complejo de esfalerita por Acidithiobacillus ferrooxidans

P. de Lira*, A. Uribe**, E. T. Pecina*, P. Castillo*, M.A. Makita*** y E. Orrantia*

*Departamento de Química de Materiales, CIMAV, Complejo Industrial Chihuahua 120. Chihuahua, Chihuahua, 31109 México **CINVESTAV-IPN Unidad Saltillo, Carretera Saltillo-Monterrey km 13. Ramos Arizpe, Coahuila, 25900 México ***Departamento de Ingeniería Industrial, Instituto Tecnológico de Chihuahua II. Av. de las Industrias. 11101. Chihuahua, Chih., 31109 México.

Solubilisation of Iron from a Complex Sphalerite Concentrate by Acidithiobacillus ferrooxidans Af

Dissolució de ferro d'un concentrat complex d'esfalerita per Acidithiobacillus ferrooxidans

Recibido: 11 de abril de 2007; revisado: 2 de octubre de 2007; aceptado: 26 de octubre de 2007

RESUMEN

CORE

En el presente trabajo se empleó una cepa de *Acidithiobacillus ferrooxidans (Af)* para biolixiviar el hierro pirítico presente en un concentrado de sulfuro de zinc con un contenido de 1,41% en peso de hierro. El proceso de biolixiviación se llevó a cabo en una suspensión conteniendo de 5 a 8% de sólidos p/v a un pH de alrededor de 2,7 (ajustado con ácido sulfúrico) y a una temperatura de 30 °C. Los resultados muestran que en un periodo de 15 días, el contenido metalúrgico del hierro disminuyó en un 17%, lo cual se traduce en un incremento en el grado metalúrgico del concentrado de zinc de 64,6 a 66,9%, lo que permitió incrementar substancialmente el valor comercial de éste, evitando penalizaciones por el contenido de hierro presente.

Palabras clave: Biominería. Biolixiviación de zinc. Acidithiobacillus ferrooxidans. Bacteria. Biooxidación mineral.

SUMMARY

In this work, an Acidithiobacillus ferroxidans (Af) strain was used to bioleach a zinc concentrate containing around 1.41% by weight pyritic iron. The experiments were performed in mineral suspensions containing 5 to 8% w/v solids at pH around 2.7 (adjusted with sulphuric acid) and under a temperature of 30 °C. The results show that as a consequence of a bioleaching period of 15 days, the iron content in the mineral decreased around 17%, which traduced in an increase of the zinc content of the concentrate from 64.6 to 66.9%, thus increasing substantially its commercial value (e.g., more zinc in the concentrate and less penalties due to iron content).

Key words: Biomining. Bioleaching of zinc. *Acidithiobacillus ferrooxidans.* Bacteria. Mineral biooxidation.

RESUM

En el present treball, s'empra una soca d'*Acidithiobacillus ferrooxidans (Af)* per biolixiviar el ferro pirític present en un concentrat de sulfur de zinc amb un contingut de 1,41% en pes de ferro. El procés de biolixiviació es realitza en una suspensió que conté del 5 al 8% de sòlids p/v a un pH proper a 2,7 (ajustat amb àcid sulfúric) i a una temperatura de 30 °C. Els resultats mostren que, en un període de 15 dies, el contingut metal·lúrgic de ferro disminueix en un 17%, el que es tradueix en un increment en el grau metal·lúrgic del concentrat de zinc de 64,6 a 66,9%, fet que permet incrementar substancialment la vàlua comercial d'aquest, evitant penalitzacions pel contingut de ferro present.

Mots clau: Biomineria. Biolixiviació de zinc. Acidithiobacillus ferrooxidans. Bacteri. Biooxidació mineral.

* Corresponding author: patricia.delira@cimav.edu.mx

1. INTRODUCCION

En la actualidad se ha generado un renovado interés por la aplicación de la biolixiviación en los concentrados de sulfuros minerales, de tal manera que el empleo de bacterias en el procesamiento de minerales es considerado como una de las tecnologías modernas que posee una de las perspectivas de aplicación más sólidas⁽¹⁾. Esta es considerada como un fenómeno natural que genera desarreglos químico-estructurales en la superficie de los minerales, con los consecuentes procesos de oxidación y disolución de sus elementos constituyentes. Convencionalmente, los procesos de biolixiviación tienen el propósito de extraer el metal de interés. Sin embargo, existen estudios en donde la biolixiviación puede aplicarse para la eliminación de metales no deseados de los concentrados minerales. Un ejemplo exitoso de esta última aplicación es la eliminación de arsénico contenido en la arsenopirita presente en concentrados de plomo y cobre⁽²⁾, en donde se reporta que las funciones metabólicas de las bacterias podrían tener un efecto de oxidación y disolución selectiva de la arsenopirita. Lo anterior es explicado en términos de las propias necesidades metabólicas de las bacterias, que favorecen su adhesión sobre minerales base hierro (e.g., pirita, calcopirita, arsenopirita). Este hecho sugiere la posibilidad de emplear a la biolixiviación como un método alternativo para "limpiar" concentrados de minerales valiosos de aquellos considerados contaminantes, que no pueden ser eliminados debido a problemas de liberación.

La esfalerita (ZnS) es uno de los minerales sulfurosos de gran relevancia en México. El estado de Chihuahua es el segundo productor nacional de zinc, contribuyendo con el 25.6% de la producción total del metal⁽³⁾, mientras que México ocupa el sexto lugar a nivel mundial en la producción de este metal⁽⁴⁾.

El proceso convencional empleado en el beneficio de la esfalerita (ZnS) es el de concentración mediante flotación con espuma. Sin embargo, aunque por éste método se logra obtener grados metalúrgicos altos (e.g., 60% Zn), es bien sabido que se tiene limitaciones tecnológicas en el procesamiento de minerales complejos intercrecidos y, debido a problemas de liberación, en algunos casos, es virtualmente imposible la obtención de concentrados con recuperaciones y leyes altas. Estas últimas, se ven afectadas principalmente por impurezas presentes en los concentrados de zinc, que generalmente son sulfuros de hierro y en ocasiones sulfuros que contienen arsénico, que son finalmente eliminados en los procesos de fundición y electrólisis. Sin embargo, la presencia de hierro y arsénico por arriba de ciertas concentraciones hace que el concentrado de zinc sea penalizado, en el mejor de los casos, llegando a ser rechazado definitivamente por las fundiciones.

En el campo de la biolixiviación, *Acidithiobacillus ferrooxidans Af* es una bacteria Gram-negativa, acidófila, mesófila quimioautótrofa, y ha sido uno de los primeros microorganismos que fue aislado para su estudio en aplicaciones metalúrgicas debido a su capacidad natural de oxidar a los minerales⁽⁶⁾. Es preferentemente aeróbica, pero también es capaz de crecer usando ión férrico como aceptor de electrones, siempre que exista en el medio un compuesto de azufre reducido que pueda actuar como donador⁽⁶⁾. Se ha establecido que *Acidithiobacillus ferrooxidans* obtiene su energía a partir de la oxidación del ión ferroso (Fe²⁺) a férrico (Fe³⁺) y del azufre inorgánico⁽⁷⁾, formando sulfato que en medio ácido forma ácido sulfúrico; además, asimila el dióxido de carbono atmosférico para usarlo como fuente de carbono.

El proceso anterior puede ser escrito mediante la siguiente reacción[®]:

$$S^{0} + \frac{3}{2}O_{2} + H_{2}O \rightarrow 2H^{+} + SO_{4}^{2-}$$
 (1)

Es bien conocido que el ión férrico es un agente oxidante de sulfuros minerales muy efectivo y es el responsable principal de la disolución de los mismos.

En el presente trabajo de investigación se estudió el proceso de biolixiviación de un concentrado de esfalerita, con la intención de incrementar el grado metalúrgico de zinc mediante la disminución de los contenidos de pirita. Para ello, se empleó una cepa de *Af* con el objetivo de aprovechar las capacidades de oxidación y disolución selectiva que la bacteria tiene sobre sulfuros de hierro.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Mineral empleado

El mineral empleado proviene del yacimiento de la Unidad Minera "Plomosas", ubicada en el Municipio de Parral, Chihuahua, México. Este se caracteriza por la presencia de esfalerita, pirita y galena, además del cuarzo y calcita, esta última en muy bajas concentraciones.

La mena polimetálica se procesa por flotación para obtener un concentrado de zinc con un alto grado metalúrgico. El mineral fue lavado con agua destilada, secado, homogeneizado y se obtuvieron muestras representativas para caracterizar el mineral y para efectuar los experimentos de biolixiviación.

El análisis químico cuantitativo se llevó a cabo mediante espectrometría de absorción atómica (GBC modelo Avanta Σ). Los resultados del análisis químico y la composición mineralógica del concentrado se presentan en la Tabla I. La distribución de tamaño de partículas del concentrado de zinc se determinó en un analizador de tamaños de partícula basado en la dispersión de un rayo láser (Malvern Master Sizer 2000), encontrándose que el 75% del mineral esta por debajo de la malla 270 ASTM, Tyler (-53 µm). El concentrado también fue analizador por microscopía óptica con un microscopio estereoscópico SZH.10 modelo SZH, equipado con un analizador de imágenes MEDIA CYBERNETICS modelo AX-70, para determinar la relación existente entre las fases minerales presentes.

TABLA I

Composición química y mineralógica del concentrado de zinc Plomosas

ELEMENTO	CONTENIDO (%)	
Zinc (esfalerita)	64.4	
Hierro (pirita)	1.41	
Plomo (galena)	0.18	
Calcio (calcita)	0.068%	
Ganga no sulfurosa	Balance	

La Figura 1 presenta el patrón de difracción de rayos X del concentrado de zinc, en el que se indican las especies minerales presentes con contenidos detectables por este método de análisis, las cuales son, en orden de abundancia, esfalerita (ZnS), pirita (FeS₂), galena (PbS), cuarzo (SiO₂) y trazas de calcita (CaCO₃).



Figura 1. Patrón de difracción de rayos-X del concentrado de esfalerita "Plomosas", que muestra las especies mineralógicas que pueden ser detectadas por este método de caracterización. La presencia de pirita, galena, cuarzo y calcita se hace evidente cuando se amplía el difractograma.

El análisis microscópico del mineral indicó que las especies presentes se encuentran con un alto grado de liberación, a excepción de la pirita que se encuentra ocluida en la esfalerita, en forma de granos del orden de 2 μ m, como lo muestra la micrografía de la Figura 2.



Figura 2. Micrografía de una partícula de esfalerita (Sf) del concentrado empleado, mostrando la presencia de granos de pirita (Py) ocluida.

2.2. Bacterias y condiciones de cultivo

Las bacterias mesófilas utilizadas en este trabajo corresponden a una cepa de *Acidithiobacillus ferrooxidans (Af)* que fue aislada y enriquecida a partir de muestras de agua de escurrimientos mineros provenientes de una mina mexicana de minerales sulfuros[®].

El cultivo de la cepa se llevó a cabo en matraces Erlenmeyer, mismos que se introdujeron en una incubadora y agitadora orbital de piso (Lab-Line, Orbit) a 30 °C y 175 rpm, en el medio de cultivo 9K⁽¹⁰⁾. Después de dos semanas de incubación, los cultivos se filtraron, y el líquido claro se empleó como inóculo para cada una de las corridas experimentales efectuadas.

2.3. Metodología experimental

Se inocularon tres suspensiones del concentrado de zinc con diferentes porcentajes de sólidos, contenidas en matraces Erlenmeyer de 500 mL equipados con deflectores o baffles; cada suspensión del mineral en el medio acuoso fue inoculado por triplicado. El contenido de los cultivos estuvo compuesto por el medio de cultivo 9K⁽¹⁰⁾ en una proporción de 2% v/v, la cepa de *Af* (9) en proporción de 10% v/v, el mineral en razón al porciento de sólido requerido (ver Tabla II) y agua necesaria para tener un aforo de 200 ml de pulpa. El pH se ajustó entre 2.5-3.0 mediante adición de H2SO4 al 20% v/v.

También se prepararon muestras control para cada contenido de sólidos, empleando las mismas condiciones de cultivo de estos últimos. Cabe mencionar que a estas muestras control no se les adicionó la cepa de *Af*, cuyo volumen fue sustituido por agua. La intención de este blanco fue el de conocer y aislar el efecto de la disolución química del mineral del efecto biológico.

Los matraces se introdujeron en una incubadora y agitadora orbital Lab-Line, Orbit a 30 °C y 175 rpm, durante un lapso de 49 días. Una vez estabilizado el pH en el valor deseado, se inició la toma de alícuotas para cuantificar la presencia de iones en solución e inferir la cinética de disolución del mineral, midiendo simultáneamente el valor del pH de la suspensión, con el objeto de monitorizar su evolución durante el transcurso del proceso.

TABLA II

Composición de las muestras problema y de las muestras control.

MUESTRA		SOLUCIÓN (% v/v)		
% Sólidos	IDENTIFICACION	9K	Сера	H₂O
5.0	A1, A2, A3	2	10	88
7.5	B1, B2, B3	2	10	88
8.0	C1, C2, C3	2	10	88
5.0	D1	2	-	98
7.5	D2	2	-	98
8.0	D3	2	-	98

2.4. Determinación de Fe y Zn

La determinación de Fe total y Zn se llevó a cabo mediante la técnica de espectrometría de absorción atómica, para lo cual se vertió cada alícuota del licor de biolixiviación clarificada en tubos Hach (con tapa) y se le adicionó HCl al 10% en razón de 1:1.

La determinación de la concentración de los iones metálicos en solución se llevó a cabo cada tercer día, iniciando a partir del octavo día de inoculado el mineral con *Af*, y continuando hasta el día 49 en que el experimento finalizó.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Evolución del pH

Una de las condiciones indispensables para que la lixiviación bacteriana con Acidithiobacillus ferrooxidans se lleve a cabo, consiste en mantener un pH alrededor de 2.7⁰ el cual se ha encontrado representa un valor óptimo para el crecimiento de estas bacterias consideradas acidófilas. En La Figura 3 muestra la evolución del pH durante la biolixiviación del concentrado de Zinc, en donde se aprecian los periodos de ajuste y de evolución natural del mismo. El periodo de ajuste es necesario para mantener un valor de pH cercano a 2.7 al inicio de la inoculación, dado el efecto neutralizante de la calcita presente, mismo que se logra mediante la adición de ácido sulfúrico al 20%, permitiendo con ello mantener los niveles de acidez favorables para la bacteria; este periodo concluye aproximadamente el día doce de hecha la inoculación de la bacteria. Posterior a éste día, el metabolismo de Acidithiobacillus ferrooxidans permite mantener estable el pH, propiciando su evolución natural.



Figura 3. Evolución del pH durante la biolixiviación del concentrado de esfalerita, que muestra el periodo en que hubo necesidad de ajustar el valor del pH y el periodo de evolución natural del mismo.

3.2. Evolución de la concentración de hierro disuelto

La Figura 4 presenta la evolución de la concentración del hierro total en solución, en función del tiempo de biolixiviación. En esta figura se observa que hasta el día 12 la concentración de hierro en solución es similar para todos los contenidos de sólidos y de alrededor de 80 mg/L, mien-



Figura 4. Evolución de la concentración de hierro disuelto durante la biolixiviación del concentrado de esfalerita con *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

tras que para la muestra control es del orden de 5 mg/L, hecho que evidencia, sin lugar a dudas, la actividad bacteriana sobre la pirita. La precipitación del hierro que se observa en las pulpas minerales a partir del día 12, se debe muy probablemente al incremento de pH por arriba de 2.7 (ver Figura 3), el cual es suficiente para provocar la precipitación del Fe(III) como hidróxido férrico y azufre elemental, mismos que afectan la velocidad de disolución, tal y como lo demuestra una simulación termodinámica efectuada con el programa HSC Chemistry para 30 °C y una concentración total de Fe(III) igual a 80 mg/L. La Figura 5 presenta los resultados de dicha simulación, pudiéndose observar que la precipitación del Fe(III) procede en un 90% cuando el pH alcanza un valor de 2.7, comportamiento que está de acuerdo con la precipitación del hierro observada experimentalmente. La predominancia del Fe(III) sobre el Fe(II) en la solución de biolixiviación, está de acuerdo con el mecanismo directo de biolixiviación, que propone que las bacterias Af oxidan tanto a los iones sulfuro a sulfato, como a los iones ferroso a férrico⁽¹²⁾; asimismo, dicha predominancia no esta en contradicción con el mecanismo indirecto en el que la bacteria oxida el ión Fe(II) a Fe(III)⁽¹³⁾, el cual es el que oxida químicamente al mineral, disolviéndolo. Se sabe que el hidróxido férrico precipitado es completamente amorfo y que por lo tanto no puede ser detectado en los residuos de la biolixiviación mediante técnicas de difracción de rayos-X, lo que imposibilitó la identificación exacta de las especies precipitadas.



Figura 5. Diagrama de distribución de especies del sistema Fe(III)-SO $_{4}^{2}$ – H₂O para una temperatura de 30 °C y una concentración total de Fe(III) de 80 mg/L.

Cabe mencionar que en el caso del experimento en el que se empleó un 5% en peso de concentrado, la precipitación del Fe(III) se retarda debido al incremento ligeramente más lento del pH, como se observa en la Figura 3, fenómeno que, como se discutirá más adelante, también es consecuencia de una menor velocidad de disolución de la esfalerita (e.g., menor velocidad de aparición de Zn(II) en la solución) (ver Figura 6).

En la Figura 6 se presenta la evolución de la concentración de Zn(II) en la solución de biolixiviación como función del tiempo, para los tres contenidos de sólidos y para la muestra control. En esta figura se observa que la concentración de Zn(II) se incrementa con una tendencia aproximadamente lineal. También se observa que el experimento con el 5% de mineral, presenta una menor velocidad de disolución, comparada con la mostrada por las de 7.5 y 8% de mineral, y comparada con la cinética de disolución



Figura 6. Evolución de la disolución del zinc en el concentrado de esfalerita durante la biolixiviación mediante *Af*. Los resultados experimentales de las muestras "Control", presentan barras de error que delimitan el intervalo de confianza del 95%.

de la muestra control (e.g., ausencia de Af). Este comportamiento observado puede ser explicado en base a una simulación termodinámica de la disolución de esfalerita en un medio ácido, bajo condiciones similares a las empleadas en la experimentación (30 °C, 8% en peso de sólidos y pH 2.7 con ácido sulfúrico); el efecto del tiempo de reacción se simula a través de la adición de oxígeno gas proveniente de la atmósfera sobre el matraz de reacción (79% N2-21% O2). La Figura 7 muestra los resultados de esta simulación en una gráfica «Concentración de especies vs. Oxígeno gas disuelto». En la figura se observa que la disolución de la esfalerita (ZnS) debido a la reacción con el oxígeno de la atmósfera, da lugar a un incremento lineal de la concentración de Zn²⁺ (y de SO²⁻, proveniente de la oxidación del azufre de la esfalerita con el oxígeno del aire), así como a una disminución de la concentración de H⁺, lo cual se traduce en un incremento de pH de 2.2 a 2.8 (que es el responsable de la precipitación del Fe(III)). Aún más, la mayor disolución de zinc observada en la muestra control, en la que no hay bacterias y en la que la disolución de hierro es insignificante (Figura 4), se debe muy probablemente a que la superficie del mineral no se pasiva como consecuencia de la precipitación de hidróxido férrico (y de azufre elemental, como se discutirá más tarde), como sí sucede con los minerales biolixiviados.

TABLA III

Contenido de hierro y zinc del residuo de la biolixiviación. Las especies mineralógicas reportadas son aquellas identificadas en el difractograma de la Figura 8.

	CONTEN		
ELEMENTO	SIN BIOLIXIVIAR	BIOLIXIVIADO	MINERAL
Hierro	1.41	1.17	"Pirita"
Zinc	64.4	66.9	Esfalerita
Azufre			Azufre elemental
Calcio			Calcita



Figura 7. Diagrama de distribución de especies para el sistema ZnS-H₂O a 30 °C que simula el efecto del oxígeno gas que se disuelve de la atmósfera. El sistema contiene alrededor de 8% en peso de ZnS y está a un pH inicial de 2.2, fijado con ácido sulfúrico.

3.4 Caracterización del residuo de biolixiviación

Una vez concluido el período de biolixiviación (día 49), se tomó una muestra de pulpa y se filtró. El sólido fue sometido a análisis químico para hierro y zinc, así como por difracción de rayos-X. Los resultados se presentan en la Tabla III y en la Figura 8. Asimismo, el líquido fue caracterizado mediante análisis químico elemental. Los resultados se presentan en las figuras 4 y 6.

La Tabla III presenta el análisis químico elemental de la muestra biolixiviada del concentrado de "Plomosas" de la prueba efectuada con un contenido de 8% de sólidos. En ésta se observa un incremento en el grado metalúrgico del zinc de 2.5 puntos porcentuales, así como una disminución del grado del hierro de 0.24 puntos porcentuales. Estos resultados sugieren que *Af* es capaz de disminuir el contenido de hierro de concentrados de zinc y de incrementar el grado del mineral de interés.

En el difractograma de la Figura 8 se aprecia que además de los minerales primarios que constituyen al concentrado (esfalerita, pirita, sílice) se encuentra presente azufre elemental (S°). La presencia de esta especie formada durante la biolixiviación, soporta la observación hecha acerca de la pasivación de la esfalerita debido a la formación de depósitos de azufre elemental que, en combinación con



Figura 9.- Micrografía de una partícula del concentrado de esfalerita biolixiviado mostrando la ausencia de pirita ocluida y la presencia de "poros de corrosión".

el hidróxido férrico precipitado, evitan el contacto entre el mineral y la solución, dando lugar a una cinética de disolución de zinc lenta (Figura 6), comparada con la cinética de disolución en ausencia de bacteria (e.g., muestra control). Estas capas de productos de reacción inhiben también la acción de las bacterias por cualquiera de los mecanismos propuestos en la literatura (e.g., directo e indirecto)[®]. La Figura 9 muestra una micrografía del residuo de biolixiviación, la cual fue obtenida mediante microscopía óptica, en donde se observan "poros de corrosión", bien conocidos en el ambiente de la biohidrometalurgia. Estos poros se encuentran localizados, en su mayoría, en los lugares que inicialmente ocupó la pirita.



Figura 8. Patrón de difracción de rayos X del concentrado de "Plomosas" biolixiviado con *Af* durante 49 días. El residuo corresponde al experimento con un conteniendo el 8% de sólidos

4. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede concluir que el proceso de biolixiviación del concentrado de zinc de "Plomosas", efectuado mediante el empleo de la cepa de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, es un método con aplicación potencial para la eliminación de pequeñas cantidades de hierro pirítico y para incrementar el grado de zinc del concentrado en periodos relativamente cortos. Dado al valor agregado que tiene un concentrado de sulfuro de zinc de alta ley, el resultado obtenido en este trabajo favorece la rentabilidad del procesamiento de este tipo de yacimientos.

La disminución del contenido de hierro del concentrado de zinc fue logrado mediante la aplicación de la cepa de *Af*, obteniendo con ella alrededor de 95 mg/L de hierro en solución en una pulpa con un 8% de sólidos y en un período de alrededor de 8 días de inoculado el mineral.

Los resultados demuestran que el concentrado de esfalerita (ZnS) "Plomosas" respondió favorablemente a la acción biolixiviante de *Af*, obteniendo una reducción del 17% en el contenido de hierro del concentrado biolixiviado, el cual disminuyó de 1.41 a 1.17% Fe. Lo anterior tuvo una repercusión favorable en el grado de zinc, el cual alcanzó un valor máximo de 66.9%.

Las pruebas de biolixiviación del concentrado de zinc con *Af* indican que existe una pasivación del mineral. Este hecho pudo ser observado para el periodo de 8 a 15 días en donde la disolución promedio de zinc fue de 400 mg/L, mientras que las muestras control presentaron concentraciones de zinc en solución de alrededor de 1900 mg/L hacia el final del periodo experimental. Los resultados de la caracterización por difracción de rayos X indicaron la presencia de especies pasivadoras como el azufre elemental.

5. AGRADECIMIENTOS

P. de Lira agradece al CONACYT por la beca otorgada para realizar sus estudios de Doctorado. Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (México) por el soporte financiero para la realización de este proyecto de investigación, así como al personal del laboratorio de análisis químicos (Q. Silvia Violeta Miranda, la M.C. Myriam V. Moreno, la Ing. Alma Delia Rubio) y al M.C. Enrique Torres Moye; responsable del laboratorio de difracción de rayos X, por su contribución a los resultados de este trabajo

6. BIBLIOGRAFÍA

⁽¹⁾. Bosecker K. 1997: «Bioleaching: metal solubilization by microorganisms». *FEMS Microbiology Reviews* **20**:591-604.

⁽²⁾. Makita M. 2004: «Biolixiviación de metales en minerales con arsenopirita mediante cepas de *Thiobacillus ferrooxidans* en cultivo continuo». *Tesis doctoral.* Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C., Chihuahua, México.

⁽³⁾. hhtp:/r0.unctad.org/infocomm/espagñol/zinc/utilización.htm.

⁽⁴⁾. http://www.economia-dgm.gob.mx/nsestadistica/mmetal/2005/MexicoaNivelMundial.pdf.

⁽⁶⁾. Colmer AR, Hinkle ME. 1947: «The role of microorganisms in acid mine drainage: a preliminary report». *Science* **106**:253-256.

⁽⁶⁾. Pronk J.T., Liem K., Bos P., Kuenen J.G.1991b: «Energy transduction by anaerobic ferric iron respiration in *Thiobacillus ferrooxidans». Applied and Environmental Microbiology* **57**:2063-2068.

⁽⁷⁾. Fowler T.A. and F.K. Crundwell. 1998: «Leaching of zinc sulfide by *Thiobacillus ferrooxidans*: experiments with a controlled redox potential indicate no direct mechanism». *Applied and Environmental Microbiology*, **64**:3570-3775.

⁽⁹⁾. Sand W., Gehrke T., Jozsa P.-G., Schippers A. 1999: «Direct versus indirect bioleaching.In: R Amlis, A Ballester». (Ed.) *Biohydrometallurgy and the Environment toward the Mining of the 21st Century.* Elsevier, New York, Part A:27-49.

⁽⁹⁾. Orrantia E., Arévalo S., Cervantes C., Galán L.J., Medrano H., Pereyra B. 1999: «Gold recovery from arsenopyrite ores by using an arsenic-resistant *Thiobacillus ferrooxidans* strain». *Revista Latinoamericana de Microbiología* 41:273-278.

⁽¹⁰⁾. Silverman M.P., Lundgren D.G. 1959: «Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*. I An improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields». *Journal of Bacteriology* 77:642-647.

⁽¹¹⁾. Outokumpu HSC Chemistry for windows. Version 5.1.

⁽¹²⁾. Dziurla M.A., Achouak W., Lam B.T., Heulin T., Berthelin J. 1998: «Enzyme-linked immunofiltration assay to estimate attachment of *Thiobacilli* to pyrite». *Applied and Environmental Microbiology* 64 (8):2937-2942.

⁽¹⁹⁾. May N., Ralph D.E., Hansford G.S. 1997: «Dynamic redox potential measurement for determining the ferric leach kinetics of pyrite». *Minerals Engineering* **10** (11):1279-1290.