

## **Biotecnología microbiana aplicada a la minería**

Albert Saavedra y Eduardo Cortón

Laboratorio de Biosensores y Bioanálisis (LABB). Departamento de Química Biológica e IQUBICEN-CONICET. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina.

Correo electrónico: [asaavedra@qb.fcen.uba.ar](mailto:asaavedra@qb.fcen.uba.ar), [eduardo@qb.fcen.uba.ar](mailto:eduardo@qb.fcen.uba.ar)

### **Resumen**

Se denomina biohidrometalurgia al tratamiento de recuperación de metales de interés económico a partir de minerales sulfurados, utilizando microorganismos. Es una tecnología que ha cobrado mayor importancia en las últimas décadas, tanto desde el punto de vista científico como tecnológico por sus aplicaciones actuales, y mayores oportunidades futuras, para varios procesos industriales. Los microorganismos acidófilos que son utilizados en estos procesos tienen capacidad de oxidar minerales de hierro y azufre. Es una de las pocas tecnologías basadas en el uso de microbios que ha llegado a ser implementada industrialmente con éxito en el procesamiento de minerales de baja ley. En este trabajo realizaremos un análisis sintético del origen histórico de esta tecnología, las bases químicas y microbiológicas del proceso, así como sus aplicaciones industriales. Además introduciremos nuevas áreas de investigación y desarrollo, en las que nuestro grupo se ha enfocado recientemente, de tal manera de optimizar y ampliar los campos de aplicación de esta tecnología minera de bajo impacto ambiental.

**Palabras claves:** Biolixiviación, biooxidación, microorganismos acidófilos.

### **Abstract**

Biohydrometallurgy is known as a microbial treatment, which allows the recovery of high value metals from sulphide minerals. It is a technology that has attracted attention in the last two decades from the point of view of both, scientific studies and technological applications. This technology involves the participation of acidophilic microorganisms, capable of iron and sulfur oxidation. It is one of the few microbiology-based technologies that has become industrially successfully in processing low-grade ores. In the present work we will summarize and analyze how this technology emerged, their progress, industrial applications, and future prospects.

**Keywords:** bioleaching, biooxidation, acidophilic microorganisms.

### Un poco de historia....

En sí, la solubilización de metales a partir de minerales por intermedio de microorganismos es un proceso natural. Dadas las condiciones necesarias de temperatura y humedad, en un ambiente natural y en presencia de minerales, se observará la aparición de una coloración rojiza por el aumento del ion férrico y un descenso del pH por la oxidación de hierro y azufre; de esta manera se origina un drenaje ácido en forma natural (Figura 1). Este proceso natural se relaciona con la colonización y crecimiento de bacterias, y otros microorganismos que utilizan los minerales como fuente de energía, solubilizando los metales de interés económico. Si bien este proceso es (en la naturaleza) muy lento, y puede durar años en desarrollarse, desde los primeros reportes de la existencia de este tipo de microorganismos mediante investigaciones multidisciplinarias (metalúrgicas, química, biológicas, microbiología, electroquímica, etc.) se ha podido incrementar la velocidad de solubilización del proceso natural y poder aplicarlo a nivel industrial de manera exitosa.

En la década de 1950 se desconocía la presencia de microorganismos a pH extremadamente ácidos (entre 1.4 y 2.9), es así como Colmer y Hinkle, (1947) en un estudio de análisis ambientales en una mina de carbón, al dejar una muestra mal cerrada observaron un cambio de coloración (tomó un color rojizo), lo que evidenció la oxidación del hierro. Estos investigadores descartaron en primer lugar la oxidación mediada por oxígeno, ya que es una oxidación lenta en un medio a pH muy ácido. Al realizar un examen más exhaustivo de tipo microbiológico, llegaron a la sorprendente conclusión de que la oxidación del hierro se debía a una actividad bacteriana. En este estudio se reportó por primera vez al microorganismo *Acidithiobacillus ferrooxidans* (antes llamado *Thiobacillus ferrooxidans* o *Ferrobacillus sp.*). Se trata de una bacteria quimiolitotrofica, que utiliza el CO<sub>2</sub> como su fuente de carbono, mientras que a partir de la oxidación del hierro y azufre obtiene la energía necesaria para sus procesos metabólicos. Junto a *A. ferrooxidans* se reportó otro tipo de microorganismo, *A. thiooxidans* (Waksman y Starkey, 1922) que tiene la capacidad producir ácido sulfúrico a partir del azufre. Si bien *A. thiooxidans* fue descubierto antes, se aisló de un ambiente no tan ácido como *A. ferrooxidans*. Estos dos microorganismos son hasta el momento los más estudiados, y los que usualmente se toman como modelos para estudios biohidrometalúrgicos.



**Figura 1.** Drenaje ácido minero ubicado en Andacollo, IV región, Chile. El DAM presenta un pH 2,01 y 491 mV de potencial rédox (fotografía de uno de los autores, A.S.).

Conforme los estudios fueron avanzando se descubrió una compleja comunidad microbiana acidófila involucrada en la solubilización de metales. En estos ambientes podemos encontrar bacterias, arqueas, mohos, entre otros. Están presentes microorganismos con metabolismo autótrofo y heterótrofo, los microorganismos más importantes con capacidad biooxidante que usualmente se puede encontrar en estos ambientes son aquellos con capacidad de oxidar hierro como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*, *Ferroplasma acidiphilum* entre otros. También podemos encontrar microorganismos con capacidad de oxidar azufre, como *A. thiooxidans*, *A. ferrooxidans* y *A. caldus*. Es interesante resaltar que la mayoría de los microorganismos quimiolitautótrofos que participan en el proceso de solubilización de metales presentes en este ecosistema pueden ser fácilmente inhibidos por la presencia de compuestos orgánicos. En presencia de suficientes compuestos orgánicos, aumenta la abundancia en la comunidad de los microorganismos heterótrofos; un microorganismos acidófilo heterótrofo que podemos encontrar es *Acidiphilium sp.*, que se presume que es uno de los encargados de mantener en bajas concentraciones los compuestos orgánicos para evitar inhibición.

Luego del descubrimiento de *A. ferrooxidans* y dada su novedosa (para la comunidad científica) capacidad hierro-oxidante, se publicaron los primeros estudios relacionados a su participación en la solubilización de metales a partir de rocas minerales en situaciones controladas. En una muestra del líquido percolante de una pila de lixiviación de minerales se evidenció la presencia del microorganismo y se evaluó la solubilización de diferentes minerales. Bryner *et al.*, (1954) comprobaron que en presencia de microorganismos la solubilización de los metales asociados a minerales sulfurados se incrementaba fuertemente. A partir de este estudio se inició el interés en entender los procesos microbiológicos y bioquímicos que hacen posible el proceso, tanto desde el punto de vista de la investigación básica, como de la aplicada. Una ventaja que ha tenido este proceso a comparación de otros procesos biotecnológicos es el interés multidisciplinario, así como la inversión de entidades estatales y privadas para la investigación, ello explica el rápido avance y su fuerte aplicación industrial.

Sólo en aproximadamente 30 años luego de su descubrimiento los microorganismos quimiolitautótrofos ya son aplicados con éxito en la gran minería.

### **Biofilms (Biopelículas) en la naturaleza**

Los *biofilms*, también llamados biopelículas, son una forma de crecimiento y agregación que utilizan los microorganismos, como las bacterias, pero no solo ellas. En la naturaleza, las biopelículas están formadas generalmente por una asociación de diferentes microorganismos, que incluye muchos tipos de bacterias, hongos, algas, levaduras, protistas y otros organismos, que se encuentran adheridos a una superficie. Estos organismos están asociados y embebidos en productos de secreción, excreción, y residuos metabólicos, incluyendo células muertas. Uno de los productos de secreción que mantiene unidas las biopelículas a las superficies, se denomina sustancias poliméricas extracelulares (o EPS por su sigla en inglés). El EPS es una denominación genérica para un grupo de sustancias extracelulares, fundamentales en la formación y mantenimiento del biofilm; estas sustancias son de naturaleza polisacárida.

Actualmente se interpreta a las biopelículas como una forma de crecimiento de los microorganismos relacionada con condiciones desfavorables en el medio ambiente donde esos organismos se desarrollan. Los microorganismos en condiciones favorables (como por ejemplo alta concentración de nutrientes, baja concentración de elementos tóxicos), suelen desplazarse libremente en el medio líquido, y se las denomina planctónicas. Pero cuando las condiciones del medio se vuelven desfavorables, las células microbianas planctónicas tienden a abandonar esta forma de vida, y asociarse a superficies, originando de esta manera la formación de biopelículas. Se ha probado que cuando las células se asocian en una biopelícula, son mucho más resistentes a los agentes químicos que podrían causarles daño, como por ejemplo los antibióticos. Durante mucho tiempo se creyó que la formación de biopelículas era un evento individual, pero luego se observó que dependía de la densidad celular, y se llamó a este fenómeno autoinducción (más tarde rebautizado como *quorum sensing*), y definido como el mecanismo de comunicación intercelular que controla la expresión génica en función de la densidad celular. Esta expresión génica diferencial es la que lleva a la formación de biopelículas, o a la permanencia como células planctónicas. Uno de los primeros fenómenos de *quorum sensing* estudiados fue la emisión de luz por bacterias marinas bioluminiscentes; hoy se sabe que también está relacionado con la formación de biopelículas, la producción de EPS, producción de metabolitos secundarios (como los antibióticos o los pigmentos), y otros.

El proceso de *quorum sensing* es fundamental para el conjunto de procesos que terminan en la solubilización del metal de interés por los microorganismos, como se verá en la sección siguiente. En él, determinadas moléculas son secretadas por las bacterias (u otros organismos, las bacterias son los organismos más estudiados al respecto), como por ejemplo la acil-homoseril lactona, que actúa como un autoinductor; esto es, cuando la concentración de esta molécula sencilla sobrepasa un nivel umbral (lo que depende de la concentración

microbiana en el medio de cultivo), se dispara una respuesta. En general, las bacterias Gram-negativas usan acil-homoserina lactonas como inductores, mientras que las bacterias Gram-positivas se valen de oligopéptidos, que son más variados, y permiten una comunicación más selectiva. Esta inducción dependiente de la concentración se describe en la próxima sección para organismos relacionados con el proceso biominero.

Tanto para las bacterias Gram positivas o negativas, así como en otros procesos relacionados con el *quorum sensing*, la respuesta (en nuestro caso en particular la formación de biopelícula sobre los minerales) dependerá no sólo de la especie o grupos de especies microbianas involucradas, y de su concentración, sino también de las condiciones ambientales. Cuando las condiciones del ambiente se alejan del óptimo para la supervivencia, se verá favorecida la formación de biopelículas. Las investigaciones sobre biopelículas son de gran importancia en múltiples aspectos relacionados con la salud humana, animal y vegetal; afectan también de diversa manera a muchas industrias, en general causando problemas, como la biocorrosión y el *biofouling*, por lo que su estudio es de gran importancia en la actualidad; la literatura especializada ha revisado sus características exhaustivamente (Costerton *et al.*, 1995; O'Toole *et al.*, 2000). En el caso de la biominería, la formación de biopelículas y el rápido ataque al mineral son los efectos positivos buscados.

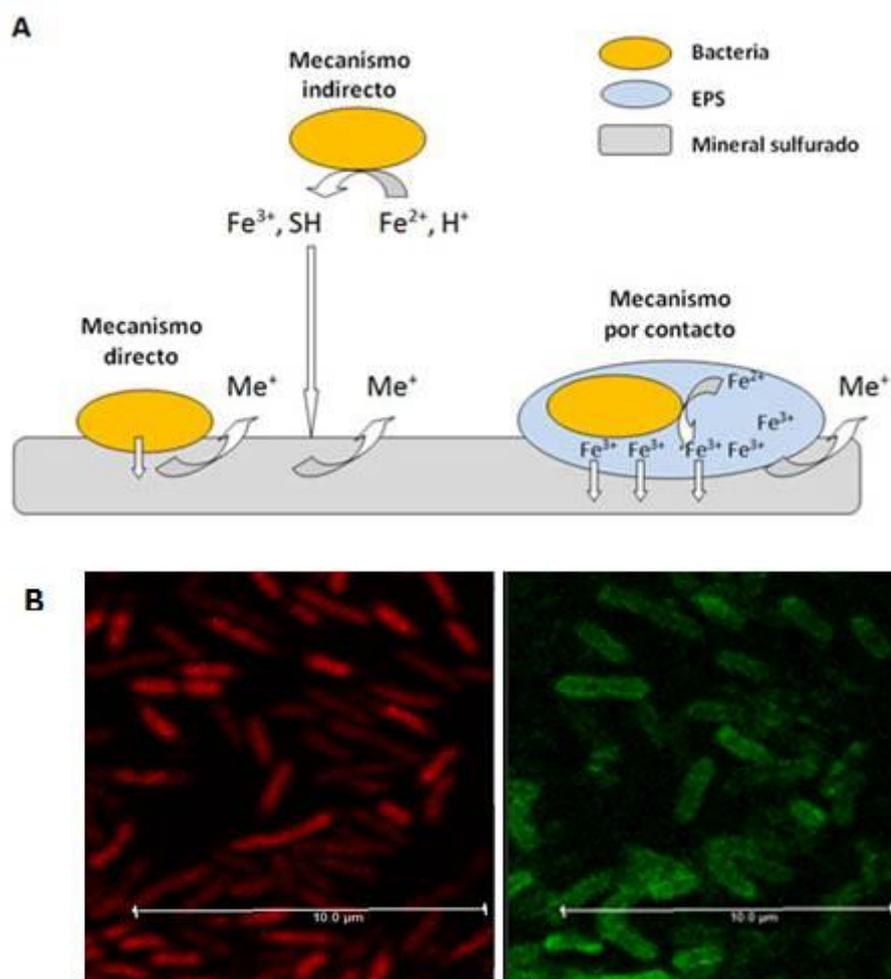
### **¿Cómo es el proceso de solubilización del metal por los microorganismos?**

La biolixiviación de minerales es aplicada mayormente en minerales sulfurados como la pirita ( $\text{FeS}_2$ ), esfalerita ( $\text{ZnS}$ ), galena ( $\text{PbS}$ ), calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) entre otros. Estos minerales, luego de un ataque con iones férrico liberan azufre y ion ferroso que son oxidados por las bacterias en presencia de oxígeno, proceso que utilizan como fuente de energía.

Se han propuesto diferentes mecanismos de la interacción bacteria-mineral. Sand *et al.*, (2001) y Tributsch, (2001) mencionan dos tipos de mecanismos, uno directo y otro indirecto. El mecanismo directo propone que el microorganismo y el mineral interactúan directamente, la hipótesis sostiene que existe una proteína en la membrana de la bacteria que solubiliza directamente el mineral de interés; sin embargo hasta el momento no se ha identificado (si es que existe) la proteína que cumpla aquel rol, por lo que esta hipótesis es la menos aceptada. Por otro lado, el mecanismo indirecto propone que el microorganismo no interactúa directamente con el mineral, sino que el proceso de solubilización se llevaría a cabo a partir de la oxidación del hierro por la bacteria y el ataque del ion férrico (un ion altamente corrosivo) al mineral, liberando el metal de interés y oxidando el azufre a ácido sulfúrico. La oxidación (bacteriana) y reducción (ataque al mineral) del hierro sería un evento cíclico, contribuyendo así al continuo ataque al mineral (Figura 2A).

Si bien, el mecanismo indirecto es el más aceptado, se ha propuesto un mecanismo adicional basado en el mismo principio, denominado mecanismo por contacto, el que propone que el microorganismo al estar en presencia de un mineral sulfurado es atraído al mineral, y

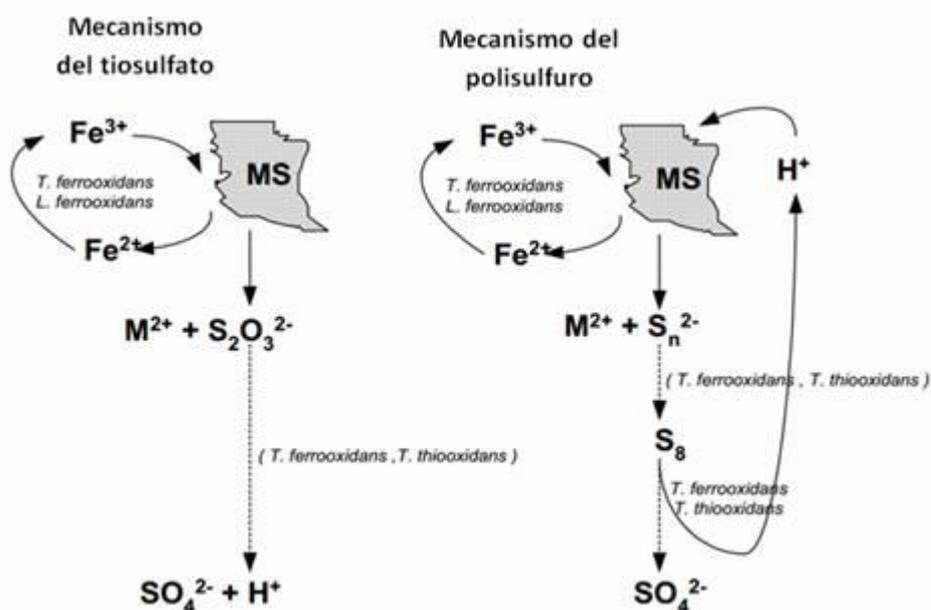
secreta EPS (Figura 2B) que son importantes en la forma de la biopelícula (como se destacó en la sección anterior), sobre el mineral. En dicho microambiente, se han identificado compuestos químicos emparentados con la comunicación celular (N-acil homoserina lactonas) correspondientes al fenómeno de *quorum sensing* (Ruiz *et al.*, 2008, Rivas *et al.*, 2005). La presencia de este fenómeno sugiere que la biopelícula sobre el mineral es un sistema complejo y coordinado. La hipótesis sostiene que la biopelícula se forma directamente sobre un mineral sulfurado y que el EPS que lo rodea compleja el ion férrico, produciendo una alta concentración de estos iones, que se encontrarían estabilizados en el EPS; dada la alta concentración de hierro en el microambiente el mineral sería atacado fuertemente. Este evento ha sido corroborado por la huella corrosiva dejada por los microorganismos en el mineral. En el EPS se han reportado concentraciones de hierro de hasta  $53 \text{ gL}^{-1}$  las que al ser tan altas facilitan el ataque del ion férrico en el mineral (Sand y Gehrke, 2006).



**Figura 2.** (A) Mecanismos de biolixiviación. Directo, indirecto y por contacto. (B) Microfotografías por CLSM de *A. ferrooxidans* marcada con yoduro de propidio (izquierda) y el EPS marcada con WGA (derecha). (Esquemático y microfotografías de uno de los autores, A.S.)

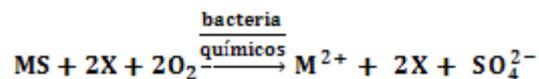
En el ataque del mineral, el microorganismo oxida el hierro y el azufre. El azufre puede ser solubilizado del mineral por dos diferentes mecanismos, el mecanismo de tiosulfato y el del polisulfuro. El mecanismo del tiosulfato sostiene que el azufre extraído del mineral es convertido en tiosulfato por un ataque de los iones férricos y éste es oxidado por los microorganismos formando iones sulfatos, que complejan el metal de interés, y ácido sulfúrico que acidifica el medio. El mecanismo del polisulfuro sostiene que el azufre extraído del mineral pasa por diferentes compuestos azufrados antes de llegar a ser convertido a sulfato, esto tras un ataque al mineral de iones férrico y protones (Figura 3).

El mecanismo de solubilización del azufre en los minerales va a depender de su estructura cristalina, en sulfuros como la pirita ( $\text{FeS}_2$ ) y la molibdenita ( $\text{MoS}_2$ ) su nivel energético (banda de valencia) se centra en los enlaces entre los átomos metálicos (enlace metal-metal, mientras que en otros sulfuros metálicos como la calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) y la esfalerita ( $\text{ZnS}$ ) son importantes los enlaces entre el azufre y el metal), lo que hace que posean un nivel energético menor. Los minerales donde la unión metal-metal es predominante son más resistentes ante un ataque ácido, por ellos son poco solubles en ese medio; en dichos minerales la solubilización del azufre se realiza por el mecanismo del tiosulfato. En comparación, en los sulfuros que presentan una unión fuerte entre el azufre y el metal, este último puede ser desestabilizado por un ataque adicional de protones, razón por la cual son más solubles en medio ácido y se acepta que la solubilización ocurre por el mecanismo de polisulfuro (Ballester, 2005).



**Figura 3.** Mecanismos de oxidación química y biológica del azufre a partir de minerales sulfurados (Esquema modificado de Sand et al., 2001).

Por lo tanto, en la biolixiviación de un mineral sulfurado (MS), el producto será el metal de interés solubilizado, más el sulfuro oxidado en forma de sulfato y producción de ácido sulfúrico en el sistema, mediado por un ataque de ion férrico. La ecuación correspondiente a la solubilización de un mineral sulfurado es:



Donde la solubilización se llevará a cabo dependiendo de diferentes factores como,

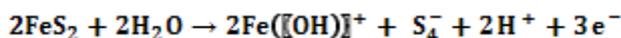
$X = H^+$  (lixiviación ácida),

$X = Fe^{3+}$  (lixiviación férrica) y

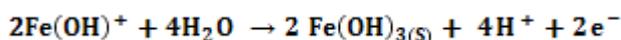
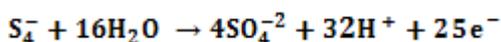
$2X = Y^+ + H^+$  (involucrando al mecanismo de polisulfuro).

Considerando los mecanismos de ataque químico y biológico al mineral descrito anteriormente, describiremos el proceso de solubilización del mineral de interés. Blight *et al.*, (2000) considera que la biolixiviación de la pirita ( $FeS_2$ ) por *A. ferrooxidans* se realiza en diferentes etapas. La primera, cuando las células se adhieren al mineral, se multiplican, comienzan a producir EPS y se inicia la formación de oxihidróxidos de hierro. En la segunda etapa las especies de hierro como mediador son oxidados en el EPS a la altura de las células y son reducidas en contacto con el mineral. Por último, las especies de sulfuro son liberadas por acción del mediador y son oxidadas por los microorganismos, o pasan a solubilizarse en la solución. Las reacciones pueden darse de la siguiente manera:

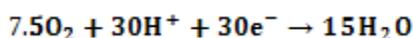
Interfase sulfuro



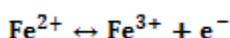
En el biopelícula



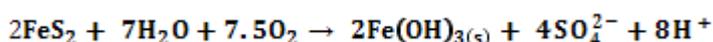
Reacciones reductivas en la biopelícula



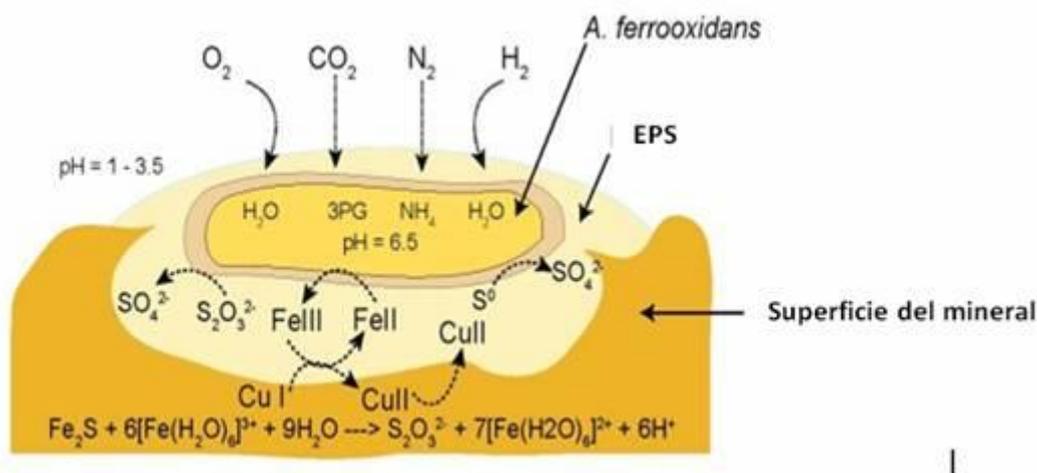
Reacción mediadora



Como ecuación general de la solubilización de hierro a partir de la pirita por acción de una bacteria azufre y hierro oxidante como *A. ferrooxidans*, se tiene:



El mecanismo de solubilización es discutible aún, y depende de muchos factores tanto químicos, físicos y biológicos (Figura 4). Son importantes en este sentido los estudios que buscan caracterizar metabólicamente los microorganismos utilizados en biominería, así como describir y caracterizar la funcionalidad de las proteínas involucradas en estos procesos. Recientemente muchas de estas proteínas han sido descritas, así como su localización celular; remitimos al lector a la literatura especializada en estos aspectos más relacionados a la genética molecular de algunas de estas bacterias (Yin *et al.*, 2014).



**Figura 4.** Biolixiviación de cobre por *A. ferrooxidans* (Esquema modificado de Valdés *et al.*, 2008).

Si bien es cierto que las reacciones de solubilización suceden sin problemas en condiciones normales, existen algunos factores que afectan negativamente la cinética en el proceso. Uno de aquellos factores es la pasivación. La pasivación es la formación de una película relativamente inerte sobre la superficie de un material (frecuentemente un metal), que lo enmascara o protege de la acción de agentes externos. Es así como en el ataque y oxidación de azufre en la calcopirita pasa por una fase de S<sup>0</sup> (vía del polisulfuro), sin embargo la cinética de oxidación de S<sup>0</sup> a SO<sub>4</sub><sup>-</sup> es muy lenta, entonces la concentración de S<sup>0</sup> se incrementa en la superficie del mineral, formando una capa pasivante sobre ella, evitando el ataque del ion férrico y la adherencia de los microorganismos sobre el mineral. En la lixiviación química este problema es latente, y de difícil solución, ya que la re-disolución de esta capa pasivante es muy difícil; en cierta medida la utilización de microorganismos puede contrarrestar la formación de la capa pasivante, pero solo hasta un cierto punto. Esta es la principal razón por lo que muchas veces se consiguen tan bajas recuperaciones de cobre (25-45%) a partir de minerales en la industria minera.

Otro problema es la formación de jarosita en el sistema, la jarosita son complejos básicos de hierro, que pueden también pasivar al mineral y además precipitar. La formación de

jarosita ejerce inhibición sobre los microorganismos, ocasionando también, bajos rendimientos en el proceso.

Estos eventos son catastróficos en la industria minera, dado que inutilizan de manera permanente pilas de lixiviación con mineral aún por lixiviar; la aplicación de la biohidrometalurgia está contribuyendo a contrarrestar el problema, pero se está aún muy lejos de solucionarlo.

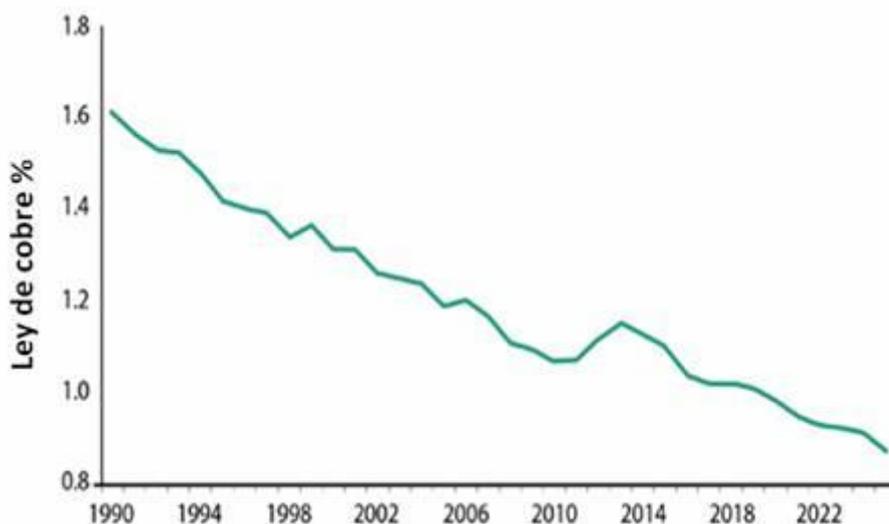
### **¿Cómo fue el paso del laboratorio a la aplicación industrial?**

Desde la década del 1950 a 1980 se había realizado estudios a un nivel multidisciplinario en laboratorio y a escala piloto que permitió conocer la base teórica para su pronta aplicación industrial. Esta situación ocurrió por primera vez en Chile. La primera aplicación industrial fue en la década del 1980, cuando la mina Lo Aguirre, ubicada a 30 Km de Santiago de Chile, se vio frente a un problema en su yacimiento de cobre. El yacimiento presentaba una mineralogía muy compleja, tenía una alta proporción de sulfuros y de óxidos de cobre. Además los sulfuros eran de baja ley, entonces la lixiviación utilizando los métodos convencionales no era rentable (Bustos *et al.*, 1993).

En la década de 1980 se extraía el cobre en gran proporción de minerales oxidados, dado que los óxidos son muy fáciles de atacar (y entonces liberar el cobre), en contraste con los sulfuros que son muy difíciles de solubilizar y se debe realizar mediante el ataque de un agente corrosivo ( $\text{Fe}^{3+}$ ).

La empresa minera se enfrentó a la decisión de solubilizar el cobre de su mineral con ácido, proceso que podría prolongarse por un largo periodo, además de ocasionar pérdidas para la mina o utilizar una tecnología alternativa. La elección fue la biolixiviación en pilas. La operación fue exitosa y se prolongó desde 1980-2001, año en que se agotó el mineral y la mina cerro. La producción de cobre de esta mina fue de 15.000 toneladas/año, a partir de un mineral de una ley de 1,5%; todo el cobre fue recuperado netamente por este proceso biotecnológico (Gentina y Acevedo, 2013).

Tras el éxito, esta tecnología fue aplicada a otras mineras. La industria minera del cobre la está tomando porque también la ley del cobre a nivel mundial ha ido decreciendo razón por la que se busca nuevas tecnologías rentables para su extracción (Figura 5), en la actualidad la tecnología mediada por microorganismos es la más exitosa.



**Figura 5.** Tendencia de la ley del cobre en minerales procesadas en la industria minera. (Figura modificada de <http://www.oracleminingcorp.com/copper/>)

### Algunas experiencias industriales

En la industria minera se ha realizado hasta el momento dos tipos de procesos industriales utilizando los microorganismos descriptos, uno es la biolixiviación y otra la bio-oxidación de minerales. Mientras que la biolixiviación es el proceso en el cual se solubiliza el metal, la bio-oxidación es un pre-tratamiento realizado a minerales que presentan el metal encapsulado, como es el caso del oro. El oro usualmente se encuentra encapsulado en un mineral de arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ), en este caso los microorganismos solubilizan la arsenopirita con el fin de dejar libre al oro, el oro luego es lixiviado por cianuración, este proceso también se realiza para la extracción de la plata, uranio, etc.

A nivel industrial los dos procesos han sido implementados. La biolixiviación se aplica en pilas de lixiviación, donde el mineral ha sido previamente triturado, y mediante la recirculación de una solución lixivante enriquecida con microorganismos biolixivantes (consorcios microbianas con capacidad hierro y azufre oxidante) es percolada en la pila. Esta solución percolante sirve como dispersor de las bacterias en la pila, para acelerar el ataque y a la vez arrastra el metal solubilizado. El metal de interés puede recuperarse por otros métodos a partir de la solución percolante. En pilas de lixiviación se obtienen recuperaciones relativamente bajas (25-45%), pero exitosas en comparación con el proceso químico. La baja recuperación puede deberse a que el proceso no es controlado, ya que se realiza al aire libre (Donati y Sand, 2007).

El proceso de bio-oxidación también ha sido llevado a la industria, este proceso se realiza en condiciones más controladas (reactores agitados), permitiéndole una mayor

eficiencia en la recuperación del proceso. Se han obtenido recuperaciones hasta del 90% de oro, en un corto periodo de tiempo.

La razón principal del porque uno se procesa en pilas y otro en reactores es porque el mayor costo de extracción de oro se contrarresta con las altas ganancias obtenidas por la venta de este metal noble

Una particularidad que existe en esta tecnología, son las condiciones del proceso, condiciones que presentan altas concentración de metales y operaciones tan agresivas que los microorganismos pueden ser inhibidos fácilmente. Por ello la actividad microbiana depende exclusivamente de la composición mineralógica del sistema y ambientales donde se realiza el proceso, por esta razón en general los microorganismos que se utilizan son consorcios microbianos nativos, ya que se encuentran adaptados a estos sistemas particulares.

Se ha observado en algunos casos que consorcios microbianos aislados, que presentan una excelente capacidad biolixivante de una mina con una composición mineralógica definida, se han inhibido completamente cuando se han aplicado en un yacimiento donde la composición mineralógica es diferente. Esto puede deberse a que el yacimiento al que fue inoculado presentaba una alta concentración de algún metal tóxico para el consorcio en particular. Es por ello la importancia de utilizar consorcios nativos en un sistema.

Podría decirse que un gran porcentaje de las puestas en marcha de procesos industriales en la minería del cobre y otros metales se ha realizado inoculando consorcios nativos. Sin embargo en el último año (2013) se ha presentado un nuevo sistema de biolixiviación para la recuperación de cobre, que se basa en la inoculación continua de consorcios mejorados; este proceso ha sido realizado por la empresa estatal chilena BIOSIGMA que según los primeros reportes indican que lograron incrementar la extracción de cobre de 20 a 35% en comparación del método convencional (Parada et al., 2013).

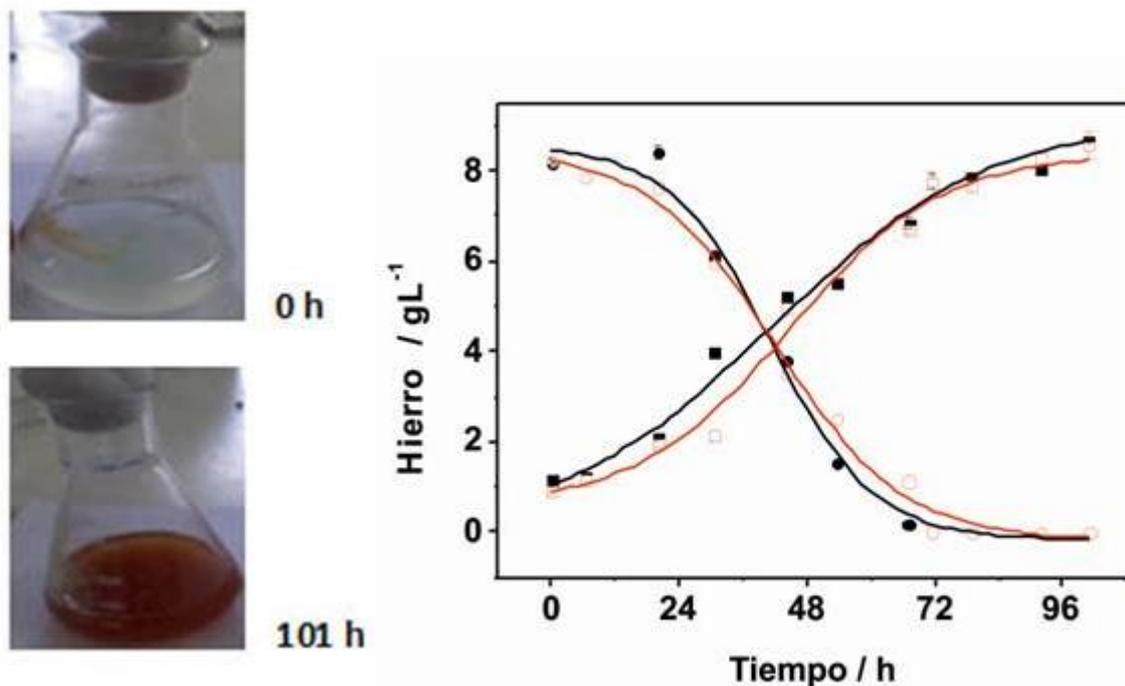
### **Nuestro laboratorio en la biotecnología minera**

El laboratorio de Biosensores y Bioanálisis (LABB), perteneciente al Departamento de Química Biológica y al CONICET-IQUIBICEN (en Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires), ha iniciado recientemente trabajos en este campo de desarrollo tecnológico. Específicamente, el laboratorio está interesado en el diseño y desarrollo de biosensores, bioensayos y/o otros métodos analíticos que permitan monitorear y optimizar los procesos biomineros. En los últimos meses se ha desarrollado un sensor amperométrico de especiación y cuantificación de hierro que puede ser utilizado en las duras condiciones de los establecimientos mineros, y que puede realizar cuantificaciones de forma continua. Este sensor podría monitorear los procesos de biolixiviación, bio-oxidación, además de monitorear la solubilización de hierro a partir de los minerales. También se está trabajando en el desarrollo

de sensores en que se puedan medir la capacidad bio-oxidante de hierro y azufre de microorganismos y también su capacidad biolixivante.

El desarrollo de biosensores puede permitir monitorear el proceso respondiendo rápidamente a sucesos o fenómenos poco habituales o inesperados para un tipo de mineral o proceso, que pueden disminuir su velocidad de solubilización. Actualmente el monitoreo de los procesos es muy deficiente, dado que un análisis de hierro, azufre, cuantificación bacteriana y actividad microbiana puede durar de días a semanas, ya que las muestras deben ser trasladadas a un laboratorio equipado. Con el desarrollo de biosensores, se prevé que estos tiempos se reduzcan para hacer más eficiente el proceso, y lo más importante, que los análisis se puedan realizar *in situ*. Nuestro laboratorio ha tenido la fortuna de poder comenzar a compartir estos trabajos con el grupo de mayor experiencia en biominería en la región, dirigido por el Dr. Edgardo Donati, quien también es director del CINDEFI (CONICET) y profesor de la Universidad Nacional de la Plata. Esta asociación permitirá no solo la producción de conocimiento científico nuevo y relevante, sino incursionar en áreas de gran potencial tecnológico, áreas que se revelan en la interfase de las especialidades de estos dos grupos.

El sensor de hierro que desarrollamos y que se encuentra en etapa de patentamiento (Oficina de propiedad intelectual del CONICET, 2014) puede realizar la especiación y cuantificación de una muestra en 1 min. (Figura 6), mientras que el método colorimétrico convencional mínimamente necesita entre 20-30 minutos para realizar la cuantificación, entre otras ventajas.



**Figura 6.** Cuantificación de una cinética de oxidación de hierro por *A. ferrooxidans* medido por el sensor de hierro desarrollado por nuestro laboratorio y el método convencional. A la izquierda se muestra un cultivo en medio 9K de *A. ferrooxidans* a  $t=0$  y luego de 101 horas de incubación. A la derecha, cuantificación de ion ferroso (●, ○) y férrico (■, □) con el sensor electroquímico (●, ■) y el método convencional colorimétrico (○, □).

### Consideraciones finales

En la actualidad el 20% del cobre producido en Chile es obtenido por biolixiviación y se prevé que se incremente en un futuro. La investigación y desarrollo en esta tecnología es muy importante, dado que permite la extracción de manera económica de metales valiosos a partir de minerales de muy baja ley, que no podrían ser explotados comercialmente de otra manera. El método no utiliza reactivos peligrosos, por lo que se puede considerar que es un tipo de minería poco contaminante, dado que el agua se recicla y no se producen compuestos tóxicos volátiles. Aunque la biolixiviación se encuentra en la actualidad aplicada industrialmente, aún hay muchos factores o etapas del proceso que no están bien descritos, y es necesaria la investigación interdisciplinaria para poder optimizar el proceso, de manera de evitar la pasivación de los minerales, y lograr una rápida, eficiente y completa extracción de los metales de interés. Finalmente, aunque se trate de un proceso lento, en comparación con la pirometalurgia y la hidrometalurgia, es menos costoso, más eficaz, más fácil de controlar y afecta en menor medida al medio ambiente.

## Agradecimientos

Los autores desean agradecer a la Dra. Carmen Sánchez de Rivas por sus sugerencias, que sin duda mejoraron la calidad de este artículo.

## Referencias

**Ballester A** (2005) Mecanismos de biolixiviación. En: Acevedo F, Gentina JC (Editores). Fundamentos y perspectivas de las tecnologías biomineras pp. 25-43.

**Blight K, Ralph DE, Thurgate S** (2000) Pyrite surfaces after bio-leaching: a mechanism for bio-oxidation *Hydrometallurgy* 58:227-237.

**Bryner LC, Beck JV, Davis DB, Wilson DG** (1954) Microorganisms in leaching sulfide minerals. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 46:2587-2592.

**Bustos S, Castro S, Montealegre R** (1993) The Sociedad Minera Pudahuel bacterial thin-layer leaching process at Lo Aguirre. *FEMS Microbiology Reviews* 11:231-236.

**Colmer AR, Hinkle ME** (1947) The role of microorganisms in acid mine drainage: a preliminary report. *Science* 06:253-256.

**Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM** (1995) Microbial biofilms. *Annual Review of Microbiology* 49:711-745.

**Donati E, Sand W** (2007) *Microbial Processing of metal sulfides*, Springer, USA.

**Gentina JC, Acevedo F** (2013) Application of bioleaching to copper mining in Chile. *Electronic Journal of Biotechnology* 16:1-13.

<http://www.oracleminingcorp.com/copper/>. Última vez consultado, 13/10/2014.

**O'Toole G, Kaplan HB, Kolte R** (2000) Biofilm formation as microbial development. *Annual Review of Microbiology* 54:49-79.

**Oficina de propiedad intelectual del CONICET** (2014). Evaluando la solicitud de patente denominada: "Sensor electroquímico para la especiación química y cuantificación de hierro aplicados a procesos bio-hidrometalúrgicos y otros".

**Parada P, Morales P, Collao R, Bobadilla R, Badilla R** (2013) Biomass production and inoculation of industrial bioleaching processes. *Advanced Materials Research* 825:296-300.

**Rivas M, Seeger M, Holmes D, Jedlicki E** (2005) A lux-like quorum sensing system in the extreme acidophile *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Biological Research* 38:283-297.

**Ruiz LM, Valenzuela S, Castro M, Gonzalez A, Frezza M, Soullère L, Rohwerder T, Queneau Y, Doutheau A, Sand W, Jerez C, Guilliani N** (2008) AHL communication is a widespread phenomenon in biomining bacteria and seems to be involved in mineral-adhesion efficiency. *Hydrometallurgy* 94:133-137.

**Sand W, Gehrke T** (2006) Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron(III) ions and acidophilic bacteria. *Research in Microbiology* 157:49-56.

**Sand W, Gehrke T, Jozsa P, Schippers A** (2001) (Bio)chemistry of bacterial leaching—direct vs. indirect bioleaching. *Hydrometallurgy* 59:159–175.

**Tributsch H** (2001) Direct versus indirect bioleaching. *Hidrometallurgy* 59:177–185.

**Valdés J, Pedroso I, Quatrini R, Dodson R, Tettelin H, Blake R, Eisen J, Holmes D** (2008) *Acidithiobacillus ferrooxidans* metabolism: From genome sequence to industrial applications. *BMC Genomics* 9:597.

**Waksman SA, Starkey RL** (1922) On the growth and respiration of sulfur oxidizing bacteria. *The Journal of General Physiology* 5:285-310.

**Yin H, Zhang X, Li X, He Z, Liang Y, Guo X, Hu Q, Xiao Y, Cong J, Ma L, Niu J, Liu X** (2014) Whole-genome sequencing reveals novel insights into sulfur oxidation in the extremophile *Acidithiobacillus thiooxidans*. *BMC Microbiology* 14:179-192.

**E.Cortón es Investigador de CONICET. A. Saavedra es Becario de CONICET**



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 13, Diciembre 2014

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)