



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Aplicaciones biotecnológicas en minería aurífera: Estado del arte sobre la oxidación bacteriana de arsenopirita (FeAsS)

Biotechnological applications in auriferous mining: State-of-the-art on bacterial oxidation of arsenopyrite (FeAsS)

Recibido:14-03-2011 Aceptado: 04-08-2011

JUAN DAVID OSPINA CORREA,¹
LAURA OSORNO BEDOYA,²
JIM GIRALDO BUIL ES,³
ERICA MEJÍA RESTREPO,⁴
MARCO ANTONIO MÁRQUEZ GODOY⁵

Resumen

En el mundo, grandes cantidades de sulfuros provenientes de la explotación minera con características refractarias y/o con iones, en su estructura cristalina, nocivos al medio ambiente y a la salud humana, han sido acumulados en el tiempo. Dichos sulfuros presentan contenidos de oro relevantes en la mayoría de los casos, el tratamiento de estos materiales no es factible por métodos convencionales, lo cual incrementa el costo de la recuperación de los valores metálicos presentes. Es así como, en las últimas décadas, la bio-hidrometalurgia, se ha convertido en una tecnología comercialmente viable para la extracción de metales preciosos. Además, es bien conocida por su utilización en la bio-remediación de drenajes ácidos, remoción de metales pesados presentes en áreas mineras, suelos y sedimentos contaminados, residuos industriales como cenizas de incineración; degradación de cianuro, adecuación de concentrados para separación por flotación espumante, biodesulfurización de carbones, entre otras. En este trabajo se presenta el principio fundamental de la oxidación bacteriana de la arsenopirita, así como un esbozo acerca de los mecanismos y diferentes susceptibilidades que muestra frente a la oxidación biológica.

Palabras clave: Biominería, biooxidación, biolixiviación, arsénico, *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Abstract

Throughout the world, great quantities of sulfides from mining practices have accumulated over time. These have refractory characteristics y/or ions, in their crystalline structure, which are harmful to the environment y to human health. Said sulfides present relevant gold contents in most instances; treatment of these materials is not feasible through conventional methods, increasing the cost of recovery of the metallic values present. This is how in recent decades bio-hydrometallurgy has become a commercially viable technology for the extraction of precious metals. Additionally, it is well known for its use in the bio-remediation of acid drainage, removal of heavy metals present in mining areas, contaminated soils y sediments, industrial residues like incineration ash; cyanide degradation, adaptation of concentrates for foam separation, coal biodesulfurization, among others. This work presents the fundamental principle of bacterial oxidation of arsenopyrite, as well as an outline about the

- 1 Colombiano, MSc Ing., Materiales-Procesos, Coordinación de Investigación, Área de Mecánica, juan.ospina@pascualbravo.edu.co
- 2 Colombiana, Ing. Biológica, Producción Industrial, Tecnológico Pascual Bravo - I.U. AA 6564. Medellín. Colombia. lauraosornobedoya@gmail.com
- 3 Colombiano. Administrador en Salud-Gestión Sanitaria y Ambiental, Producción Industrial, Tecnológico Pascual Bravo - I.U. AA 6564. Medellín. Colombia. jimgiraldo@gmail.com
- 4 Colombiana. MSc Ingeniería, materiales-procesos, Servicio Nacional de Aprendizaje SENA, Centro de la Manufactura Avanzada. Cadena TIC's Electrónica. AA 1188. Medellín. Colombia. emejia@sena.edu.co
- 5 Colombiano. PhD en Geología Grupo de Mineralogía Aplicada y Bioprocesos (GMAB), Universidad Nacional de Colombia, Medellín AA 1027. Colombia. mmarquez@unal.edu.co

mechanisms y different susceptibilities it presents against biological oxidation.

Keywords: Bio-mining, bio-oxidation, bio-leaching, arsenic, *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Introducción.

En 1947, Colmer and Hinkle observaron que la oxidación de hierro asociada a la formación de drenajes ácidos de minería era un proceso que involucraba ciertos microorganismos, los cuales aumentaban la oxidación y solubilización de los sulfuros presentes en los drenajes ácidos de una mina de carbón en Estados Unidos. Grandes esfuerzos en la caracterización de la flora microbiana de estos efluentes dieron sus frutos cuando se logró aislar microorganismos como *Thiobacillus thiooxidans* (Colmer and Hinkle, 1947; Temple and Colmer, 1950) los cuales tienen la capacidad de aumentar la velocidad de oxidación de las inclusiones de pirita en el carbón, derivar la energía necesaria para la producción de ATP (adenosín trifosfato) de la catálisis oxidativa de compuestos inorgánicos y fijar el carbono necesario para su metabolismo del CO₂ atmosférico. Estos microorganismos fueron considerados responsables de la oxidación del ion Fe²⁺ hasta el ion Fe³⁺, por lo tanto el grupo de Colmer, propuso el nombre de *Thiobacillus ferrooxidans* sp. (Colmer and Hinkle, 1947; Temple and Colmer, 1950). En adelante, y debido al gran interés económico y a la relevancia en diversas áreas de la actividad humana, muchas investigaciones han sido enfocadas sobre el papel que tienen los microorganismos en la oxidación y lixiviación de sulfuros (Vanselow, 1976; Bruynesteyn, 1989; Rossi, 1990; Acevedo and Gentina, 1993; Ahonen and Tuovinen, 1993-1994; McIntosh *et al.* 1997; Brierley and Brierley, 2001, Rawlings, 2002; Rohwerder *et al.* 2003; Olson *et al.* 2003; Da Silva, 2004; Francisco, 2006; Ehrlich and Newman, 2009).

De este modo, en las últimas décadas los procesos biotecnológicos en minería son comercialmente viables para la extracción de metales base y preciosos, tratamiento de drenajes ácidos o biorremediación, remoción de metales pesados presentes en áreas mineras, suelos y sedimentos contaminados o residuos industriales como cenizas de incineración (Bosecker, 2001), en la degradación de cianuro (Akcil *et al.* 2007), adecuación de concentrados para separación por flotación (Patra y Natarajan, 2003) y biodesulfurización de carbones (Eligwe, 1988; Rossi, 1990).

En la industria minera las prácticas biotecnológicas para el procesamiento de minerales son empleadas, principalmente, para la extracción de oro y cobre (Ehrlich and Newman, 2009). Por ejemplo, en Chile se procesan alrededor de ochenta y cuatro mil toneladas al día de concentrados de cobre (Brierley y Brierley, 2001). Además es importante

aclarar que actualmente, del 10% al 15% de la producción mundial de cobre es obtenida mediante biolixiviación de minerales de cobre de bajo tenor (Bevilaqua, 2003).

Los procesos alternativos como la biohidrometalurgia presentan ventajas como bajos costos de operación y capital de inversión, los cuales pueden llegar a ser hasta un 50% menos en insumos y bajos requerimientos de energía (Acevedo y Gentina, 1993; García and Urenha, 2001), simplicidad en la puesta en marcha de los sistemas de operación (Brierley y Brierley, 2001), versatilidad en cuanto a la adaptación a los diferentes tipos de proceso (Brierley y Luinstra, 1993) y, desde el punto de vista ambiental, la no producción de gases nocivos, en comparación con otros métodos usados rutinariamente en el beneficio de minerales, como la tostación (Çopur, 2001). Es relevante anotar que estos procesos contribuyen en la generación de desechos biodegradables o químicamente más estables (Rawlings, 2002, Devacia and Natarajan, 2004).

Por otra parte, en el mundo existe una alta cantidad de sulfuros provenientes de la explotación minera con características refractarias y/o con iones en su estructura cristalina, nocivos al medioambiente y a la salud humana (Marsden and House, 1992; Rodríguez *et al.* 2003).

Es en este punto donde la arsenopirita juega un papel fundamental debido a que encapsulan en su matriz elementos valiosos como oro, sea en la forma de pequeñas inclusiones (Márquez, 1999) o como oro invisible (Márquez *et al.* 2006), lo cual hace que la mayoría de las veces la cianuración de estos minerales requiera largos periodos de exposición, obteniéndose de este modo un material de mayor costo (Suzuki, 2001).

De otro lado, aunque las investigaciones en el área han venido incrementándose (Olson *et al.* 2003; Rawlings, 2005), en Colombia, existen pocos trabajos publicados en esta área. Cabe resaltar los de Pérez y Velásquez, 1998; Duque y Noguera, 2001; Muñoz, 2002; Ossa, 2004; Ossa *et al.* 2005; Cardona y Márquez 2009; Mejía, 2010 y Ospina, 2010, y en el área de caracterización mineralógica de procesos, los cuales contribuyen al entendimiento de los mecanismos de biooxidación, tal como está planteado en los trabajos de Zapata *et al.* 2006; Márquez *et al.* 2006; Cardona y Márquez, 2009, Mejía, 2010 y Ospina, 2010. Es por esto que se hace necesario aumentar los esfuerzos en este tipo de investigaciones que permitan la implementación a escala comercial de estos procesos en Colombia.

Así mismo es importante y urgente la implementación de alternativas biotecnológicas en nuestro país, que nos permita recuperar valores metálicos sin generar un impacto ambiental devastador, como el observado en la Figura 1. Es así como el objetivo de este trabajo es presentar el principio fundamental de la oxidación bacteriana de la arsenopirita y hacer un esbozo acerca de sus mecanismos de oxidación.



Figura 1. La destrucción ecológica del cauce del río Dagua, en jurisdicción de Buenaventura, Colombia. Informe revista semana, 2 de abril de 2010. <http://www.semana.com/noticias-nacion/maldicion-del-oro/137125.aspx>. (A) Los cambuches que ha surgido a lo largo de 22 kilómetros. (B) Pozos que quedan después de explotación minera. (C) Repesamiento de aguas en el río para lavar oro. (D) Tala desmedida. (E) Panorama donde se aprecia la destrucción del río. (F) Cauce del río Dagua después del beneficio minero. (G) Enormes cráteres y decenas de brazos mecánicos que remueven la tierra y (H) Panorama general sobre la transformación física de la zona.

Pretratamiento oxidante

Existen dos categorías en este tipo de procesos: (i) los hidrometalúrgicos y (ii) los pirometalúrgicos. Dentro de estos últimos, el método más utilizado en el mundo es la calcinación, debido a su versatilidad en el tratamiento de casi cualquier tipo de mina. Sin embargo, los problemas ocasionados debido a las emisiones de SO_2 a la atmósfera y las reglamentaciones ambientales actuales, han impedido su uso. No obstante, la adición de compuestos como $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es aprobada para la retención de gases sulfurosos y de arsénico, pero los costos generados son altos (Hagni and Hagni, 1994). De otro lado, según Demopoulos y Pangelakis (1989), los métodos hidrometalúrgicos pueden ser divididos en tres categorías: (I) oxidación hidroquímica, (II) oxidación bioquímica y (III) oxidación por presión.

La oxidación de los sulfuros es importante en muchos procesos geoquímicos, como la formación de depósitos minerales, formación de drenajes ácidos, producción de minerales secundarios, los cuales pueden ocasionar problemas ambientales, y liberación del oro en procesos de pretratamiento anteriores a la lixiviación. La mayoría de los sulfuros se oxidan lentamente en condiciones atmosféricas, en un amplio intervalo de pH, y en ausencia de alguna sustancia oxidante. Para aumentar la razón de oxidación de los sulfuros, es necesario aumentar el potencial de oxidación, mediante el uso de sustancias oxidantes como oxígeno, HCl , HNO_3 , y, cuando es necesario, aumentando la temperatura y la presión del sistema. Según Marsden y House (1992), partículas con diámetros entre $45 \mu\text{m}$ y $75 \mu\text{m}$ y óptimas condiciones de Eh-pH, pueden ser oxidadas en

horas o minutos. Además, pueden emplearse catalizadores como iones de cobre o microorganismos para aumentar la velocidad de las reacciones oxidantes.

La oxidación con bacterias, Figura 2, es un método que viene siendo utilizado en el pretratamiento de menas refractarias (Gilbert *et al.* 1988), algunas veces como una alternativa a los procesos de calcinación y oxidación por presión (Neale *et al.* 1991) o en la viabilización para la explotación de menas de bajo tenor (Brierley and Luinstra, 1993).

Este tipo de pretratamiento, muestra normalmente costos menores, si es comparado con métodos alternativos, oxidación por presión y calcinación (McNulty y Thomson, 1990; Gilbert *et al.* 1988). Además, según Lawrence y Bruynesteyn (1983), este proceso da como resultado recuperaciones alrededor de 80%. El proceso consiste en la oxidación de especies minerales a través de la acción directa o indirecta de una bacteria y/o compuestos producidos por ella, Figura 2, lo cual permite la liberación del oro, incluido o en forma de solución sólida, en la estructura de algunos minerales, tornándolo disponible para los procesos subsecuentes como la lixiviación con

cianuro (Gilbert *et al.* 1988; Neale *et al.* 1991; Brierley y Luinstra, 1993).

Los microorganismos más importantes en los procesos biohidrometalúrgicos se dividen en cuatro grupos: (a) mesófilos del género *Acidithiobacillus* y *Leptospirillum*; (b) moderadamente termófilos del género *Sulfobacillus*; (c) extremadamente termófilos de los géneros *Sulfolobus*, *Acidanus*, *Metallosphaera* y *Sulfurococcus*, y (d) microorganismos heterotróficos (Brewis, 1995). La bacteria más comúnmente usada es el *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*A. ferrooxidans*), la cual es acidófila (pH ~2), mesófila (25-35°C) y autótrofa (fuente de carbono del CO₂ atmosférico) (Rossi, 1990; García, 1995; Nordstrom y Southam 1997). *A. ferrooxidans* es gramnegativa, presenta forma de bacilo, con diámetro entre 0,4 μm -0,8 μm y longitud entre 0,9 μm y 2,0 μm (Rossi, 1990).

La capacidad de las bacterias para oxidar minerales que se componen de sulfuros metálicos, está dada por su condición quimiolitotrofa, es decir, obtienen su fuente de energía de compuestos inorgánicos, por lo tanto, crecen a expensas de la liberación u obtención de electrones a partir de minerales (Nordstrom y Southam 1997). La Tabla 1 hace un resumen de lo expuesto.

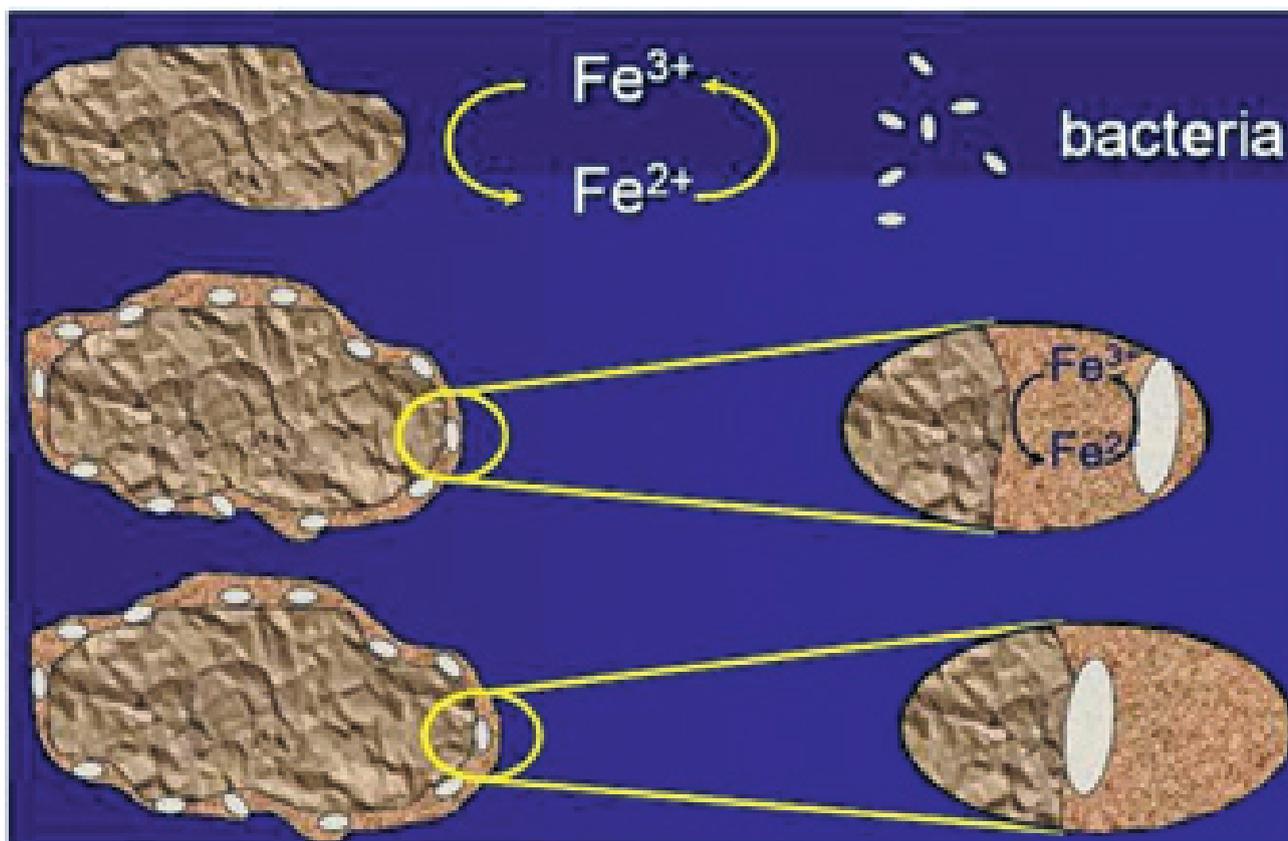


Figura 2. Mecanismos de oxidación bacteriana propuestos por Silverman (1967). Modificado de Crundwell (2003). (A) Mecanismo indirecto. (B) Mecanismo de contacto indirecto y (C) Mecanismo de contacto directo.

Tabla 1. Clasificación de los microorganismos usados en la biolixiviación de metales (Suzuki, 2001)

Grupo	Nombre	Características Fisiológicas
Mesófilos	<i>Acithiobacillus ferrooxidans</i>	Oxida el Fe^{2+} y S°
	<i>Acithiobacillus thiooxidans</i>	Oxida el S°
	<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	Oxida el Fe^{2+}
	<i>Ferroplasma acidarmanus</i>	Oxida el Fe^{2+}
	<i>Ferroplasma acidiphilum</i>	Oxida el Fe^{2+}
Termófilos moderados		
	<i>Sulfolobus solfataricus</i>	Oxida el S°
	<i>Sulfobacillus termosulfidooxidans</i>	Oxida el Fe^{2+} y S°
	<i>Sulfobacillus acidophilus</i>	Oxida el S°
	<i>Acithiobacillus caldus</i>	Oxida el S°
Termófilos extremos		
	<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	Oxida el S° y Fe^{+2}
	<i>Acidianus brierleyi</i>	Oxida el S° y Fe^{+2}

Los sulfuros presentan susceptibilidades diferentes a la oxidación biológica y, consecuentemente, la velocidad de oxidación entre ellos varía considerablemente. Normalmente, minerales con estructuras cristalinas pobremente ordenadas oxidan más velozmente (Marsden and House, 1992). Por ejemplo, las pirritas que contienen As oxidan más rápidamente que las puras, debido al hecho de que el enlace As-S es más débil que el Fe-S. Por la misma razón, la arsenopirita oxida más pronto que la pirita (Marsden and House, 1992).

Principio fundamental de la biooxidación

La biooxidación se da como un proceso de oxidación de sulfuros, por la acción catalítica de bacterias. En la Figura 3 se puede apreciar cómo la bacteria usa para su metabolismo la energía liberada de la transición de electrones entre compuestos de mayor energía potencial, hacia otros con menor energía potencial. Para que la fuerza motriz del mecanismo sea generada, debe existir un compuesto donador de electrones, en este caso el sustrato a ser oxidado (Fe^{2+} o S°), y otro compuesto que actúa como el receptor de electrones, para este caso el oxígeno.

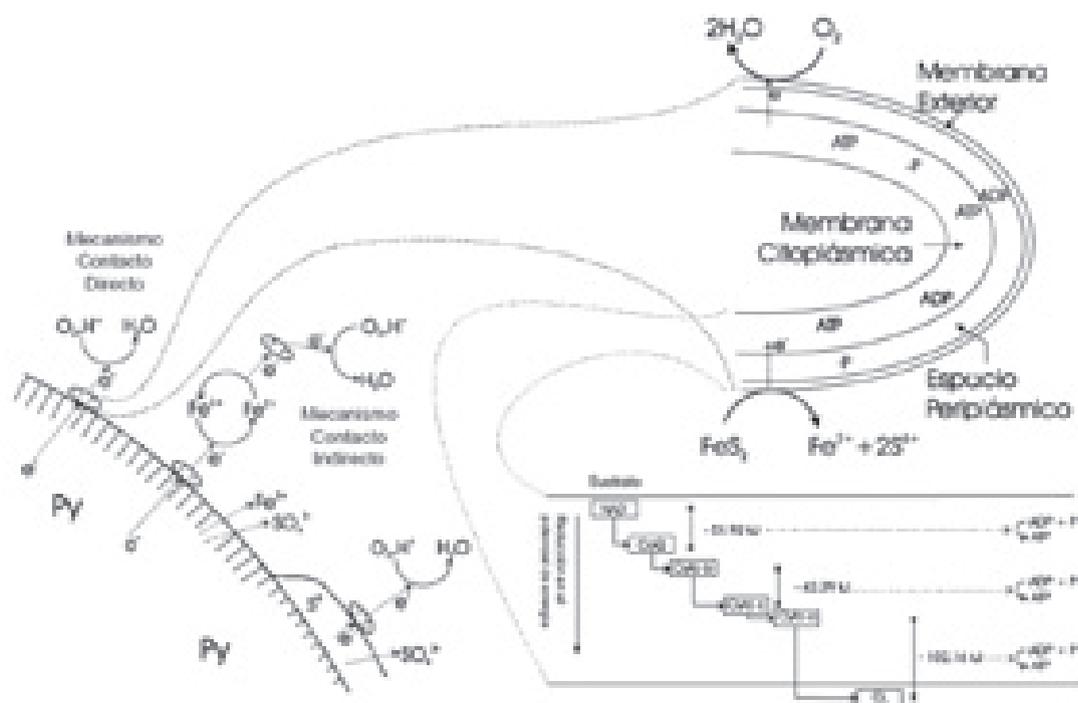


Figura 3. Metabolismo bacteriano el cual consta de de compuestos de mayor a menor energía potencial.

El paso inicial donde el electrón pasa del mineral hacia el oxígeno y genera agua, es denominado “mecanismo de contacto directo” de la bacteria, mientras que, el proceso de oxidación de Fe^{2+} para Fe^{3+} es denominado “mecanismo de contacto indirecto” (Vargas, 1996; Sasaki, 1997). A pesar de que existen evidencias claras de la existencia de estos dos mecanismos, la contribución relativa de cada uno de ellos en el proceso de oxidación de sulfuros todavía no ha sido totalmente aclarada (Rawlings *et al.* 2005).

El principal mecanismo catalítico de la bacteria consiste en la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} , para mantener de este modo una adecuada (alta) razón Fe^{3+}/Fe^{2+} , lo que acelera la oxidación de los sulfuros, ya que, como es bien conocido, el Fe^{3+} es uno de los principales agentes oxidantes de los sulfuros a diferente pH (Steger and Desjardins, 1978; Goldhaber, 1983; Wiersma and Rimstidt, 1984; McKibben and Barnes, 1986; Luther III, 1987; Moses *et al.* 1987; Williamson and Rimstidt, 1994; Sasaki *et al.* 1995; Luther II, 1997; Sasaki *et al.* 1997). Sin embargo, esta reacción es algo lenta a pH muy ácidos (< 2), en medios abióticos.

Vargas *et al.* (1993), en su trabajo sobre la pirita, define la biooxidación como un proceso que envuelve una reacción de corrosión, en la cual el mineral, un semiconductor, se disuelve anódicamente, liberando electrones para un oxidante (O_2 o Fe^{3+}), caracterizando claramente un efecto galvánico, donde la acción catalítica de la bacteria puede ser entendida como las modificaciones del mecanismo electroquímico de la oxidación del sulfuro, siendo que las altas razones Fe^{3+}/Fe^{2+} serían convenientes debido a que aumentan la polarización galvánica del mineral.

Una de las grandes ventajas que tiene la oxidación bacteriana es el ataque selectivo de los sulfuros, sin destruir completamente la matriz silicática y actuando a lo largo de planos cristalográficos, límites entre granos y cualquier tipo de irregularidad o imperfección en los cristales, exponiendo así el oro para la cianuración (García, 1995; Brewis, 1995; Vargas *et al.* 1993; Gilbert *et al.* 1988). Otro mecanismo a ser considerado es la adherencia selectiva de los microorganismos en los minerales, la cual resulta de varios tipos de interacción: (a) hidrofobicidad, (b) fuerzas electrostáticas, (c) fuerzas de van der Waals (Vargas, 1996), además de la formación de glycocalyx a partir de las bacterias (Rossi, 1990).

Mecanismos de oxidación bacteriana para la arsenopirita

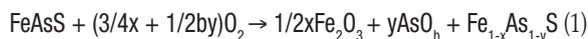
La arsenopirita es la fuente mineral de arsénico más común en la superficie terrestre. Se puede encontrar en una variedad de sistemas tales como depósitos magmáticos, hidrotermales y pórfidos. Es por esto que la arsenopirita es comúnmente asociada con la aparición de oro, lo que

genera su amplia explotación y posterior descarga como desechos sólidos en los procesos mineros (Corkhill and Vaughan, 2009). Es un mineral estable en condiciones reductoras, pero es oxidado durante condiciones de intemperismo, liberando durante este proceso H_2SO_4 , H_3AsO_3 y H_3AsO_4 (Nesbitt *et al.* 1995).

El estudio y comprensión de la salida de arsénico y la recuperación de oro, debido a la oxidación de la arsenopirita, es de gran importancia para entender los impactos generados por la explotación minera a la salud humana y al medio ambiente (Craw *et al.* 2003; Yunmei *et al.* 2004; Walker *et al.* 2006; Ehrlich and Newman, 2009).

En los trabajos desarrollados por Buckley y Walker (1988) sobre superficies de arsenopiritas oxidadas en aire, clivadas en condiciones controladas de presión, en atmósferas de N_2 , sugieren un mecanismo de reacción para la oxidación del mineral, Ecuación 1, donde las velocidades de oxidación para las fracciones molares de Fe, As y S son iguales.

En la expresión $y > x$; $b \leq 1,5$:



Los productos de este proceso de oxidación incluyen: As(I), As(II) y As(III) enlazados al oxígeno, Fe(II) en solución sólida con sulfoarseniuros, Fe(III) enlazados con oxígenos y disulfuros. En este trabajo no se observó la presencia de productos de la oxidación del compuesto S-O.

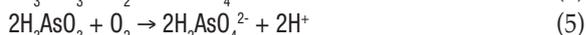
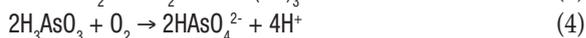
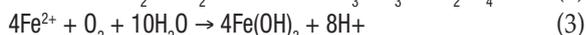
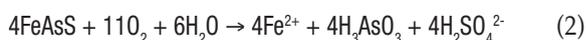
Richardson y Vaughan (1989) sugirieron que la oxidación de la arsenopirita, expuesta en aire, a 150°C, produce las siguientes especies químicas: As(III), S, Fe(III) y Fe(II). Ellos sugirieron, debido a las altas concentraciones de Fe(II) en comparación con Fe(III), la presencia de wustita ($Fe_{1-x}O$) y magnetita (Fe_2O_3).

Nesbitt *et al.* (1995) caracterizaron la superficie de una arsenopirita luego de oxidada durante 25 horas en aire. Las especies químicas observadas incluyen la presencia de O_2 , grupos hidroxilos y agua superficial. Se identificaron oxihidróxidos de hierro con energías similares a las de la goetita ($FeOOH$), también especies químicas como As(I), As(III) y As(V).

Schaufuss *et al.* (2000), identificaron principalmente Fe(II) y pequeñas cantidades de Fe(III), en las muestras de arsenopirita oxidada en presencia de O_2 en condiciones controladas de presión, en forma de oxihidróxidos de hierro y algunos compuestos químicos como Fe-As. No obstante, Williamson y Rimstidt, 1994; Rimstidt y Vaughan, 2003 y Walker *et al.* (2006) observaron la oxidación de la arsenopirita en diferentes condiciones de oxígeno disuelto y a pH neutro. Las velocidades de disolución del mineral fueron determinadas a partir de medidas, en estado estacionario,

de la salida de As, S y Fe. Ellos encontraron que a altas concentraciones de oxígeno disuelto, la concentración en solución de As(V) se incrementaba. Sorprendentemente, los autores sugieren que la oxidación de la arsenopirita no depende de la concentración de oxígeno disuelto. Ellos explican esto en términos de un modelo de oxidación en tres pasos consecutivos de los cuales cualquiera podría ser el paso limitante. El primer paso es la donación de electrones desde el sitio catódico hacia el agente oxidante. Luego de esto se da la transferencia electrónica desde el sitio anódico. Esto es controlado por la resistividad del mineral. Luego la adhesión del oxígeno disuelto, proveniente del agua, a las especies de arsénico y hierro.

De estos pasos Walker *et al.* (2006) sugieren que el primer paso no es probable, ya que la oxidación es independiente de la concentración del oxígeno disuelto, el segundo es poco probable ya que la resistividad de la arsenopirita es similar a la de la pirita y este paso no es el limitante para ese mineral. Por lo tanto, es el tercer paso el determinante en el proceso de oxidación de la arsenopirita. Los autores también proponen una serie de reacciones para la oxidación de la arsenopirita a pH cercano a 7.



A través de esta serie de reacciones, Walker *et al.* (2006) sugieren que la oxidación del hierro y del arsénico no es completa y da una constante de velocidad de 10^{-10} (mol)(m²)(s⁻¹) en un intervalo de pH de 6,3–6,7. Esto es significativamente más lento que lo propuesto por McKibben *et al.* (2008) quienes en su estudio sobre el efecto del oxígeno disuelto sobre la velocidad de disolución de la arsenopirita obtienen una velocidad de 10^{-6} (mol)(m²)(s⁻¹) en un intervalo de pH de 2–4,5.

Yunmei *et al.* (2007) investigaron el mecanismo y la velocidad de disolución de la arsenopirita por el oxígeno disuelto en un amplio rango de pH, temperatura y oxígeno disuelto. La velocidad de oxidación fue medida usando la velocidad de conversión de As(III) a As(V). La velocidad de salida de arsénico se aumentó con el incremento de la concentración de oxígeno disuelto y la temperatura y fue similar a pH inferiores a 7 y superiores a 10. También observaron que la velocidad de oxidación pasa por un mínimo en valores de pH cercanos a 7,5. Esto se puede explicar como un cambio en la concentración de las principales especies oxidantes.

Buckley and Walter (1988) analizaron la superficie de la arsenopirita después de varias horas de reaccionar en

ácido acético a un pH de 2,9. Los resultados mostraron que la superficie de la arsenopirita es empobrecida en hierro y arsénico, lo que genera una reconfiguración estructural manifestada en la formación de una pirrotita. Luego de un calentamiento, la superficie del mineral se enriqueció en azufre. Mikhlin *et al.* (2006), también observaron en la superficie del mineral una disminución en la concentración de hierro y arsénico después de someter a un tratamiento ácido a la arsenopirita.

Costa *et al.* (2002) observaron que cuando la arsenopirita reaccionaba en medios ácidos, en la composición química superficial predominaba la presencia de As(III) y As(V), en la forma de arsenatos y arsenitos férricos, también azufre elemental. Richardson and Vaughan (1989) encontraron que la superficie del mineral estaba enriquecida en hierro y arsénico después de reaccionar con H₂SO₄. Nesbitt y Muir (1998), trabajando con drenajes ácidos de minería sobre la superficie de la arsenopirita, no observaron la presencia de azufre. Corkhill *et al.* (2008) reportaron la presencia de Fe(III)–OH, en 69% atómico en relación con el hierro, As(III)–O y As(V)–O, que combinados están en 78% atómico en relación con el arsénico, también hallaron tiosulfatos y sulfatos, en 68,6% atómico, para una arsenopirita que se oxidó en H₂SO₄. Iguales resultados se observaron en la oxidación del mineral en agua (Nesbitt and Muir 1998) lo que está en desacuerdo con varios autores (Buckley and Walker, 1988; Costa *et al.* 2002; Mikhlin *et al.* 2006). Corkhill *et al.* (2008) sugirieron que el arsénico es un elemento que oxida rápidamente en condiciones ácidas y que el hierro y el azufre oxidan a la misma velocidad. Los resultados de éste estudio mostraron que luego de 32 días de reacción en condiciones ácidas se liberaron al medio 1340 ppm de hierro y 886 ppm de arsénico.

Hacquard *et al.* (1999) trabajando sobre la adsorción de Ni(II) sobre la superficie de la arsenopirita, demostraron que la superficie del mineral era fuertemente oxidada, debido a la catálisis del Ni(II), y que casi todo el Fe(II) fue oxidado, el As(-I) pasó a As(V). El azufre fue descrito para varios estados de oxidación entre los que se encontraron disulfuros, polisulfuros y sulfatos. También hubo presencia de una película, producto del proceso oxidativo, compuesta principalmente de arsenato y arsenito férrico, sulfato férrico y agua molecular con un grosor de aproximadamente 2,5nm.

Mikhlin and Tomashevich (2005) confirmaron la presencia de películas delgadas ricas en arsénico, azufre y hierro crecidas sobre la superficie de la arsenopirita. Ellos hallaron que el hierro conservaba en gran medida una configuración de bajo spin (t_{2g}^6) y el contenido de Fe²⁺ de alto spin se incrementaba. El alto spin del Fe²⁺ se atribuyó a la formación, aumento en el grosor de la película, de las capas de arsenito y arsenato férrico.

Como uno de los desarrollos más notables en el estudio de los procesos de disolución de minerales, durante los últimos años, se encuentran los fundamentos bioquímicos de las reacciones de lixiviación, que en este contexto explican los mecanismos químicos detrás del comportamiento del azufre en estos procesos (Schippers y Sand 1999; Schippers *et al.* 1996 y 1999)

Hoy por hoy, la comunidad científica internacional tiene consenso sobre qué microorganismos como *Acidithiobacillus ferrooxidans* no son capaces de oxidar directamente un mineral a través de la adherencia a la superficie de éste (Sand *et al.* 1995; Jonson *et al.* 2007), pero estos microorganismos son capaces de transformar los iones Fe(II) a Fe(III) y el rol de las bacterias es regenerar el ion Fe(III), nombrando esta ruta del proceso como mecanismo indirecto de oxidación y discriminándolo en dos submecanismos: de contacto indirecto y de no contacto, como se muestra en la Figura 4. (Rawlings 2001; Sand *et al.* 2001; Rawlings 2002; Foucher *et al.* 2003; Vardanyan y Akopyan, 2003; Mignone y Donati, 2004; Rawlings, 2005)

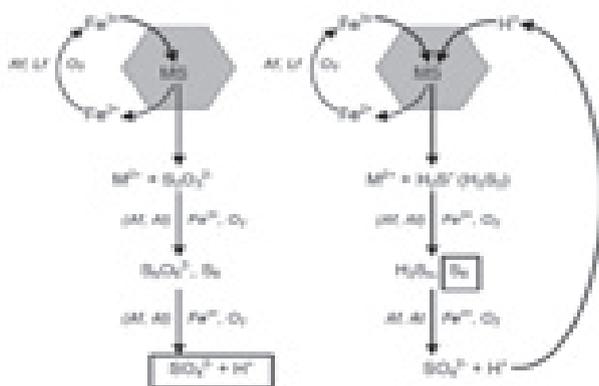


Figura 4. Mecanismos indirectos en la biolixiviación de sulfuros según Schippers y Sand (1999). De izquierda a derecha. Izquierda: mecanismo vía tiosulfato. Derecha: mecanismo vía polisulfuro. En la imagen se tiene que: Af = *Acidithiobacillus ferrooxidans*; Lf = *Leptospirillum ferrooxidans*; At = *Acidithiobacillus thiooxidans*.

En el mecanismo indirecto, o de no contacto, la función de las bacterias presentes en la solución es la de oxidar los iones Fe(II) a Fe(III), este ion resultante entra en contacto con la superficie del mineral donde es reducido a expensas de la salida de un nuevo ion Fe(II) y regenerar el ciclo de una forma exponencial (Sand *et al.* 1995).

En el mecanismo de contacto directo, la mayoría de los microorganismos están adheridos a la superficie del mineral, lo que implica que los procesos bioquímicos de transferencia electrónica, responsables de la disolución

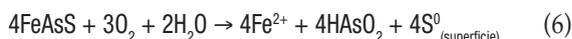
del mineral, toman lugar en la interface entre el mineral y la pared celular de la bacteria, en ambos mecanismos, contacto indirecto y directo, la contribución de la bacteria a la disolución del mineral es la regeneración del agente oxidante, el ion Fe(III) y la subsecuente oxidación de los compuestos resultantes de la disolución (Rohwerder and Sand. 2003).

Varios autores han observado que la disolución de algunos minerales puede ser controlada por la estructura cristalográfica del mineral y ésta determinar la adherencia de los microorganismos a la superficie de la arsenopirita. Sampson *et al.* (2000) observaron que las células de *A. ferrooxidans* se adhieren a la superficie de arsenopirita y loellingitas a lo largo de defectos cristalinos. Edwards *et al.* (2000) investigaron la adherencia de *Acidithiobacillus caldus* en agregados masivos de arsenopirita y encontraron que la disolución ocurría en forma preferencial. Ellos sugirieron que esto podría deberse a que las células se adhieren a lo largo de pits y defectos en la estructura del material o en zonas ricas en azufre. Estos resultados están de acuerdo con McGuire *et al.* (2001b) quienes sugirieron que la adherencia celular debería ser controlada por las zonas de acumulación de azufre sobre la superficie del mineral.

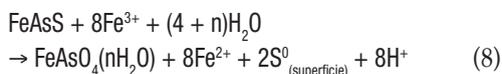
Edwards *et al.* (2001) observaron pits de disolución del tamaño de células bacterianas sobre la superficie oxidada de la arsenopirita en la presencia de *Ferroplasma acidarmanus* a 37°C. El tamaño de los pits fue asociado con el incremento en la velocidad de disolución del mineral.

Harneit *et al.* (2006) observaron la ubicación preferencial de *A. ferrooxidans* sobre una superficie mineral con defectos visibles y atribuyeron este comportamiento a una mayor viabilidad de azufre y de Fe(II).

Se han realizado algunas investigaciones sobre la influencia de las interacciones electrostáticas e hidrofóbicas en la adherencia de *A. ferrooxidans* sobre la superficie de la arsenopirita. Cruz *et al.* (2005), observaron que la adherencia de los microorganismos no ocurre inmediatamente, esto se puede deber a un proceso de disolución ácida que modifica la estructura superficial del mineral y promueve la lixiviación preferencial del Fe(II), una fuente energética más viable que la arsenopirita misma. Sampson and Blake (1999) investigaron la adherencia de *A. ferrooxidans* a concentrados de arsenopirita y loellingitas, encontraron que la adherencia de las células se debía, probablemente, a una unión proteica. Fernández *et al.* (1996ab) sugirieron un mecanismo de tres pasos para la biooxidación de la arsenopirita por *A. ferrooxidans*. Ellos propusieron que el mecanismo de oxidación es iniciado por el crecimiento de las bacterias sobre la superficie del mineral, lo que genera pits de corrosión y disolución preferencial de Fe(II), As(III), S(IV) y S(0), según las ecuaciones 6 y 7:



Las altas concentraciones de Fe(II) en la solución aumenta la velocidad de crecimiento de los microorganismos. Luego la generación de Fe(III), promovida por bacterias, producido en la superficie del mineral. Éste proceso produce arsenatos férricos de baja cristalinidad, ecuación 8.



Fernández *et al.* (1996ab) concluyeron que, a pesar de la evidencia de la biooxidación directa, un mecanismo de oxidación indirecta ocurre durante la disolución del mineral. Sampson *et al.* (2000) argumentaron que pese a la evidencia de la adherencia de los microorganismos a la superficie de la arsenopirita, el mecanismo de disolución del mineral es una mezcla de mecanismos indirectos y directos, y sugieren que el mecanismo de oxidación directa está presente en las etapas iniciales de la oxidación del mineral hasta el punto donde la concentración de Fe(II) es lo suficientemente alta. Lo que está de acuerdo con Corkhill *et al.* (2008) quienes sugieren que la oxidación directa es poco probable.

Carlson *et al.* (1992) observaron la formación de jarositas ($\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$) y escoroditas ($\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) después de un proceso de biooxidación de arsenopirita con *A. ferrooxidans*. Fernández *et al.* (1996ab) reportaron la presencia de arsenatos férricos y azufre elemental sobre la superficie de la arsenopirita biooxidada por *A. ferrooxidans*. Tuovinen *et al.* (1994), observaron que la disolución de la arsenopirita producía jarositas, azufre elemental y arsenatos férricos cuando el mineral reaccionaba con *Acidithiobacillus caldus* a 45°C. Ellos sugirieron que la cantidad de precipitados formados es controlada por la cantidad de superficie oxidada del mineral, el pH y la composición iónica de la solución lixivante. McGuire *et al.* (2001b) también observaron azufre elemental como producto de la oxidación del mineral. Sugirieron que, aunque se formó una película delgada sobre la superficie del mineral, la lixiviación del mineral por *A. caldus* no fue inhibida.

Varios estudios de la toxicidad del arsénico sobre bacterias y arqueas se han desarrollado (Stolz *et al.* 2006). Los iones arsenitos (AsO_3^{3-}) inhibe compuestos importantes, deshidrogenasas tales como pirubica y α -ketoglutarato, en procesos bioquímicos y los iones arsenatos inhiben la formación de ATP por quimiosmosis (Stolz *et al.* 2006). Sin embargo, también hay estudios que demuestran que cierto tipo de microorganismos son capaces de tolerar grandes cantidades de arsénico a través de un mecanismo de eliminación de éste. Collinet y Morin (1990) observaron que la concentración de As(III) tiene un fuerte efecto sobre el crecimiento de *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans* en

concentrados de pirita y arsenopirita. La disminución en la velocidad de crecimiento ocurre a concentración de As(III) de 10 g^L-1 y estas bacterias fueron capaces de crecer hasta concentraciones de As(V) de 40g^L-1. Edwards *et al.* (2000) trabajando con *A. caldus* sobre concentrados de arsenopirita observaron que las curvas de crecimiento bacteriano eran erráticas y atribuyeron esto a la toxicidad del As(III) y As(V). Hallberg *et al.* (1996) también observaron que el As(III) reduce la viabilidad de *A. caldus*. Ellos observaron partículas de azufre extracelular indicando que la habilidad de *A. caldus* fue inhibida ante la presencia de los iones de arsénico. Estudios posteriores por Dopson *et al.* (2001) y Groot *et al.* (2003) identificaron un gen de resistencia al arsénico en *A. caldus*. Esto permite un mecanismo de eliminación de arsénico que se produce cuando la arsenato-reductasa (arsC) reduce el arsénico en el interior de la célula y una bomba específica de salida de arsénico (arsB) saca éste ion, fuera de la célula, a través de la membrana citoplasmática. Un mecanismo similar fue identificado para *A. ferrooxidans* (Butcher *et al.* 2000), para *L. ferriphilum* (Tuffin *et al.* 2006) y para *L. ferrooxidans* (Corkhill *et al.* 2008) quienes observaron, también, que *L. ferrooxidans* es capaz de soportar una concentración mucho mayor de arsénico, en comparación con los demás microorganismos.

Conclusiones

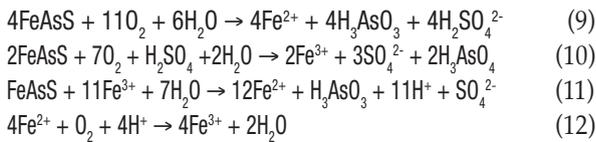
Los procesos biotecnológicos presentan ventajas, comparados con los procesos convencionales, debido a: amplia versatilidad a la hora de decidir el método indicado, el cual puede ir desde una operación in-situ, hasta reactores controlados con capacidad de tratamiento de alrededor de 1000 toneladas por día para oro, no produce contaminantes gaseosos, fácil y económica neutralización y disposición de desechos sólidos y líquidos (ambientalmente aceptados y fácilmente controlables), simplicidad y versatilidad del diseño que permite su uso en locaciones remotas, sin requerimientos de mano de obra muy calificada y su puesta en marcha corta y costos de capital y operación bajos. Además, poseen la habilidad de poder ser usados en montajes complejos como complemento de procesos físicos y químicos ya existentes.

Los procesos biotecnológicos aplicados a la minería son considerados internacionalmente como una alternativa "más limpia", mostrando ventajas tanto desde el punto de vista ambiental como económico. Es por esto que las aplicaciones biotecnológicas se imponen como alternativas con gran potencial para la solución a múltiples problemas generados por la industria minero-metalúrgica, utilizándose mundialmente en diversos procesos como lo son pretratamiento oxidante de materiales refractarios a la recuperación de metales como el oro y la plata, lixiviación

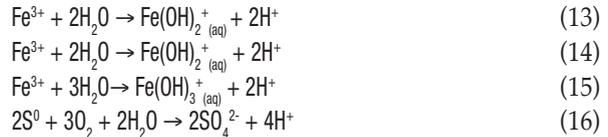
para posterior recuperación de metales base como son el Zn, Cu, Pb, Co, Ni y Ti, *biotratamiento* de diversos materiales utilizados en la industria como la desulfurización de carbones, *bioblanqueo* de caolines, entre otros.

Diseño de un modelo mineralógico para la biooxidación de la arsenopirita

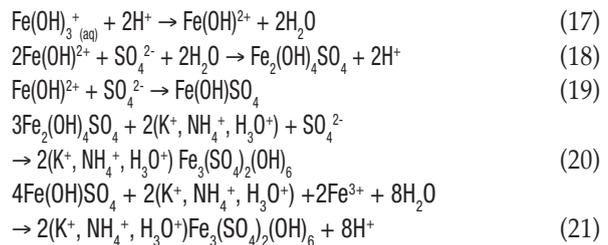
Dentro de un modelo cualitativo de oxidación diseñado por los autores, Figura 5, en ambientes ricos en O₂ y Fe³⁺, se puede concluir que la biooxidación del sistema es un proceso electroquímico que inicialmente consume ácido, concurrente con una disminución inicial del potencial redox. El consumo de H⁺, por la protonación superficial del mineral, es un mecanismo combinado entre las reacciones de oxidación del Fe²⁺, reacción acelerada en la presencia de *A. ferrooxidans*, y la disolución del sustrato en presencia de H⁺, según las siguientes expresiones:



Estas reacciones indican que el Fe(II) no es oxidado, mientras que el arsénico y el azufre sí, lo cual genera sitios activos sobre la superficie del mineral. Lo que sugiere que la velocidad de oxidación de la arsenopirita depende de la concentración de oxígeno disuelto y de la concentración de Fe³⁺; por lo tanto, el paso determinante del proceso es la transferencia electrónica desde la superficie del mineral hasta el agente oxidante. El decline gradual del pH inicia tanto por la hidrólisis del Fe³⁺ como por la oxidación del S⁰, mediada por las bacterias, convirtiéndolo a sulfato.



Adicionalmente hay otras reacciones en competencia con la reacción de hidrólisis del hierro, en las cuales se forman sulfatos básicos de hierro (precursores de la jarosita) como Fe₂(OH)₄SO₄ ó Fe(OH)SO₄, los cuales, en presencia de cationes afines como K⁺, NH₄⁺, H₃O⁺ reaccionan para formar jarosita, de acuerdo a las siguientes reacciones:



Finalmente, se propone un modelo de oxidación por capas durante la realización de este trabajo. El modelo de oxidación muestra la formación de cinco capas denominadas de la siguiente manera: una película de azufre elemental, una película de óxidos de arsénico, una película de óxidos de hierro férrico, una película de sulfoarsenatos de hierro férrico y en la superficie más externa amonio jarosita. Con estas cinéticas de oxidación definidas se puede diseñar una flotación diferencial en celda tipo Hallimond, donde se pueda definir una separación diferencial de sulfuros como pretratamiento biooxidante.

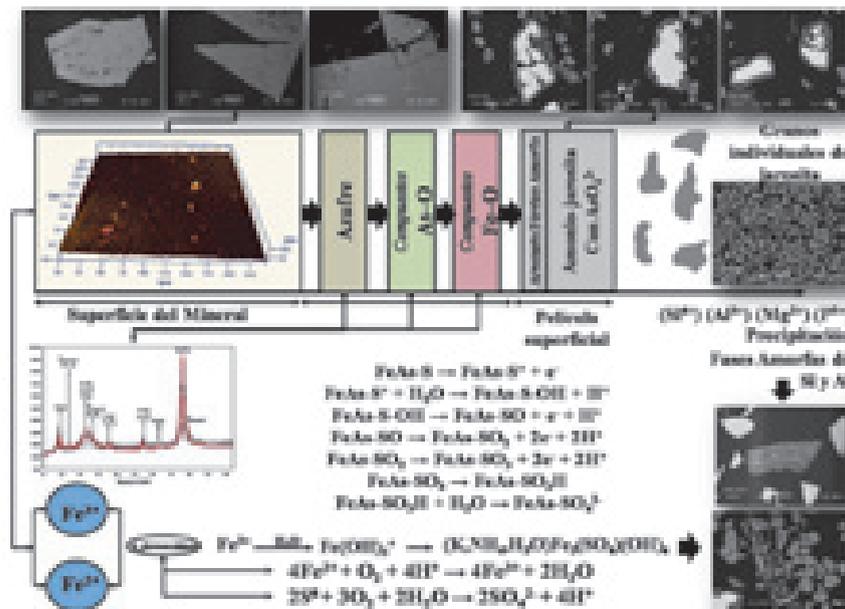


Figura 5. Modelo de oxidación por capas donde se muestra la formación de cinco capas denominadas de la siguiente manera: una película de azufre elemental, una película de óxidos de arsénico, una película de óxidos de hierro férrico, una película de sulfo-arsenatos de hierro férrico y en la superficie más externa amonio jarosita. Fuente propia.

Agradecimientos

Los autores agradecen al programa de biotecnología de Colciencias, a los laboratorios de Biomineralogía, CI-MEX, preparación de rocas y carbones de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, al laboratorio de Ingeominas, Medellín.

Referencias

- ACEVEDO, F., GENTINA, J. Bioleaching of minerals-a valide alternative for developing countries. *Journal of Biotechnology*. 31, (1993);p.115-123.
- AHONEN, L., TUOVINEN, O. Alterations in surfaces y textures of minerals during the bacterial leaching of a complex sulfide ore. *Geomicrobiology Journal*, Vol. 10 (1993); p.207-217.
- AHONEN, L., TUOVINEN, O. Solid-phase alteration y iron transformation in column bioleaching of a complex sulfide ore. In: *Environmental Geochemistry of sulfide oxidation*. ACS Symposium Series 550. American Chemical Society, Washington. 1994.
- AKCIL, A., CIFTCI, H. y DEVECI, H. Role y contribution of pure y mixed cultures of mesophiles in bioleaching of a pyritic chalcopryrite concentrate. *Minerals Engineering*. Vol 20. (2007); 310–318.
- BOSECKER, K. Microbial leaching in environmental clean-up. *Hydrometallurgy*. 59, (2001); p.245– 248.
- BREWIS, T. Metal extraction by bacterial oxidation. *Mining Magazine*, vol. october, ; (1995) p.197-207.
- BRIERLEY, J., BRIERLEY, C.L. Present y future commercial applications of biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy* 59, (2001). p.233-239.
- BRIERLEY, J.A., LUINSTR, L. Biooxidation-heap concept for pretreatment of refractory gold ore. En: *Biohydrometallurgical Technologies*, A.E. Torma, J.E. Wey & V.L. Lakshmanan Eds., The Minerals, Metals & Materials Society, (1993); p.437-448.
- BRUYNESTEYN, A. Mineral Biotechnology-Minireview. *Journal of Biotechnology*. 11, (1989); p-1-10.
- BUCKLEY, A.N., WALKER, G.W. The surface composition of arsenopyrite exposed to oxidizing environments. *Appl. Surf. Sci.* 35, (1988); p.227-240.
- BUTCHER, B.G., DEANE, S.M., RAWLINGS, D.E., The chromosomal arsenic resistance genes of *Thiobacillus ferrooxidans* have unusual arrangement y confer increased arsenic y antimony resistance to *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, (2000). p.1826-1833.
- CARDONA I.C., MÁRQUES, M.A. Biodesulfurization of two Colombian coals with native microorganisms. *Fuel Processing Technology*. Vol 90. (2009); p.1099-1106.
- CARLSON, L., LINDSTROM, E.B., HALLBERG, K.B., TUOVINEN, O.H. Solid-phase products of bacterial oxidation of arsenopyrite. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 1992.p.1046-1049.
- COLLINET, M.N., MORIN, D. Characterization of arsenopyrite oxidizing *Thiobacillus*. Tolerance to arsenite, arsenate, ferrous y ferric iron. *Antonie van Leeuwenhoek*. Vol 57. (1990). p.237-244.
- COLMER, A.R., HINKLE, M.E. The Role of Microorganisms in Acid Mine Drainage: Preliminary Report. *Agricultural y Engineering Experiment Stations*, West Virginia University. 1947.
- ÇOPUR, M. Solubility of ZnS Concentrate Containing pyrite y chalcopryrite in HNO₃ solutions. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 15, (2001) p.181-184.
- CORKHILL, C.L., VAUGHAN, D.J. Arsenopyrite oxidation – A review. *Applied Geochemistry*. doi:10.1016/j.apgeochem.2009.09.008.
- CORKHILL, C.L., WINCOTT, P.L., LLOYD, J.R., VAUGHAN, D.J. The oxidative dissolution of arsenopyrite (FeAsS) y enargite (Cu₃AsS₄) by *Leptospirillum ferrooxidans*. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72, (2008); 5616-5633.
- COSTA, M.C., BOTELHO DO ROGO, A.M., ABRANTES, L.M. Characterization of a natural y an electro-oxidised arsenopyrite: a study on electrochemical y Xray photoelectron spectroscopy. *Int. J. Miner. Process.* 65, (2002). p.83-108.
- CRAW, D., FALCONER, D., YOUNGSON, J.H., Environmental arsenopyrite stability y dissolution: theory, experiment y field observations. *Chemical Geology*. 199, (2003); p. 71-82.
- CRUZ, R., LAZARO, I., GONZALEZ, I., MONROY, M., Acid dissolution influences bacterial attachment y oxidation of arsenopyrite. *Miner. Eng.* 18, (2005)p.1024-1031.
- CRUNDWELL, F. 2003. How do bacteria interact with minerals?. *Hydrometallurgy*. 71:75-81.
- Da SILVA, G. Kinetics y mechanism of the bacterial y ferric sulphate oxidation of galena. *Hydrometallurgy*. 2004.
- DEMOPOULOS, G.P., PAPANGELAKIS, V.G. Recent advances in refractory gold processing. *CIM Bulletin*, Nov., (1989)p.85-91.
- DEVASIA, P., NATARAJAN, K.A. Bacterial Leaching: Biotechnology in the Mining Industry. 2004.
- DOPSON, M., LINDSTROM, E.B., HALLBERG, K.B. Chromosomally encoded arsenical resistance of the moderately thermophilic acidophile *Acidithiobacillus caldus*. *Extremeophiles* 5, (2001). P.247-255.
- DUQUE, B., NOGUERA, H. Estudio de prefactibilidad técnica y financiera del proceso de biolixiviación para el mineral de la mina el silencio (Segovia, Antioquia). 2001. Tesis Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín.
- EDWARDS, K.J., BOND, P.L., BANFIELD, J.F. Characteristics of attachment y growth of *Thiobacillus caldus* on sulphide minerals: a chemotactic response to sulphur minerals? *Environ. Microbiol.* 2, (2000) .p.324-332.
- EDWARDS, K.J., HU, B., HAMERS, R.J., BANFIELD, J.F. A new look at microbial leaching patterns on sulfide minerals. *FEMS Microbiol. Ecol.* 34, (2001) .p.197-206.
- EHRlich, H.L., NEWMAN, D.K., (Eds), *Geomicrobiology*, Fifth Edition. Taylor & Francis Group, LLC. 2009.
- ELIGWE, C. Microbial desulphurization of coal. *Fuel*. 67, (1988); p.451-458.
- FERNANDEZ, P.G., LINGE, H.G., WADSLEY, M.W. Oxidation of arsenopyrite (FeAsS) in acid part I: reactivity of arsenopyrite. *J. Appl. Electrochem.* 26, (1996 a). p.575-583.
- FERNANDEZ, P.G., LINGE, H.G., WILLING, M.J. Oxidation of arsenopyrite (FeAsS) in acid part II: Stoichiometry y reaction scheme. *J. Appl. Electrochem.* 26, (1996 b) .p.585-591.
- FOUCHER, S., BATTAGLIA-BRUNET, F., D HUGUES, P., CLARENS, M., GODON, J. J. MORIN D. Evolution of the bacteria population during the batch bioleaching of a cobaltiferous pyrite in a suspended-solids bubble colum y comparison with a mechanically agitated reactor. *Hydrometallurgy*. Vol 71. (2003). p.5-12.
- FRANCISCO, JR. W. Estudo da oxidação de covelita (CuS) e molibdenita (MoS₂) sintéticas por *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Tesis M.Sc. Universidade Estadual do Sao Paulo. 2006.
- GARCIA, J.L. Cours the biolixiviation. Université de Provence, Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Luminy, Centre d'Enseignement Supérieure en Biotechnologie. Ecole Supérieure de Génie Biologique et Microbiologie Appliquée, Module de Microbiologie Appliquée, Laboratoire de Microbiologie, Orstom, (1995). 19 p.

- GARCÍA, JR., O., URENHA, L. Lixiviação bacteriana de minérios. En: *Biocología Industrial*. Vol 3. Procesos fermentativos e enzimáticos. Ed. Urgel de Almeida. Eugenio Aguarone, Walter Borzani, Willibaldo Schmidell. 8 Ed. Brazil. 2001.
- GILBERT, S.R, BOUNDS, C.O., ICE, R.R. Comparative economics of bacterial oxidation y roasting as a pre-treatment step for gold recovery from na auriferous pyrite concentrate. *CIM Bulletin*, vol. 81, (1988); p.89-94.
- GOLDHABER, M.B., Experimental study of metastable sulfur oxyanion formation during pyrite oxidation at pH 6-9 y 30°C. *Am. J. Sci.* 283, (1983); p.193-217.
- GROOT, P., DEANE, S.M., RAWLINGS, D.E., A transposon-located arsenic resistance mechanism from a strain of *Acidithiobacillus* caldus isolated from commercial, arsenopyrite biooxidation tanks. *Biohydrometall. Fundam. Technol. Sustain. Dev.* 71, (2003). p.115-123.
- HACQUARD, E., BESSIERE, J., ALNOT, M., EHRDHARDT, J.J., Surface spectroscopic study of the adsorption of Ni(II) on pyrite y arsenopyrite at pH 10. *Surf. Interface Anal.* 27, (1999)p. 849-860.
- HAGNI, A.M., HAGNI, R.D. & TAYLOR, P.R. Mineralogical y textural characterization of lime roasted pyrite y arsenopyrite for gold leaching. In: *Process Mineralogy XII – Applications to Environment, Precious Metals, Mineral Beneficiation, Pyrometallurgy, Coal y Refractories* (W.Petruk, A.K.Rule, eds.), (1994);p.141-149.
- HALLBERG, K.B., SEHLIN, H.M., LINDSTROM, E.B. Toxicity of arsenic during high temperature bioleaching of gold-bearing arsenical pyrite. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45, (1996) p.212-216.
- HARNEIT, K., GOEKSEL, A., KOCK, D., KLOCK, J.H., GEHRKE, T., SAND, W. Adhesion to metal sulfide surfaces by cells of *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*. 83, (2006). p.245-254.
- JOHNSON D. B. Importance of microbial ecology in the development of new mineral technologies. *Hydrometallurgy* 59: (2001) p.147-157.
- LAWRENCE, R.W., BRUYNESTEYN, A. Biological pre-oxidation to enhance gold y silver recovery from refractory pyritic ores y concentrates. *CIM Bulletin*, vol. 76, (1983). p.107-110.
- LUTHER III, G.W. Pyrite oxidation y reduction: Molecular orbital theory considerations. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 51, (1987);p.3193-3199.
- MÁRQUEZ, M. Caracterização mineralógica do minério, concentrado e rejeito da flotação da mina São Bento (MG). Brasília, (1995); 237p. Tesis de Maestría. Universidade de Brasília. Instituto de Gociências .
- MÁRQUEZ, M., Mineralogia dos processos de oxidação sobre pressão e bacteriana do minério de ouro da mina São Bento, MG. (1999). Tese de doutorado. Universidad de Brasilia.
- MÁRQUEZ, M., GASPAR, J., BESSLER, K., MAGELA, G. Process mineralogy of bacterial oxidized gold ore in São Bento Mine (Brasil). *Hydrometallurgy* 83: (2006); p.114-123.
- MARSDEN, J., HOUSE, I. The chemistry of gold extraction. Ed. Ellis Horwood Limited, England. 1992.
- MCGUIRE, M.M., EDWARDS, K.J., BANFIELD, J.F., HAMERS, R.J., Kinetics, surface chemistry, y structural evolution of microbially mediated sulfide mineral dissolution. *Geochim. Cosmochim. Acta* 65, (2001b) p.1243-1258.
- McINTOSH, J., SILVER, M., GROAT, L. Bacteria y the breakdown of sulfide minerals. In: *Biological-mineralogical interactions*. Ed. McIntosh, J.M., Groat, L., Mineralogical association of Canada. Short course series. Vol 25. Ottawa. 1997.
- McKIBBEN, M.A., TALLANT, B.A., DEL ANGEL, J.K., Kinetics of inorganic arsenopyrite oxidation in acidic aqueous solutions. *Appl. Geochem.* 23, (2008);p.121-135.
- McNULTY, T.P., THOMPSON, D.L. Economics of bioleaching. In: *Microbial Mineral Recovery*, Ehrlich, H.L. & Brierley, C.L. Ed. McGraw Hill, New York, (1990); p.171-182.
- MEJÍA, E. Mineralogía del proceso de oxidación bacteriana de la calcopirita, esfalerita y galena. 2010. Tesis magíster en Ingeniería – Área Materiales y Procesos, Universidad Nacional de Colombia (Medellín).
- MIGNONE, C.F., DONATI, E.R. ATP requeriments for growth y maintenance of iron-oxidizing bacteria. *Biochemical Engineering Journal*. Vol 18. 2004. p.211- 16.
- MIKHLIN, Y., TOMASHEVICH, Y. Pristine y reacted surfaces of pyrrhotite y arsenopyrite as studied by X-ray absorption near-edge structure spectroscopy. *Phys. Chem. Miner.* 32, (2005) p.19-27.
- MIKHLIN, Y.L., ROMANCHENKO, A.S., ASANOV, I.P., Oxidation of arsenopyrite y deposition of gold on the oxidised surfaces: A scanning probe microscopy, tunnelling spectroscopy y XPS study. *Geochim. Cosmochim. Acta* 70, 2006p 4874-4888.
- MOSES, C.O., NORDSTROM, D.K., HERMAN, J.S., MILLS, A.L. Aqueous pyrite oxidation by dissolved oxygen y ferric iron. *Geochim. Cosmochim. Acta* 51, (1987);p.1561-1571.
- MUÑOZ, A., Oxidación de concentrados de sulfuros metálicos provenientes de la mina La Maruja de Marmato, Caldas, mediante una cepa nativa de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. 2002.. Tesis de Maestría en Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín.
- NEALE, J.W, PINCHES, A., MULLER, H.H., HANNWEG, N.H., DEMPSEY, P. Long-term bacterial oxidation pilot plant operation at Mintek y Vaal Reefs. In: *Presented at the South African Institute of Mining y Metallurgy Colloquium on Bacterial Oxidation*, Johannesburg, 1991. 25 p.
- NESBITT, H.W., MUIR, I.J. Oxidation states y speciation of secondary products on pyrite y arsenopyrite reacted with mine waste waters y air. *Mineral. Petrol.* 62, (1998);p.123-144.
- NESBITT, H.W., MUIR, I.J., PRATT, A.R. Oxidation of arsenopyrite by air y air saturated, distilled water y implications for mechanisms of oxidation. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 59, (1995) p.1773-1786.
- NORDSTROM, D. Y SOUTHAM, G. Geomicrobiology of sulfide mineral oxidation. In: *Reviews in mineralogy*. Ed. Mineralogical Society of America. Vol. 35: (1997) p.361-382.
- OLSON, G., BRIERLEY, J., BRIERLEY, C. Bioleaching review part B: Progress in bioleaching: applications of microbial processes by the minerals industries. *Appl Microbiol Biotechnol.* 63, (2003); 249-257.
- OSPINA, J. Mineralogía del proceso de oxidación bacteriana de la arsenopirita y pirita. 2010. Tesis magíster en Ingeniería – Área Materiales y Procesos, Universidad Nacional de Colombia (Medellín).
- OSSA, M. Biolixiviación de sulfuros (pirita-arsenopirita) utilizando cepas nativas de acidófilos como pretratamiento, para el beneficio de metales preciosos, mina El Zancudo, Titiribí, Antioquia. 2004. Tesis de Maestría, Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín.
- OSSA, M., MÁRQUEZ, M., ZAPATA, D. Ensayos de biolixiviación de esfalerita variedad marmatita. *Memorias XII Congreso Colombiano de Minería*. Medellín. 2005.
- PATRA, P., NATARAJAN, K., Microbially-induced flocculation y flotation for pyrite separation from oxide gangue minerals. *Minerals Engineering*. 16, (2003) p.965-973.

- PÉREZ, J., VELÁSQUEZ, J. Biolixiviación de un mineral refractario procedente de la mina el zancudo (Titiribí, Antioquia). 1998. Tesis Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín.
- RAWLINGS, D.E. The molecular genetics of *Thiobacillus ferrooxidans* y other mesophilic, acidophilic, chemolithotrophic, iron or sulfur oxidizing bacteria. *Hydrometallurgy*. Vol 59. (2001); p.187 – 201.
- RAWLINGS, D.E. Heavy metal mining using microbes. *Annual Review Microbiology*. Vol 56. (2002). p.65 – 91.
- RAWLINGS, D.E., Review. Characteristics y adaptability of iron – y sulfur – oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals y their concentrates. *Microbial Cell Factories*. 2005.
- RICHARDSON, S., VAUGHAN, D.J. Arsenopyrite: a spectroscopic investigation of altered surfaces. *Mineral. Mag* 53, (1989)p.223–229.
- RIMSTIDT, J.D., VAUGHAN, D.J. Pyrite oxidation: a state-of-the-art assessment of the reaction mechanism. *Geochim. Cosmochim. Acta* 67, (2003)p.873–880.
- RODRIGUEZ, Y., BALLESTER, A., BLAZQUEZ, M.L., GONZALEZ, F., MUNOZ, J.A., Study of bacterial attachment during the bio-leaching of pyrite, chalcopyrite y sphalerite. *Geomicrobiology Journal*. 20, (2003);p.131–141.
- ROHWERDER, T., SAND W. The sulfane sulfur of persulfides is the actual substrate of the sulfur-oxidizing enzymes from *Acidithiobacillus* y *Acidiphilium* spp. *Microbiology*. Vol 149. (2003);p.1699–1709.
- ROSSI, Giovanni., (Eds), *Biohydrometallurgy*. McGraw-Hill Book Company GmbH, Hamburg. 1990.
- SAMPSON, M.I., BLAKE, R.C. The cell attachment y oxygen consumption of two strains of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Miner. Eng.* 12, (1999). p.671–686.
- SAMPSON, M.I., PHILIPS, C.V., BALL, A.S., Investigation of the attachment of *Thiobacillus ferrooxidans* to mineral surfaces using scanning electron microscopy analysis. *Miner. Eng.* 13, (2000). p-643–656.
- SAND, W., GEHRKE, T., HALLMANN, R., JOZSA, P.G., SCHIPPERS, A., Biochemistry of bacterial leaching – direct vs. indirect bioleaching. *Hydrometallurgy*. Vol 59.(2001) p.159–175.
- SAND, W., GEHRKE, T., HALLMANN, R., SCHIPPERS, A. Sulfur chemistry, y the (In)direct attack mechanism- a critical evaluation of bacterial leaching. *Applied Microbiology y Biotechnology*. Vol 43. (1995)p.961–966.
- SASAKI, K. Raman study of the microbially mediated dissolution of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. *The Canadian Mineralogist*. 35, (1997);p.999-1008.
- SASAKI, K., TSUNEKAWA, M., OHTSUKA, T., KONNO, H., The role of sulfur-oxidizing bacteria, *Thiobacillus thiooxidans*, in pyrite weathering. *Colloids y Surfaces, A: Physicochemical y Engineering Aspects*. 133, (1995); p.269–278.
- SCHAUFUSS, A.G., NESBITT, H.W., SCIANI, M.J., HOECSHT, H., BANCROFT, M.G., SZARGAN, R., Reactivity of surface sites on fractured arsenopyrite (FeAsS) toward oxygen. *Am. Mineral.* 85, (2000); p.1754–1766.
- SCHIPPERS, A., JOZSA, P.G., SAND, W., Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite. *Applied y Environmental Microbiology*. Vol 62. 1999. p3424–3431.
- SCHIPPERS, A., SAND, W., Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanism via thiosulfate or via polysulfides y sulfur. *Applied y environmental Microbiology*. Vol 65. (1999) p.319–321.
- SCHIPPERS, A., THORE, R., SAND, W. Intermediary sulfur compounds in pyrite oxidation: Implications for bioleaching y biodepyritization of coal. *Applied Microbiology y Biotechnology*. Vol 52. (1999) p.104 – 110.
- STOLZ, J.F., BASU, P., SANTINI, J.M., OREMLAND, R.S. Arsenic y selenium in microbial metabolism. *Ann. Rev. Microbiol.* 60, (2006). p.107–130
- SUZUKI, I., WERKMAN, C. Glutathione y sulfur oxidation by *Thiobacillus thiooxidans*. *Microbiology*. 1, (1958);p.239-244.
- TEMPLE, K.L., COLMER, A.R. The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium: *Thiobacillus ferrooxidans*. *Engineering Experiment Station, West Virginia University, Morgantown, West Virginia*. 1951.
- TUFFIN, I.M., HECTOR, S.B., DEANE, S.M., RAWLINGS, D.E., Resistance determinants of a highly arsenic-resistant strain of *Leptospirillum ferriphilum* isolated from a commercial biooxidation tank. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, (2006). p.2247–2253.
- TUOVINEN, O.H., BHATTI, T.M., BIGHAM, J.M., GARCIA, O., LINDSTROM, E.B. Oxidative dissolution of arsenopyrite by mesophilic y moderately thermophilic acidophiles. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, (1994); p.3268–3274.
- VANSELOW, D. Mechanisms of bacterial oxidation of the copper sulphide mineral, covellite. *Thesis B.Sc. Melbourne*. 1976.
- VARDANYAN, N.S., AKOPYAN, V.P., *Leptospirillum*-Like bacteria y evaluation on their role in pyrite oxidation. *Microbiology*. Vol 72.(2003).p. 438–442.
- VARGAS, T. Aspectos microbiológicos en procesos biohidrometalúrgicos. *Notas del Curso de Lixiviación Bacteriana de Minerales Sulfurados, Ingeominas, Colombia*. 1996.
- VARGAS, T., SANHUEZA, A., ESCOBAR, A. Studies on the electrochemical mechanism of bacterial catalysis in pyrite dissolution. In: *Biohydrometallurgical Technologies*, A.E. Torma, J.E. Wey y V.L. Lakshmanan Eds., *The Minerals, Metals y Materials Society*, (1993)p.579-588.
- WALKER, F.P., SCHREIBER, M.E., RIMSTIDT, J.D., Kinetics of arsenopyrite oxidative dissolution by oxygen. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 70, (2006);p.1668–1676.
- WIERSMA, C.L., RIMSTIDT, J.D. Rates of reaction of pyrite y marcasite with ferric iron at pH 2. *Geochem. Cosmochim. Acta* 48, (1984);p.85–92.
- WILLIAMSON, M.A., RIMSTIDT, J.D. The kinetics y electrochemical rate determining step of aqueous pyrite oxidation. *Geochim. Cosmochim. Acta* 58, (1994);p.5443–5454.
- YUNMEI, Y., YONGXUAN, Z., ZHENMIN, G., GAMMONS, C.H., DEXIAN, L., Rates of arsenopyrite oxidation by oxygen y Fe(III) at pH 1.8–12.6 y 15–45°C. *Environ. Sci. Technol.* 41, (2007); p.6460–6464.
- YUNMEI, YU., YONGXUAN, ZHU., WILLIAMS-JONES, A.E., ZHENMIN, GAO, DEXIAN, LI. A kinetic study of the oxidation of arsenopyrite in acidic solutions: implications for the environment. *Applied Geochemistry*. 19, (2004);p.435–444.
- SUZUKI, I. Microbial leaching of metals from sulfide minerals. *Bio-technology Advances*, Vol. 19. (2001). p.119-132.
- ZAPATA, D. Mineralogía del proceso de oxidación bacteriana de esferita, proveniente del distrito minero de Marmato (Caldas). Tesis magíster en Ingeniería – Área Materiales y Procesos, Universidad Nacional de Colombia (Medellín). (2006);132 p.