778	19,3%	4,545	31,7%	6,755	47,1%	266	2,0%
<b>Antioquia</b>	2,025	14,1%	135	6,7%	1,534	75,8%	358	17,7%	-	,0%
<b>Atlántico</b>	266	1,9%	-	,0%	-	,0%	266	100,0%	-	,0%
<b>Bolívar</b>	1,432	10,0%	-	,0%	1,255	87,6%	148	10,3%	1	,1%
<b>Boyacá</b>	2,649	18,5%	1,437	56,1%	36	1,4%	831	33,3%	254	9,6%
<b>Caldas</b>	203	1,4%	-	,0%	181	89,2%	26	12,8%	-	,0%
<b>Caquetá</b>	219	1,5%	-	,0%	44	20,1%	178	81,3%	-	,0%
<b>Cauca</b>	544	3,8%	10	1,8%	170	31,3%	367	67,5%	-	,0%
<b>Cesar</b>	135	,9%	-	,0%	14	10,4%	107	79,3%	-	,0%
<b>Córdoba</b>	303	2,1%	1	,3%	37	12,2%	270	89,1%	-	,0%
<b>Cundinamarca</b>	1,391	9,7%	604	43,4%	7	,5%	744	53,5%	30	2,2%
<b>Chocó</b>	527	3,7%	-	,0%	525	99,6%	2	,4%	-	,0%
<b>Huila</b>	418	2,9%	2	,5%	94	22,5%	326	78,0%	1	,2%
<b>La Guajira</b>	282	2,0%	-	,0%	-	,0%	282	100,0%	-	,0%
<b>Magdalena</b>	564	3,9%	-	,0%	6	1,1%	561	99,5%	-	,0%
<b>Meta</b>	109	,8%	-	,0%	-	,0%	109	100,0%	-	,0%
<b>Norte de Santander</b>	858	6,0%	424	49,4%	8	,9%	426	49,7%	1	,1%
<b>Risaralda</b>	161	1,1%	2	1,2%	51	31,7%	110	68,3%	1	,6%
<b>Santander</b>	1,055	7,3%	4	,4%	268	25,4%	791	75,0%	-	,0%
<b>Tolima</b>	316	2,2%	-	,0%	98	31,0%	222	70,3%	-	,0%
<b>Valle del Cauca</b>	249	1,7%	109	43,8%	5	2,0%	136	54,6%	-	,0%
<b>Arauca</b>	45	,3%	-	,0%	-	,0%	45	100,0%	-	,0%
<b>Casanare</b>	105	,7%	-	,0%	-	,0%	105	100,0%	-	,0%
<b>Putumayo</b>	501	3,5%	-	,0%	212	42,3%	295	58,9%	-	,0%

Hay departamentos que solo producen un tipo de material, como el caso de los "No metálicos" en Atlántico, La Guajira, Magdalena, Meta Arauca, Casanare y para el caso de "Metálicos", el Chocó predomina.

Fuente: Contraloría General de Colombia. Sección: Minas y Energía

La explotación minera del oro es una de la actividades que genera mayor contaminación de los recursos hídricos en Colombia de las 4133 minas existentes 3584 no presentan título minero lo que corresponde al 86.7% la mayoría de estas son las generadoras de problemas de ilegalidad (tabla 8).

**Tabla 8.** Unidades de producción minera en explotación de metales.

Mineral	Total		Con título minero		Sin título minero	
	UPM	% Col	UPM	% Fila	UPM	% Fila
Total	4,545	100.0	62	13.6%	3,62	79.8
Oro	4,133	90.9	54	13.3%	3,58	86.7
Plata	304	6.7%	15	51.0%	149	490
Platino	112	2.5%	5	4.5%	107	95.5 %
Concentrado de cobre	66	1.5%	33	50.0%	33	50.0 %
Hierro	35	.8%	33	94.3%	2	5.7%
Plomo	4	.1%	2	50.0%	2	50.0
Ferroníquel	1	.0%	1	100.0 %	-	.0%
Sin información	296	6.5%	9	3.0%	287	97.0 %

Fuente: Contraloría General de Colombia. Sección: Minas y Energía

### 3.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA BIOLIXIVIACION

**3.1.1 Ventajas.** La utilización de los microorganismo en la industria minera se basa en la capacidad de soportar medios ácidos bajos lo cual les permiten cumplir funciones que a nivel químico no darían el mismo resultado ya que estos tienen la capacidad de convertir sólidos en soluciones solubles acidas liberando el mineral de interés, además estos no necesitan de requerimientos nutricionales exigentes

ya que todo lo toman del medio donde se desarrollan y soportan altas temperaturas.

La adquisición del material biológico como las bacterias y hongos no necesitan ser comprados o exportados pues se deben tomar las muestras de las áreas mineras de su suelo y drenajes donde se encuentran estos microorganismos que ya están adaptados a las condiciones ambientales esto favorece en el momento de aislar y cultivar las cepas idóneas para la biolixiviación del mineral.

No se necesita de mucha inversión de capital para la producción de microorganismos mineros en comparación con los insumos químicos utilizados en la minería convencional.

Por ser de carácter biológico se disminuyen la emisión de gases y partículas al ambiente garantizando una mitigación de los contaminantes que con la industria minera actual sería imposible además de la producción de elevadas temperaturas como los procesos de tostación para la extracción de oro y otros minerales.

Permite el aprovechamiento de los minerales refractarios y de baja ley que con métodos industriales aumentaría la liberación de partículas de azufre y arsénico que son contaminantes eliminados por los hornos de fundición.

Además de servir como procesos mineros también pueden utilizarse como procesos industriales en la recuperación de metales que se encuentran por su explotación escasos en el medio favoreciendo su reusó como celulares y equipos electrónicos.

Su función como recuperadores de suelos como ocurre en áreas contaminadas por el uso excesivo de explosivos y recuperación de minerales energéticos de alta

radioactividad como el uranio permiten la recuperación de los hábitats que han sufrido el impacto por la acción minera.

**3.1.2 Desventajas.** Debido a su proceso metabólico las bacterias tienden a producir grandes cantidades de ácidos que se filtran y drenan hacia las aguas subterráneas.

Las condiciones ambientales como bajas temperaturas el metabolismo disminuyen a nivel de las bacterias y con ello la lixiviación del mineral.

Las bacterias utilizan más tiempo para cumplir con su función de catalizar los minerales en comparación con el proceso químico industrial, además del tamaño del material y garantizar por un sistema la temperatura de viabilidad bacteriana.

## 4. CONCLUSIONES

El trabajo multidisciplinario entre la minería, la biotecnología y la microbiología es primordial para garantizar la evolución de la biolixiviación a través de procesos de mejoramiento de las especies bacterianas que las haga más resistentes a las condiciones ambientales y al incremento de su actividad metabólica favoreciendo la extracción y lixiviación del material de interés.

La calidad de la biolixiviación está relacionada con la obtención de muestra de calidad de los microorganismos nativos para su aislamiento, identificación y cultivo de cepas puras, teniendo en cuenta las condiciones ambientales del área de explotación minera, ya que esto permite que no presenten respuestas antagónicas en el momento de ser usadas como micro herramientas para el aprovechamiento máximo para la obtención de aquellos minerales que por su combinación con otros compuestos oxidados dificultan su extracción por los métodos mineros industriales o tradicionales.

El estudio y mejoramiento de las especies nativas mediante biología molecular favorece el desarrollo de especies más aptas y resistentes a las condiciones ambientales, evitando que pierdan su capacidad de respuesta metabólica.

Aunque es una tecnología nueva lleva más de 40 años de estudio ha demostrado ser muy útil, ya que sirve como pre tratamiento en procesos mineros conocidos como biooxidación de metales los cuales usan los microorganismos como primera etapa que exponga el mineral antes del proceso de tostación como el oro, entre otros.

En países como México, Chile, Perú, China, viene usando esta tecnología de biolixiviación ya presentan grandes avances en la extracción de materiales como

cobre, níquel, oro, carbón y otros materiales, ya que el abuso en la explotación los lleva en la búsqueda de nuevas técnicas que les permitiera aprovechar aquellos elementos que se encuentran rodeados de sulfuros y hierro como los más importantes aceptores en los procesos metabólicos bacterianos.

En Colombia el trabajo minero no está muy bien calificado ya que la mayoría de la explotación minera se realiza de forma ilegal garantizando el arrojamiento de grandes cantidades de sustancias químicas contaminantes como ocurre en la minería aurífera, grandes cantidades de mercurio son usadas para extraer el oro en la parte industrial el uso de cianuro después de procesos de lixiviación química, la generación de gases con altas cargas de azufre y arsénico que contaminan la atmósfera, el arrastre de material por los suelos que contaminan los suelos con metales pesados y la descarga de los ácidos en los procesos mineros en los afluentes hídricos son la fuente de preocupación, para la nueva era en la búsqueda de tecnologías limpias que permitan trabajar a las grandes multinacionales y estas a su vez sean sustentables y eficientes tanto para el ambiente como para las comunidades que conforman los cordones de desarrollo como mano de obra para estas empresas.

## BIBLIOGRAFIA

1. Arias, V., Rodríguez, C., & Ramírez, P. (2012). Aislamiento de bacterias acidófilas a partir del drenaje ácido proveniente de las inmediaciones a las unidades mineras de Julcani y Recuperada, Huancavelica. Rev. Inst. investig. Fac. minas metalcienc. Geogr. Vol 15. N-30. 59-66.
2. Agudelo J, Betancur U, Largo M. (2002). Biolixiviación de minerales sulfurosos. Revista Facultad de Ingeniería. Universidad de Antioquia. pp.27
3. Acevedo, F; Fentina, J. 2005. Fundamentos y perspectivas de las tecnologías biomineras. Archivos de ingeniería química. Ed Universitarias de Valparaíso. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Chile
4. Agudelo J, Betancur U, Largo M.(2002). Biolixiviación de minerales sulfurosos. Revista Facultad de Ingeniería. Universidad de Antioquia. pp. 27.
5. Alpaca, M. (1998). Biolixiviación nueva: la opción metalúrgica. Rev. del instituto de investigación. Vol 1. N-2. pág. 1-6.
6. Álvarez, M. (2005). Microbial treatment of heavy metal leachates. Doctoral. Thesis. Suecia.
7. Arce .C., Peña., L. Gómez. A., Pacheco. Y., Vásquez., Quiroga .Y. 2015. Biolixiviación, extracción de metales a partir de Circuitos impresos usados. Universidad De Santander. Esc. Ing. Química, Bucaramanga. pp. 7-12
8. Arias Arce, V., Coronado Falcón, R., & Puente Santibáñez, L. (2005). Refractariedad de Concentrados auríferos. Rev. Inst. investig. Fac. minas metalcienc. Geogr. Vol 8. N-16. pp. 5-14.
9. Armienta, M., Villaseñor, G., Rodríguez, R., Ongley, L., Mango, H. (2001). The role of arsenic-bearing rocks in groundwater pollution at Zimapán Valley, México: Environmental Geology. Vol 40. N- 4. pp. 571-581.
10. Azañero, A., Núñez, P. Aramburu, B. (2009). Factores que afectan la selección del proceso metalúrgico para beneficiar minerales complejos de oro. Revista del instituto de investigación FIGMMG. Vol.12 N-24. pp. 46-55.

11. Bady, I., Mancilla S. (2006) Tecnologías limpias en la industria minera boliviana .Carrera de Ingeniería Geológica y del Medio Ambiente –UMSA. La Paz – Bolivia. pp. 181-184.
12. Bain, J.G., Blowes, D.W., Robertson, W.D., Frind, E. (2000). Modelling of sulfide oxidation with reactive transport at a mine drainage site: Journal of Contaminant Hydrology. Vol 41.N-1. pp. 23-47
13. Baker, B., Benfield, J. (2003). Microbial communities in acid mine drainage. FEMS microbial. ECOL. Vol 44. pp. 139-142.
14. Stewart, P.S.(2003). Diffusion in Biofilms. Journal of Bacteriology. Vol 185. N-5. pp. 1485–1491.
15. Barrie, J. (2006). Biohydrometallurgy and the environment: intimate important interplay. Hidrometallurgy. Vol 83. pp. 153-166.
16. Berkeley, P. (2006). Nano organisms: probe of acid mine drainage turns up unsuspected virus-sized archae. University of California. Science daily. <http://www.sciencedaily.com/releases/2006/12/061222092509.htm>
17. Betancourt, M., Bolero, J., Rivera SP. (2004). Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo. Revista Colombiana Médica. 35. volumen 3. pág. 34-39.
18. Bifani, P. (1986). Nuevas tecnologías, Ambiente y Desarrollo: Algunas reflexiones y ejemplos de las posibilidades de la biotecnología. Revista Ambiente y Desarrollo. Vol 2. N-3. pp. 9-24
19. Bosecker, K. (1997). Bioleaching. Metal solubilization by microorganism. FEMS. Microbiology reviews. N-20. pp. 591-604.
20. Brannan, D., Caldwell, J. (1986). Ecology and Metabolism of *Thermothrix thioporo*. Advances in applied microbiology. pp.31, 233.
21. Bryner, C., Beck, J., Davis, D., Wilson, D. (1954). Ind.Engin.Chem.46 2587-2592. Bryner, C; Jamenson, A. 1958. Appl., Microbiol(1958). pp. 281-287
22. C. L. Brierley, 2008. "Biomining—Extracting metals with microorganisms," Brierley Consultancy LCC, Fact sheets.

23. Caicedo G, Prada M, Peláez H, Moreno C, Márquez M, (2012). Evaluation of a coal bio desulfurization process (semi-continuous mode) on the pilot plant level. *Dyna*. Vol 174. pp. 114-118.
24. Cardona I, Marquez M, (2009). Biodesulfurization of two Colombian coals with native Microorganisms. *Fuel Processing Technology*. Universidad Nacional de Colombia.
25. Carranza Mora, F., Iglesias González, M. N., & Palencia Pérez, I. 1998. La Biolixiviación como pretratamiento de menas auríferas refractarias en matriz de sulfuros.
26. Colmer, A.R., Hinkle, M.E. (1947). The Role of Microorganisms in Acid Mine Drainage: Preliminary Report. Agricultural y Engineering Experiment Stations, West Virginia University.
27. Comisión Chilena Del Cobre Cochilco. (2009). Biolixiviación, desarrollo actual y sus expectativas. Santiago de Chile.
28. Contraloría General. Contraloría delegada minas y energía. (2013). La explotación ilícita de recursos minerales en Colombia Casos Valle del Cauca (Río Dagua) – Chocó (Río San Juan) Efectos sociales y ambientales.
29. Lucia Constanza Corrales, Ligia Consuelo Sánchez, Paula Sánchez Cortes, Alba Sánchez León, Viviana Sánchez Quintero, Julieth Zárate Díaz. (2006). Estudio piloto de aislamiento y fenotipificación de bacterias que participan en los procesos de biolixiviación, en las zonas mineras del Departamento de Boyacá. Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
30. Corona, M. (2011). Historia de la Biotecnología y sus aplicaciones. Obtenido de: <http://siladin.cch>.
31. CORTES, A. L. (1998). Ecología y biotecnología de las comunidades microbianas. Clonar o no clonar. pp11.
32. D.E. Rawlings. (2005). Review. “Characteristics and adaptability of iron –and sulfur– oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates”. *Microbial Cell Factories*,

33. Deng, X., Chai, L., Yang, Z., Tang, C., Wang, Y., & Shi, Y. (2013). Bioleaching mechanism of heavy metals in the mixture of contaminated soil and slag by using indigenous *Penicillium chrysogenum* strain F1. *Journal of hazardous materials*, 248, 107-114.
34. Di spirito, A., Touvinen, O. (1982). Uranueus ion oxidation and carbono dioxide fixation by *thiobacillus ferrooxidanta*. *Arch. Microbiol.* Vol 113. pp. 28-32
35. Díaz, F. (2014). Mercurio en la minería del oro: impacto en las fuentes hídricas destinadas para consumo humano. *Revista de Salud Pública*, 16(6), 947-957.
36. Ehrlich, H., Fox, S. (1967). *Biotechnol. Bioing.* Vol 9. pp. 471-485.
37. Francisco P. Gordillo Espinosa., Víctor A. Sanmartín Gutiérrez, Fabián H. (2000). Carrión Mogrovejo. Estudio de microorganismos nativos en procesos de biooxidación de minerales auríferos refractarios. Universidad Técnica Particular de Loja. pp. 1-8
38. Garcia, O., Bigham, J., Tuovinen. O. (1995). Sphalerite oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*. *Can. J. Microbiol.* Vol 41. pp. 578-584.
39. Garcés. M ., Betancur. A., Agudelo. L., Macías. K., Salinas. A. (2006). Aislamiento de consorcio de microorganismos degradadores de cianuro. *Revista Lasallista de Investigación.* Vol 3. pp. 7-12
40. Gómez, E. (1994). Aislamiento y caracterización de microorganismos de aguas de minas: aplicación a la lixiviación de sulfuros complejos polimetálicos. Universidad complutense de Madrid. Facultad de ciencias biológicas. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. pp. 5-6
41. Gómez, E. (1994). Aislamiento y caracterización de microorganismos de aguas de minas: aplicación a la lixiviación de sulfuros complejos polimetálicos. Universidad complutense de Madrid. Facultad de ciencias biológicas. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. pp. 5-6

42. González, Á. (2005). Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Terra Latinoamericana, Vol. 23, N- 1, Chipango, México. pp. 29-37
43. Guerrero, J. 2005. Cianuro: Toxicidad y destrucción biológica. Revista El ingeniero de Minas, 10(35).
44. Guerrero, J. 2014. Aplicabilidad de la Biolixiviación como un método sustitutivo de la amalgamación con mercurio para la recuperación del oro en la minería artesanal del Sur de Perú Escuela Politécnica Superior d'Enginyeria de Manresa. p 19-25
45. Güiza, L. (2011). Perspectiva jurídica de los impactos ambientales sobre los recursos hídricos provocados por la minería en Colombia. Opinión Jurídica, edición especial, pp. 123-140 - ISSN 1692-2530
46. Gutiérrez, R., Terrazas, A., Álvarez, L. (2009). Cultivo a escala de laboratorio de bacterias sulfato reductoras acidófilas y su aplicación en procesos de biorremediación utilizadas para la precipitación de metales pesados. Rev. Biofarbo. Vol: 17 pp. 1-9.
47. Hallberg, K., Johnson, D. (2001). Biodiversity of acidophilic prokaryotes. Adv. Appl. Microbiol. Vol 49. pp. 37-84.
48. Hamon, R., McLaughlin, M., Gilkes, R., Rate A., Zarcinas, B. (2004). Geochemical indices allows estimation of heavy metal background concentration in soils: Global Biochemical Cycles. pp. 18, 1-6
49. Han C. (1998). "Physiological studies of extremely *Thermoacidophilic* microorganisms under Normal and stressed conditions". Disertación como requerimiento parcial para optar al grado de Doctor en Ingeniería Química. Universidad del Estado de Carolina del Norte, EE.UU.
50. Harrison, J., Ceri, H., Roper, N., Badry, E.A., Sproule, K., Turner, R.J. (2005). Persister cells mediate tolerance to metal oxyanions in *Escherichia coli*. Microbiology. Vol 151. pp. 3181–3195.

51. Hendryx M., Fedorko E., Halverson J. (2010). Pollution sources and mortality rates across Rural-urban areas in the United States. *J Rural Health*. Vol 26. pp. 383-391.
52. Hernández G. et al. (1998). Aislamiento y caracterización de bacterias tiosulfato reductoras no sulfato reductoras en digestores anaerobios mesofílicos. V Taller y Seminario Latinoamericano Tratamiento anaerobio 10 de aguas residuales, Viña del Mar, Chile. Pp 1-8
53. Hernández, O., Castro, F., Páez, M. (2013). Bioacumulación de mercurio en larvas de anuros en la zona afectada por la minería de oro en el río Dagua, Buenaventura, Valle del Cauca, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias, Departamento de Biología.
54. Holzer, K. (2007). Cuantificación de bacterias en procesos de Biolixiviación mediante nmp-pcr. Memoria para optar al título de ingeniero civil en biotecnología. Universidad de Chile facultad de ciencias físicas y matemáticas departamento de ingeniería química y biotecnología. Chile.
55. Hurst house, A.S., 2001. The Relevance of Speciation in the Remediation of Soils and Sediments Contaminated by Metallic Elements-An Overview and Examples from Central Scotland, UK. *Journal of Environmental Monitoring*. Vol 3. N-1. pp. 49-60
56. Johnson D.B., Hallberg K. (2003). The microbiology of acidic mine waters.
57. Juárez, A. (2004). Biolixiviación de minerales sulfuro-ferroso en jales: de microorganismos involucrados. Universidad de Colima. Facultad de biología y ciencias agrarias.
58. Kiani M.H, Ahmadi., Zilouei H, (2014). Biological removal of sulphur and ash from fine-grained high pyritic sulphur coals using a mixed culture of mesophilic microorganisms. *Fuel*. Vol 13. pp.89–95
59. Kuenen J.G., Pronk J., Hazeau W., Meulemberg R., Ros P. (1993). A review of bioenergetics and enzymology of sulfur compound oxidation by acidophilic thiobacilli. En "Biohidrometallurgical technologies". Bis. A.E. Torma, ML. Apel, C., Brierley. *Proceedings of an International Biohydrometallurgy*

- Symposium, Jackson Hole, Wyoming, USA. Publicado por TMS. Vol 2. pp. 487-494
60. Lawrence, R.W y Poilin, R. (1995). "The demand for biotechnology in mining in the 21ST century". En: International Biohydrometallurgy Symposium (1°, Viña del Mar, Chile, 1995).185-195p.
61. Lefemil, C. (2014). Regulación de los niveles intracelulares del represor transcripcional Fur de *Acidithiobacillus ferrooxidans*.
62. Lin, Z. 1997. Mobilization and retention of heavy metals in mill-tailings from Garpenberg sulfide mines, Sweden. *Science of the total environment*, 1981, 13-31.
63. Lin, Z., (1997). Mobilization and retention of heavy metals in mill-tailings from Garpenberg sulfide mines, Sweden: *Science of the Total Environment*, Vol 198.N-1. pp. 13-31.
64. Lobos, J. E., Dos Santos, J. L., Residente, P. J., de Hidrología, C. G., CETESB, B. D., de Fernícola, N., & de Ecología, C. P. 1990. Manual de evaluación y manejo de sustancias tóxicas en aguas superficiales. H. J. Salas (Ed.). Cepis.
65. Lock, D. H. 2012. Aplicaciones en la biometalúrgica. *Revista de Química*, 23(1-2), 25-30
66. M. Márquez, (1999). "Mineralogía dos processos de oxidacao sobre pressao e bacteriana do minerio de ouro da mina Sao Bento, MG", Universidad de Brasilia.
67. Mancera-Rodríguez, N. J., & Álvarez-León, R. 2006. Estado del conocimiento de las concentraciones de mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, Vol 11. N-1. pp. 3-23.
68. Martinez, R.J., Wang, Y. Raimundo, M.A., Coombs, J.M., Barkay, T., Sobecky, A. (2006). Horizontal Gene transfer of PIB- Type ATPases among Bacteria Isolated from Radio-nucleotide and Metal-Contaminated Subsurface Soils. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 72. N-5. pp. 3111-3118.

69. Medraza, F., Bruguera, N., Gallardo, D., Pérez, G. 2009. Análisis de los impactos negativos generados por la actividad minera-metalúrgica en la zona de Santa Lucía. CIGET. Pinar del Río. Vol .11
70. Mejía, E., Osorno, J. Ospina. (2014). Microorganismos Hierro–Azufre Oxidantes Una Alternativa Biotecnológica. Institución Universitaria Pascual Bravo. Medellín. Colombia.” Revista CINTEX, Vol. 19, pp. 63-77.
71. Menadier, M. (2009). Biolixiviación de piritas por *Acidithiobacillus ferrooxidans* y cepas nativas. Universidad de Chile facultad de ciencias físicas y matemáticas departamento de ingeniería química y biotecnología
72. Méndez, J., Ramírez, C., Gutiérrez, A., & García, F. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, Vol 10. N-1. pp. 29-44.
73. Merino, J L (1973). Aislamiento y caracterización de bacterias en aguas de la mina de radores y su comportamiento de pirita. Junta de energía nuclear.
74. Michael T., Martinko, M., Paul V. Dunlap, David P. Clark (2012). Brock biología de los microorganismos. Editorial: Pearson. Ed. Duodécima edición *Microbiology* 154: 466–473.
75. Ministerio de minas y energía. (2003). glosario técnico minero. República de Colombia .Bogotá D.C.
76. Misari, F. (1985). Tecnologías de Lixiviación Bacteriana de Minerales. Lima-Perú
77. Molokwane, P.E., Nkhalambayausi-Chirwa, E.M. (2009). Microbial Culture Dynamics and Chromium (VI) Removal in Packed-column Microcosm Reactors. *Water Science and Technology*. Vol 60. N- 2. pp. 381-388.
78. Moncur, M.C., Ptacek, C.J., Blowes, D.W., Jambor. J.L., (2004). Release, transport and attenuation of metals from an old tailings impoundment: *Applied Geochemistry*. Vol 20. pp. 639-659
79. Morris, M. (1989). Historia de la biotecnología. *Ciencia y desarrollo*. Vol 84. pp. 19-32.

80. Navas, A., Machín, J. (2002). Spatial distribution of heavy metals and arsenic in soils of Aragon (northeast Spain): controlling factors and environmental implications: Applied Geochemistry. Vol 17. pp. 961–973.
81. Ossa, D. M., & Márquez, M. A. 2007. Biooxidación de sulfuros mediante cepas nativas de acidófilos compatibles con Acidithiobacillus ferrooxidans y thiooxidans, mina de oro el Zancudo, (Titiribí, Colombia). Revista Colombiana de biotecnología. Vol 7.N-2. pp. 55-66.
82. Oyarzun, R., (2011). Minería ambiental: una introducción a los impactos y su remediación. Ed. GEMM.
83. Panebianco, V., Simonetti, P., Buzzi, N., & Delucchi, F. (2013). Ciclo de metales pesados. Procesos Químicos en Estuarios. Universidad tecnológica nacional. Argentina.
84. Parga, J. R., & Carrillo, F. R. (1996). Avances en los métodos de recuperación de oro y plata de minerales refractarios. Revista de Metalurgia. Vol 32. N-4. pp.254-261.
85. Pedraza, J. E. (1974): "Lixiviación de Lateritas Niquelíferas Colombianas", Tesis Magister, Universidad de Chile, Santiago. pp. 40-41.
86. Quartacci, M., Argilla, A., Baker, A., y Navari, F. (2006). Fitoextracción de metales de un suelo contaminado se multiplican por mostaza de la India. Chemosphere, 63 (6), 918-925.
87. Quintana, M., Ly, M., Bauer, J., Espinoza, M (1995). Avances en la caracterización molecular de los microorganismos biooxidantes en tanques industriales de biooxidación de arsenopirita para la recuperación de oro y en drenajes ácidos de minas: Reporte preliminar. Instituto Peruano de Energía Nuclear. Departamento de Biología Universidad Peruana Cayetano Heredia, Unidad de Biotecnología Molecular. Laboratorio de Biominería y Medio Ambiente Laboratorios de Investigación y Desarrollo. pp. 166-171.
88. Rawling, D.E. (1998). "Industrial practice and the biology of leaching of metals from ores: The 1997 Pan labs lecture". Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology .Vol 20. pp. 268-274

89. Remonsellez F., Orell A., Jerez, C. A. (2006). "Copper tolerance of the thermo acidophilic archaeon *Sulfolobus metallicus*: possible role of polyphosphate metabolism". *Microbiology* 152: pp.59-66.
90. Rivera, R., Camejo, P., Moya, F., López-Méndez, J. L., & Munguía-Bravo, M. (2011). Estudio de biolixiviación de un mineral de sulfuros de cobre de baja ley con bacterias Tio-Y Ferro-oxidantes en condiciones termófilas. *Revista de la facultad de ingeniería. Universidad de Atacama*. pp 26.
91. Rivera, R.,-Santillán, P., Camejo, Y., Moya, F., López, J., Munguía. M. (2010). Estudio de biolixiviación de un mineral de sulfuros de cobre de baja ley con bacterias tio- y ferro-oxidantes en condiciones termófilas. *Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, MÉXICO. Unidad Minera La Caridad*. pp. 1.8
92. Rodríguez, Y., 2000. Tesis Doctoral` Contribución del estudio del mecanismo de biolixiviación de di sulfuros metálicos con bacterias mesofilas y termófilas. *Universidad Complutense. Madrid. España*.
93. Rodríguez, Y., Blázquez, M. L., Ballester, A., González, F., & Muñoz, J. A. 2001. La Biolixiviación al comienzo del siglo XXI. *Revista de metalurgia*, 37(5), 616-627.
94. Rohweder, T., Gehrke, T., Kinzler, K., Sand, W (2003). Bioleaching review part A: progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidations. *appl. microbiol.biotechnol.* N- 63. pp. 239-248.
95. Ronderos, M. T. (2011). La fiebre minera se apoderó de Colombia. *Revista semana*, 163716-3.
96. Rossi, G.( 2001). The design of Bioreactor. *Hidrometallurgy*. Vol 59.
97. Roussel, C., Bril, H., Fernandez, A. (2000), Arsenic speciation: Involvement in evaluation of environmental impact caused by mine wastes: *Journal of Environmental Quality*, 29. Vol 1. pp. 182-188
98. Ruiz, L., Hernández, G., Tsuchiya, j. (1988). Lixiviación bacteriana sobre muestras de carbón. *Tecnol. Ciencia. Universidad Autónoma de Mexico*. Vol 3. pp. 26-32

99. Saavedra, A., Cortón, E. (2014) Biotecnología microbiana aplicada a la minería Revista Química Viva, Laboratorio de Biosensores y Bioanálisis (LABB). Departamento de Química Biológica e IQUBICEN-CONICET. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos. Argentina Número 3.
100. Sánchez, J. M., & Enríquez, S. M. 1996. Impacto ambiental de la pequeña y mediana minería en Chile. Informe preparado para el Banco Mundial y IDRC de Canadá. Publicado en el estudio "Environmental Study of Artisanal, Small and Medium Mining in Bolivia, Chile and Perú", Washington DC, EEUU.
101. Sánchez, L. E. (2002). Impactos sobre los ecosistemas. Notas de clases dictadas en el II curso internacional de aspectos geológicos de protección ambiental. Oficina Regional de Ciencia de la UNESCO para América Latina y el Caribe. Montevideo, Uruguay, 322-331.
102. Sand W, Gehrke T, Jozsa P, Schippers A (2001) (Bio) chemistry of bacterial leaching—direct vs. indirect bioleaching. Hydrometallurgy Vol 59. pp. 159–175.
103. Sand, W., Gehrke, T., Hallmann, R., Schippers, A (1995). Sulfur chemistry biofilm and (in) direct attack mechanism—a critical evaluation of bacterial leaching. Appl. Microbiol. Biotechnol. N- 43. pp. 961-966.
104. Santini J., Sly L., Wen A., Comrie D., De Wulf-Durand P., Macy J. (2010) Geomicrobiol. J. 19: 67-76.
105. Schipper, A., Rohwerder, T., Sand, W. (1999). Intermediary sulfur compounds in pyrite oxidation: implications for bioleaching and biodepyritization of coal. Appl. Microbiol. N- 65. pp. 319-321.
106. Segura, D. (1998). Aislamiento e identificación de bacteria ferrooxidantes y sulfooxidantes de área minera de riotinto. Departamento de Microbiología. Sevilla: Universidad de Sevilla

107. Segura, D. (1998). Aislamiento e identificación de bacterias ferrooxidantes y sulfooxidantes. Tesis Doctoral, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, España.
108. Segura, Dolores (1998). Trabajo de doctorado. Aislamiento e identificación de bacterias ferrooxidantes y sulfooxidantes del área minera de Rio Tinto. Universidad de Sevilla. Facultad de biología. Departamento de microbiología. Sevilla. España.
109. Semenza, M. G. Curutchet, M. Viera y E. Donati. (2000). importancia de *Thiobacillus caldus* en la lixiviación de sulfuros metálicos. Centro de Investigación y Desarrollo de Fermentaciones Industriales (CINDEFI-CONICET). pp 47 y 115
110. SENA. Centro nacional minero.(2003). I Modulo de formación : fundamentos de minería.
111. Silva, R., Miladis, C., Gómez, J., Rodríguez Arelis, V. M., & Cantero, D. (2008). Aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo. Revista CENIC Ciencias Biológicas, 39(1).
112. .Smith, B. P., Hejtmancik, E., & Camp, B. J. 1976. Acute effects of cadmium on *Lepomis punctatus* (catfish). Bulletin of environmental contamination and toxicology, 15(3), 271-277
113. Tan G.L., Shu W.S., Zhou W.H., Li X.L., Lan C.Y., Huang L.N. (2009) Seasonal and spatial variations in microbial community structure and diversity in the acid stream draining across an ongoing surface mining site. FEMS Microbiol Ecol 70: 277–285
114. Tributsch., H.,(2001). Directs versus indirect bioleaching. Hidrometallurgy. N59. pag 177-185.
115. Vargas Marcos, F. 2005. La contaminación ambiental como factor determinante de la salud. Revista española de salud pública, 79(2), 117-127.
116. Vasquez, X. (2005). Lixiviación microbiana. Microbiología aplicada. Universidad de Vigo. Pag 46-56.

117. Vazques .C , 2007. Lixiviacion bacteriana. Revista de facultad de Biologia Universidad de Vigo. Volumen 2. Pag 48-54.
118. Vega, A. 1999. Guía didáctica de educación ambiental :minería y medio ambiente.Ministerio de educación. Pag 22-24.
119. Wong, M. H. (2003). Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. Chemosphere, 50(6), 775-78