

Biomining: Industrial use of Bacteria for mineral processing. State of the Art and Future Perspectives

Abrego-Mayo, Jefferson Henry¹; Jamanca-Lino, Gustavo¹; Ortiz, Nilton²
¹Universidad Privada del Norte, Perú, N00279378@upn.pe, gustavo.jamanca@upn.pe,
²Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú, niltonortizb@gmail.com

Abstract– Modern mining demands more sustainable and efficient processes day by day. Physicochemical methods are effective in high-grade ores, but they have limitations in low-concentration ores due to their low selectivity and the mineralogical characteristics of the deposit. As an alternative, bioleaching has gained popularity, especially in copper sulfide minerals and gold-bearing sulfides. Countries like Chile are at the forefront of developing this technology as they have applied this process industrially to copper. This article reviews the state of the art in copper and gold sulfide bioleaching based on laboratory studies. A review of the scientific literature was conducted, selecting 33 articles that report experimental laboratory tests and analyze variables such as pH, temperature, growth medium, kinetics, and nutrients. This article analyzes biomodulation, bioleaching, and biooxidation at the laboratory and pilot plant level. According to the literature, average recoveries of 70 - 80 % are reported. Additionally, experimental results of bacterial adaptation of a sulfide concentrate in an acidophilic bacterial consortium medium are presented, showing promising bacterial adaptation. The industrial limitations of the biomining process and its environmental and social benefits, as well as its future prospects in the industry, are discussed.

Keywords-- Biomining, biomodulation, bioleaching, biooxidation, refractory minerals.

Biominería: Uso Industrial de Bacterias para el Procesamiento de Minerales. Estado del Arte y Futuras Perspectivas

Abrego-Mayo, Jefferson Henry¹; Jamanca-Lino, Gustavo¹; Ortiz, Nilton²
¹Universidad Privada del Norte, Perú, N00279378@upn.pe, gustavo.jamanca@upn.pe,
²Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú, niltonortizb@gmail.com

Resumen– La minería moderna exige día a día, procesos más sostenibles y eficientes. Los métodos fisicoquímicos son efectivos en minerales de alta ley, pero presentan limitaciones en minerales de baja concentración debido a su baja selectividad y características mineralógicas del yacimiento. Como alternativa, la biolixiviación ha ganado popularidad, especialmente en minerales sulfurados de cobre y sulfuros portadores de oro. Países como Chile encabezan en el desarrollo de esta tecnología ya que han aplicado este proceso industrialmente en cobre. Este artículo revisa el estado del arte en biolixiviación de cobre y sulfuros auríferos basándose en estudios de laboratorio. Se realizó una revisión de literatura científica, donde se seleccionó 33 artículos que reportan pruebas experimentales de laboratorio y analizan variables como pH, temperatura, medio de crecimiento, cinética y nutrientes. Este artículo analiza la biomodulación, biolixiviación y biooxidación a nivel de laboratorio y planta piloto. De acuerdo con la literatura, se reportan recuperaciones promedio de 70 % - 80 %. Además, se presentan resultados experimentales propios de adaptación bacteriana de un concentrado de sulfuros en un medio de consorcio bacteriano acidófilo, con una adaptación bacteriana prometedora. Se discuten las limitaciones industriales del proceso de biominería y sus beneficios ambientales y sociales, así como sus futuras perspectivas en la industria.

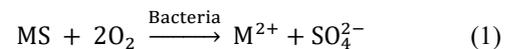
Palabras clave– Biominería, biomodulación, biolixiviación, biooxidación, minerales refractarios.

I. INTRODUCCIÓN

La biominería es un proceso sostenible de minería que permite la recuperación de metales valiosos a partir de minerales refractarios y/o de baja ley (calcopirita, arsenopirita, pirita, etc.). Se trata de un método hidrometalúrgico asistido por microorganismos que facilita la extracción de metales refractarios y de difícil acceso, como oro (Au), cobre (Cu), uranio (U) y tierras raras. Esto optimiza la disolución de los minerales mediante la acción de microorganismos especializados, reduciendo el impacto ambiental en comparación con los métodos convencionales [1]. Bacterias del género *Acidithiobacillus*, como *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans*, se han utilizado en la recuperación de Cu de calcopirita y en la oxidación de sulfuros auríferos para mejorar la extracción de metales preciosos [2]. Estas bacterias acidófilas, autótrofas y Gram-negativas, obtienen energía al oxidar el ion ferroso (Fe^{2+}) y el azufre elemental (S^0), facilitando la biolixiviación de minerales como pirita (FeS_2) y calcopirita (CuFeS_2).

La interacción bacteria-mineral ocurre a través de dos mecanismos, que pueden o no, ser consecutivos: Primero, en la lixivación directa, las bacterias actúan como catalizadores,

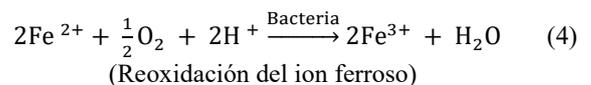
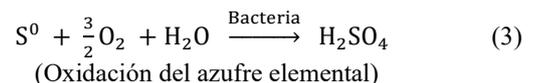
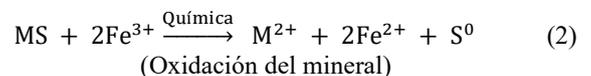
oxidando los compuestos de azufre a sulfatos, mejorando la disolución de los minerales y aumentando la recuperación de metales valiosos [3]. Este mecanismo se describe en Ec. (1).



Donde:

- MS es el sulfuro de interés
- M es el catión metálico producido

El segundo mecanismo es conocido como la lixivación indirecta, la cual, involucra un intermediario químico, el ion férrico (Fe^{3+}). En este proceso, las bacterias no atacan directamente la superficie mineral, sino que generan un ciclo de oxidación-reducción donde el ion férrico oxida el mineral sulfurado, y el ion ferroso (Fe^{2+}) resultante es reoxidado por las bacterias y reconvertido en ion férrico para repetir el proceso, asimismo, el azufre es convertido en ácido sulfúrico el cual, asiste a la oxidación del ion ferroso [4]. El mecanismo es detallado en las Ec. (2 y 4), y presentado en la Fig. 2.



En resumen, la lixivación directa ocurre cuando las bacterias interactúan directamente con el mineral Ec. (1), mientras que, en la lixivación indirecta, las bacterias facilitan un ciclo químico donde el ion férrico actúa como intermediario en la oxidación del mineral Ec. (2), y las bacterias se encargan de reoxidar el ion ferroso que actúa como agente lixivante Ec. (3 y 4). Además, la oxidación del azufre elemental genera ácido sulfúrico Ec. (3), creando un ambiente ácido (pH 1,3–3,0) y un alto potencial de oxidación, lo que acelera la disolución mineral y favorece la formación de jarositas. Estos procesos ocurren en condiciones ambientales, aunque pueden requerir calentamiento de 30-50°C y la adición de sales a la solución bacteriana para optimizar la lixivación [5]. La Fig. 1, ilustra ambos mecanismos.

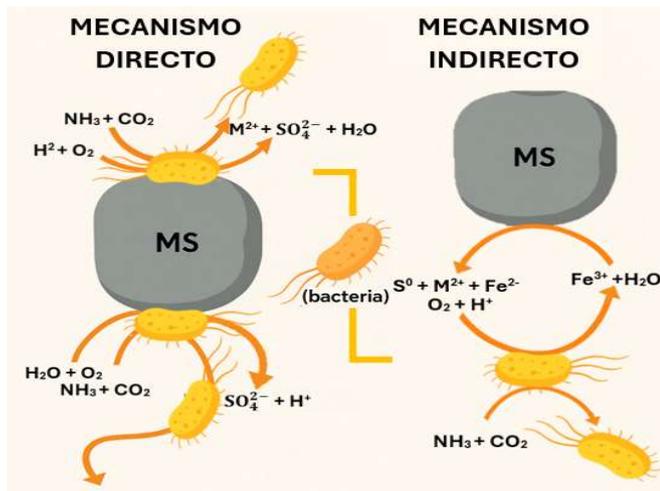


Fig. 1 Mecanismos directo e indirecto de biolixiviación, donde MS representa al sulfuro metálico. Modificado de [6].

Por un lado, biolixiviación se emplea a gran escala para recuperar minerales difíciles de tratar con métodos convencionales. En la extracción industrial del cobre, la lixiviación ácida con ácido sulfúrico es efectiva para minerales oxidados como malaquita ($Cu_2CO_3(OH)_2$), azurita ($Cu_3(CO_3)_2(OH)_2$) o brochantita ($Cu_4SO_4(OH)_6$). Sin embargo, minerales mixtos como la covelita (CuS), sulfuros primarios como la bornita (Cu_5FeS_4) y calcopirita ($CuFeS_2$) presentan baja solubilidad en condiciones ácidas, limitando la eficiencia de la lixiviación química. En este contexto, la biolixiviación de Cu se ha implementado industrialmente, siendo Chile el país líder en su aplicación. Su uso ha incrementado la recuperación de Cu en un 15-20 % en comparación con métodos tradicionales, además reduce el consumo de agua entre un 20-30 %, disminuyendo los costos energéticos e impacto ambiental [7-9].

El tratamiento bacteriano en minerales también se podría aplicar en la etapa de concentración. En la flotación por espuma, las bacterias pueden actuar como colectores, modificadores y depresores, alterando las propiedades superficiales en minutos. Por ejemplo, *Mycobacterium phlei* se ha investigado como colector de hematita [10], mientras que *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* funcionan como depresores aniónicos del apatito frente a la dolomita [11]. Además, *Acidithiobacillus* se ha usado para remover pirita sin afectar otros sulfuros como arsenopirita y calcopirita. Su acción se basa en la secreción de compuestos hidrofóbicos que modifican la respuesta a la flotación sin alterar significativamente la tensión superficial del medio acuoso [12], técnica conocida como "biomodulación".

II. MÉTODOS Y MATERIALES

Esta investigación se realizó en 2 etapas, primero a través de un metaanálisis de la literatura disponibles entre 1994 y 2024, a fin de recolectar los datos experimentales, así como las variables operativas probadas en laboratorio y a escala piloto, para estas tres principales aplicaciones biometalúrgicas: biomodulación de sulfuros, biolixiviación de Cu, biooxidación

de sulfuros auríferos y biolixiviación directa de Au, así como también sus etapas de control sin bacterias. En la etapa 2, se evaluó el crecimiento bacteriano de un consorcio en un medio mineral, proveniente de pruebas metalúrgicas realizadas mediante concentración por espumas.

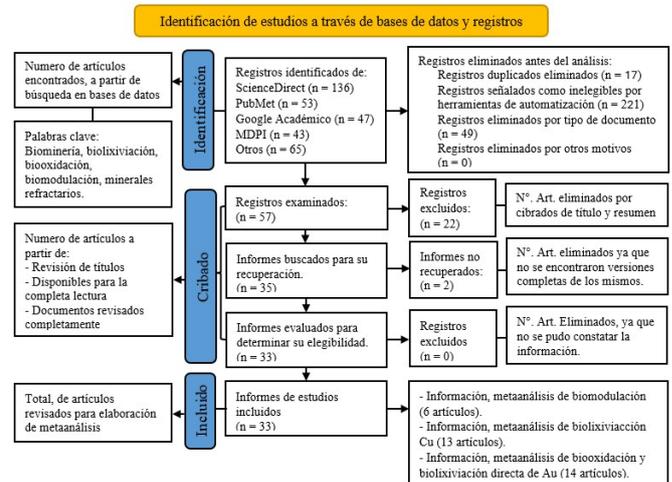


Fig. 2 Aplicación del método PRISMA

A. Revisión Sistemática para el Metaanálisis

Esta revisión analiza las principales variables operativas de la biomodulación, biolixiviación de cobre y biooxidación de sulfuros auríferos en minerales refractarios. Se estudiaron muestras de yacimientos de Cu y Au, donde se ha aplicado biominería a escala de laboratorio o piloto entre 2015 y 2024 para el Cu y 1994 y 2024 para el Au. También se revisó literatura sobre biomodulación entre 1994 y 2008, una técnica microbiológica que aún no se ha implementado a escala industrial. La búsqueda de literatura se realizó en bases de datos académicas como ScienceDirect, PubMed, Google Académico, MDPI, entre otros. Se emplearon palabras clave en el campo de esta investigación como "biominería", "biolixiviación", "biooxidación", "biomodulación", "minerales refractarios", entre otras. La revisión se realizó en español e inglés, con el objetivo de captar una mayor diversidad de estudios relevantes. Se realizó un análisis de selección siguiendo PRISMA mostrado en la Fig. 2, y un análisis de sesgo con la técnica STROBE. Solo se incluyeron estudios con datos experimentales relevantes para el análisis de las variables operativas, excluyendo aquellos sin metodología clara o con alto riesgo de sesgo. Inicialmente, se recopilaron 344 documentos científicos. Tras el análisis de riesgo y exclusión, la lista final se redujo a 33 artículos revisados por pares para el metaanálisis. Los estudios destacan la importancia de factores operativos, como pH, temperatura el medio y la cinética, que impactan recuperación. El metaanálisis es acompañado de la interpretación de los autores de esta extensa revisión literaria como parte de esta investigación. Algunos estudios adicionales fueron utilizados para la discusión de resultados, como se muestra en la Fig. 3.

B. Estudios Experimentales

1) *Preparación de la solución bacteriana*: Para confirmar las variables operativas del proceso de biominería, se realizaron pruebas de adaptación bacteriana a nivel laboratorio en el departamento de Ingeniería Metalúrgica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú. La solución "madre" es un consorcio que contiene *A. ferrooxidans*, aislada de los drenajes ácidos de mina de Huancavelica, Perú, con su proceso de identificación descrito por [13]. En el primer ciclo de adaptación, la muestra se incubó en solución 9K modificada, siguiendo a [14], y el crecimiento bacteriano se monitoreó con cámara Neubauer. Al alcanzar 1×10^8 células, se extrajeron 16 ml para generar 160 ml de nueva solución bacteriana. En el segundo ciclo, la solución bacteriana se inoculó en 9K modificada con un 5 % de sólidos, compuestos principalmente por pirita y arsenopirita [15]. Luego, en el tercer ciclo, la bacteria adaptada se cultivó en medio 9K V2 sin minerales para concentrar bacterias acidófilas. En el cuarto ciclo, se aumentó el volumen para más pruebas. El medio 9K V2 contenía 30 g/L $FeSO_4$, 0,05 g/L $Ca(NO_3)_2$, 0,1 g/L KCl , 0,5 g/L K_2HPO_4 , 0,5 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ y 1,5 g/L $(NH_4)_2SO_4$, con pH 1,9, esterilizado a 120 °C y 2 bar por 20 minutos, como se muestra en la Fig. 4.

2) *Preparación y caracterización del mineral*: El mineral utilizado en la prueba proviene de un yacimiento en el batolito de la costa peruana, compuesto por pirita, arsenopirita, calcopirita y gangas. Su composición promedio es de 6,67 % Cu (como calcopirita), 6,30 % arsénico (As), 15,07 % hierro (Fe) y 2,1 g/t de Au, este último asociado principalmente a sulfuros metálicos. La muestra fue molida durante 12 minutos (20 % <34 micrones) y flotada en una etapa bulk con xantano SIPX, $CuSO_4$ y MIBC, utilizando un flujo de 4 l/min de aire durante 6 minutos y paleteo manual de 26 paleteadas/min. El concentrado obtenido fue caracterizado por análisis químico, microscopía de luz polarizada y análisis modal para determinar el grado de liberación de las especies, siendo este el concentrado expuesto al acondicionamiento bacteriano.

3) *Adaptación Bacteriana Final*: En el quinto y último ciclo, la bacteria se adapta al medio 9K V3, que tiene la misma composición que el 9K V2, pero con la adición de mineral concentrado de pirita-arsenopirita al 5 % en peso. Los matraces con la solución bacteriana y el medio 9K V4 fueron agitados en dos agitadores orbitales Gemmy VRN 460 a 150 rpm. El pH se mantuvo entre 1,8 y 2,0, ajustado con ácido sulfúrico (98 % wt), y el proceso se llevó a cabo a temperatura ambiente. El potencial de oxidación (ORP) se monitorizó continuamente. El control bacteriano se realizó mediante conteo en cámara Neubauer con un microscopio Leica DM 750 a 1000X de aumento. La población bacteriana se calculó usando una fórmula específica presentada en la Ec. (5).

$$\frac{(\text{N}^\circ \text{ de bacterias en 8 celdas})}{8} \times 40000 \quad (5)$$

Finalmente, la solución se monitoreó hasta superar 1×10^8 células. Se caracterizó en pH, ORP, hierro total y arsénico disuelto para evaluar la solubilidad metálica en el medio

bacteriano. La cepa bacteriana "super adaptada" fue almacenada para futuras pruebas metalúrgicas.

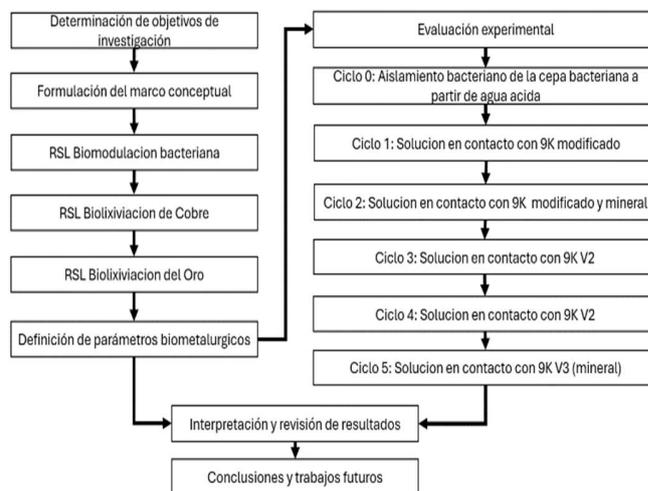


Fig. 3 Diseño metodológico. RSL: Revisión sistemática de la literatura.

III. RESULTADOS

A. Resultados de la Biomodulación de Minerales sulfurados

TABLA 1
BIOMODULACIÓN DE MINERALES A ESCALA LABORATORIO

Rf	Ore	Cepa	Condiciones			Time (min)	Rec	
			pH	T(°C)	Medio		1	2
16	cp-py	1	6,5	30	A	18	84	15
16	cp-py	1	4,5	30	A	18	84	23
16	cp-py	1	8,5	30	A	18	85	21
17	cp-apy-py	1	6,5	30	A	18	cp:83 apy:58	23
17	cp-apy-py	1	6,5	30	A	18	cp:87 apy:55	21
18	c-py	1	2	30	A	7	80	48
19	apy-py	1	5	30	A	13	83	26
19	apy-py	1	6	30	A	13	86	23
20	cp-py	12.a	1,3	30	L	11	65	31
20	cp-py	12.b	6,8	30	L	11	40	23
20	cp-py	12.c	7,4	30	L	11	41	26
21	py-cp	13	4	30	M	36	35	90

Información recopilada de: Ref [16-21]. Ref= Numero de referencia. Ore: mezcla mineral. Cepas: (1) *A. ferrooxidans*; (12) *Paenibacillus polymyxa*, (12a) sin adaptación, (12b) adaptada a pirita, (12c) adaptada a calcopirita, (13) *Leptospirillum ferrooxidans*. Medio: (A) 9K, (L) Bromfield rico en sacarosa, (M) Modificado L-HH con $FeSO_4$. Time: Tiempo de acondicionamiento + flotación. Rec: Recuperación asociada al mineral (1) económico y no económico (2).

La biomodulación emplea bacterias como colectores, modificadores o depresores en flotación. El *A. ferrooxidans* ha sido estudiada como depresor selectivo de sulfuros. De acuerdo a los resultados, se demostró que, tras pocos minutos de acondicionamiento, *A. ferrooxidans* convierte la pirita de hidrofóbica a hidrofílica, reduciendo su flotabilidad [16]. Este efecto se debe a la secreción de exopolisacáridos (EPS), que

hacen hidrofílica la superficie mineral. La superficie Gram-negativa de *A. ferrooxidans* posee carga negativa, lo que aumenta la hidrofílicidad de los minerales adsorbidos. La adsorción bacteriana es más efectiva en condiciones de (<pH 6,5) y a 30 °C. Además, este proceso es altamente selectivo y no afecta la recuperación del mineral objetivo en las espumas. La Tabla 1, resume los experimentos para minerales como calcopirita (cp) y arsenopirita (apy), separándolos de la pirita (py), o separando esta última del carbón (c).

B. Resultados para la Biolixiviación de Cobre

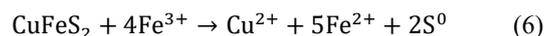
TABLA 2
BIOLIXIVIACIÓN DE COBRE A ESCALA LABORATORIO Y PILOTO

Rf	Ore	Cepa	Condiciones			Time (días)	Rec (%)
			pH	T (°C)	Medio		
5	Relave	5	-	30	C	28	21
5c	Relave	0	-	30	-	28	18
5	Relave	5	-	30	C	28	59
5c	Relave	0	-	30	-	28	44
5	Relave	5	-	30	C	28	51
5c	Relave	0	-	30	-	28	50
5	Relave	5	-	30	C	28	69
5c	Relave	0	-	30	-	28	53
5	Relave	5	2,2	30	C	13	86
5c	Relave	0	2,2	30	-	13	43
5	Relave	5	2,0	42	C	13	99
5	Relave	5	2,0	42	-	13	99
22	cup-py-qz	1	1,5	25	A.(a)	24	86
22c	cup-py-qz	0	1,5	25	-	24	54
24	cup-py-qz	1	1,8	20	A	22	73
25	C.cp	2	2,0	70	B	28	40
25c	C.cp	0	1,9	70	-	28	8
26	cp	12	7	30	L	120	71
26c	cp	0	7	30	L	120	43
26	cp	5	7	30	L	120	82
26c	cp	0	7	28	L	120	33
27	CS.cp-en-cc	1	1,8	30	A	15	83
27c	CS.cp-en-cc	0	1,8	30	A	15	5
28	cp	5	2	30	A	30	73
28	cp	3	2	42	A	10	76
29	C.cp-cv-ch-qz	6	1	50	A	12	82
29c	C.cp-cv-ch-qz	0	1	50	A	12	25
30	dg-cv-en	3	2	35	A	57	86
31	S.cu	1.a	2	30	D	15	85
31c	S.cu	0	2	30	D	15	12
32	C. cp	7	1,5	30	D	7	74
33	cp, bn, cc	1.b	2	30	C	85	30
33	cp, bn, cc	14	2	30	C	85	39
33	cp, bn, cc	3.a	2	30	C	85	54
34	S S.cu	4	1,8	30	C.(a)	70	86
34	S.cu	5	1,8	45	C.(a)	70	75
34	S.cu	5	1,8	60	C.(a)	70	66
34c	S.cu	0	1,8	30	-	70	56

Información recopilada de: Ref. [5, 22, 24-34]. Minerales: Bn (bornita), cc (calcocita), ch (calcocita), cup (cuprita), cu (cobre nativo), cv (covelina), dg (digenita), en (enargita), qz (cuarzo), C (concentrado) y S (sulfuro). Cepas: (5) Consorcio microbiano, (0) Ausencia de bacterias, (1) *A. ferrooxidans*, (1.a) + *Sphingomonas leidy*, (1.b) + *L. acetotolerans*, *L. ferriphilum*, (2) *A. brierleyi*, (12) *Pseudomonas putida*, (3) Cultivo mixto, (3.a) mesófilos, (*S. thermosulfidooxidans* y *S. acidophilus*, (7) *L. ferriphilum* y *A. thiooxidans*, (14) *Sulfobacillus*, (4) *Sulfobacillus*. Medio: (-) Sin medio, (A) 9K, A.(a) extra Fe,

(C) Sales basales, C.(a) sal basal media, (D) 0K, (L) Bromfield rico en sacarosa, (B) Medio de *Acidians brierleyi* (DSMZ 150). (c) Proceso de control.

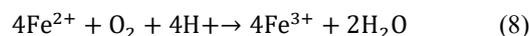
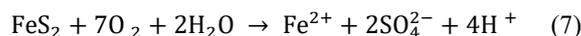
La biolixiviación ha sido propuesta como una solución técnica para disolver los sulfuros de Cu presentes en la zona de sulfuros secundarios de un yacimiento. En las pruebas a escala piloto e industrial, el proceso inicia con la trituración del mineral refractario para almacenarlo en pilas de lixiviación. Factores como el contenido de finos y la presencia de arcillas son cruciales para lograr una percolación eficiente y rápida, facilitando el mecanismo de reacción descrito en la Ec. (6), liberando iones cúpricos (Cu²⁺) en solución.



Las bacterias oxidan el azufre elemental (S⁰), produciendo más ácido sulfúrico. El ion férrico (Fe³⁺) se regenera a partir de la oxidación del Fe²⁺, cerrando el ciclo químico y biológico del proceso [35]. Este proceso de biolixiviación de Cu puede alcanzar recuperaciones de más de un 90 %, tal como se puede observar en la Tabla 2. Se debe de tener en cuenta que, para la obtención de estos resultados, se debe tener un control adecuado de bacterias como las cepas *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans*, así como consorcios y comunidades bacterianas. En condiciones ácidas (pH<7) con temperaturas entre 28°C y 35°C. Además, un medio como el 9k ayuda en el desarrollo de las bacterias aportando nutrientes esenciales, para que de esta manera la cinética de recuperación aumente [3].

C. Resultados para la Biooxidación de Sulfuros Auríferos

La biooxidación es un pretratamiento biológico dentro de la biolixiviación, en el que, a diferencia del cobre, el oro no se solubiliza, pero sí el sulfuro que lo encapsula, liberando las partículas metálicas. Este proceso, aplicado antes de la cianuración, es efectivo para minerales refractarios [36]. La reacción química involucrada varía según el mineral en Ec. (7). El ion ferroso (Fe²⁺) formado en Ec. (7) se reoxida a ion férrico (Fe³⁺). El ion férrico de Ec. (8) reacciona de nuevo con los sulfuros, manteniendo el ciclo de oxidación.



La biolixiviación ayuda significativamente al proceso de recuperación de oro, que puede alcanzar tasas de más de 80 % en condiciones óptimas [38]. Para la biooxidación de los sulfuros auríferos las bacterias más comunes en este proceso son, *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans*, que actúan en cultivos o consorcios comúnmente siendo altamente eficaces en la oxidación de minerales sulfurados en ambientes ácidos, con pH promedio de 2 y temperaturas entre 28°C y 35°C y medios como el 9K y las sales basales el desarrollo de estas. La biooxidación disuelve la matriz del sulfuro, que normalmente es pirita o arsenopirita, exponiendo las partículas de Au en el

tratamiento subsecuente. Además, según la literatura, algunas bacterias no solo interactúan directamente con el mineral sulfuro, sino que algunas además generan soluciones capaces de disolver el Au [37,28,40,41,45] donde a través de la producción de tiosulfato por acción bacteriana, se lleva a cabo un proceso de lixiviación indirecta.

TABLA 3
BIOOXIDACIÓN Y DE ORO A ESCALA LABORATORIO Y PILOTO

Ref	Mineral	Cepa	Condiciones			Tiempo (días)	Rec (%)
			pH	T (°C)	Medio		
23	py-apy	3	1,6	25	C.(b)	60	49
23c	py-apy	0	1,6	25	-	60	8
23	py-apy	3	1,6	25	C(b)	60	21
23c	py-apy	0	1,6	25	-	60	6
39	apy - pyl	1	1,6	30	A	5	96
39c	apy - pyl	0	1,6	30	A	5	67
42	apy-py	3	2	30	A(b)	15	99
43	apy-py	5	1,4	45	G	162	75
44	C. au-py-apy	1	1,8	20	A(c)	252	89
44c	C. au-py-apy	0	11	20	N	2	40
46	C.S py-cp-en	3	2	26	A	>58	50
46c	C.S py-cp-en	0	11	26	O	>58	19
46	C.S py-cp-en	3	2,1	26	A	>58	70
46c	C.S py-cp-en	0	9	26	O	>58	26
46	C.S py-cp-en	3	2,8	26	A	>58	77
46c	C.S py-cp-en	0	11	262	O	>58	85
47	py-apy	7	2,5	60	J	247	66
47	py-apy	7	2,5	45	J	247	77
47	py-apy	7	2,5	30	J	247	58
47c	py-apy	0	2,5	30	-	4	39
48	apy-au	1	2,3	30	A	7	97
48c	apy-au	0	11	20	-	2	55
49	C.py	12	1,5	31	A	1	95
49c	C.apy	0	12	25	-	1	66
BIOLIXIVIACIÓN DIRECTA							
37	au	1.c	9	30	K	5	96
38	C.au	3	1,8	44	A	8	98
38c	C.au	0	11	44	-	2	58
40	au-sil	8	9	30	E	7	54
40c	au-sil	0	9	30	E	7	6
41	au	9	8	30	F	7	60
45	au	10	7	30	H	15	46
45	au	11	7	30	I	7	42

Información recopilada de: Ref. [23, 37-49]. Minerales: au (oro), sil (silicato). Cepas: (0) Ausencia de bacterias, (3) Cultivo mixto, (1) *A. ferrooxidans*, (1.c) + *C. violaceum*, (8) *Acinetobacter sp.*, (9) *Methylophaga sulfidovorans*, (5) Consorcio microbiano, (10) *Macroccoccus caseolyticus*, (11) *Acinetobacter calcoaceticus*, (7) Mezcla mesófila. Medios: (-) Sin medio, (A) 9K, A(b), Libre de hierro (C) Sales basales con solución nutritiva, A(c) modificado, (E) Nutriente (NB) y enriquecido con (KI), (F) DSMZ 951 y agua de mar sintética, (G) Sulfato férrico y extracto de levadura, (H) Medio nutrido, (I) Sal mineral con etanol, (J) ácido recirculado, (K) Yeast extract + Peptone, (N) Alcalino (NaCN + Ca(OH)₂), (O) + NaCN. (c) Proceso de control.

D. Experimentos de Adaptación Bacteriana

1) *Preparación de la solución bacteriana:* Se realizó una serie de pruebas de adaptación bacteriana, a fin de acondicionar un consorcio bacteriano a un mineral específico. La solución bacteriana “madre” (Ciclo 1), contenía una población bacteriana de 9×10^7 , incluyendo la especie *A. ferrooxidans*, el cual ha sido previamente identificado mediante técnicas de

tinción Gram y análisis “Polymerase Chain Reaction (PCR)”. La solución bacteriana fue acondicionada en 5 ciclos secuenciales en medio 9K a un pH de 2,0, temperatura ambiente de 20-25°C, y una velocidad de agitación de 150 rpm. En el ciclo final, el consorcio bacteriano fue adaptado en presencia de sulfuros metálicos derivados de un concentrado de flotación, a un contenido de sólidos de 5 %wt, como se puede ver en Fig. 4.

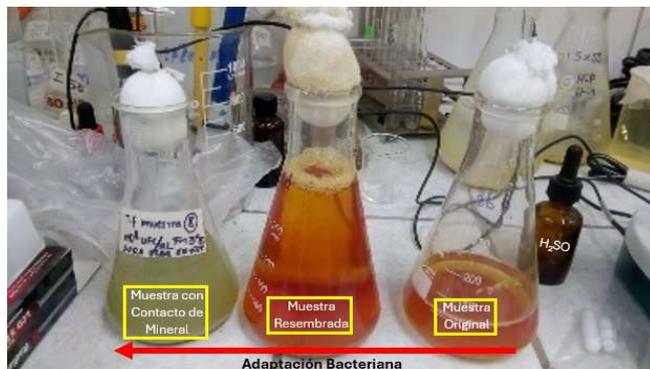


Fig. 4 (Derecha) Muestra de ciclo 1: Solución matriz de consorcio bacteriano. (Medio) Solución luego del cuarto ciclo de adaptación. (Izquierda) Solución bacteriana adaptada en el quinto ciclo con mineral. Imagen modificada de [15].

2) *Preparación y Caracterización de la Muestra:* de acuerdo con el análisis químico, el concentrado final contiene alrededor de 30,9 % Fe, 22,9 % As, 0,5 % Cu y 10,21 grAu/tm. El análisis mineralógico de la muestra Fig. 5, reveló que los principales minerales son pirita (35 %) y arsenopirita (55 %), con menor presencia de calcopirita, cobres grises y esfaleritas, y menos del 2 % en gangas. Los amarres mineralógicos más importantes son los binarios de apy/cp (7,27 %), apy/CGRs (1,34 %), py/cp (1,14 %) y cp/ef (0,25 %), seguidos de los ternarios apy/CGRs/cp (0,25 %). La molienda fue eficaz, ya que la arsenopirita y pirita estuvieron bastante liberadas, alcanzando una liberación superior al 93 %, como se observa en la Fig. 4-7. Los granos mixtos incluyen asociaciones de arsenopirita-calcopirita, pirita-calcopirita y arsenopirita-cobres grises.

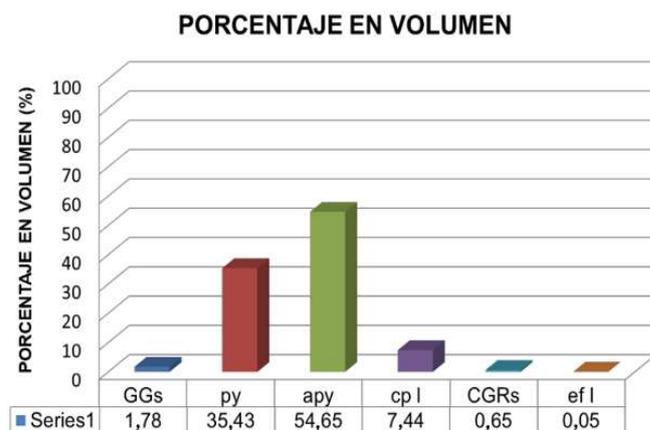


Fig. 5 Distribución mineralógica de la muestra, según porcentaje en volumen.



Fig. 6 Distribución mineralógica de la muestra, según grado de liberación.

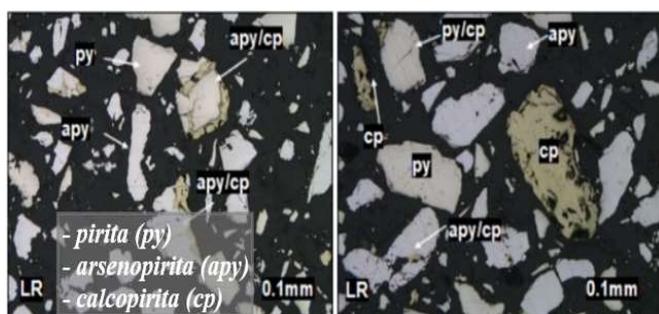


Fig. 7 (Izquierda) Granos libres de pirita y arsenopirita; Granos mixtos binarios de arsenopirita/calcopirita; (Derecha) Granos libres de pirita, calcopirita y arsenopirita; Granos mixtos binarios de pirita/calcopirita.

3) *Adaptación Bacteriana Final*: La biolixiviación selectiva fue efectiva, con >90 % de liberación de mineral sulfurado. En el ciclo 2 con sustrato 9K V2 (sin mineral), se tardaron 148 h en alcanzar 1×10^8 células; en el ciclo 5 con 9K V3, solo 48 h. Con un 5 % p/p de mineral, al inicio como se muestra en la Tabla 4, (muestra 1) hubo reducción celular en 16 h, pero a las 48 h (muestras 2–3) se estabilizó y creció. Extender a 70 h (muestra 4) no aumentó población. Se observó ORP >500 mV al superar 1×10^8 células. El pH se mantuvo en 1,89 con consumo de H_2SO_4 de 0,23 g/L. Se formaron jarositas como precipitado. El conteo bacteriano fue posible gracias a la alta densidad celular observada. Se tomaron dos muestras: una al tiempo 0 y otra a las 48 horas de adaptación. Durante este periodo, el arsénico disuelto aumentó de 0,4 ppm a 6 ppm, y el hierro de 311 ppm a 3479 ppm, indicando una intensa lixiviación del sulfato de hierro.

TABLA 4
RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ADAPTACIÓN.

M	Tiempo (horas)	pH inicial	pH final	ORP inicial (mV)	ORP final (mV)	Inicial (cell/ml) $1E+07$	Final (cell/ml) $1E+08$	Consumo acido (gr/lit)
1	16	1,89	1,89	249	365	8,0	0,025	0,00
2	48	1,89	2,30	249	523	8,0	1,760	0,23
3	48	1,89	2,22	249	555	8,0	1,850	0,23
4	70	1,89	2,22	249	557	8,0	1,260	0,23

El término "M" refiere a la muestra.

El aumento del arsénico sugiere interacción directa entre la cepa bacteriana y el mineral, posiblemente por adhesión a la pirita y arsenopirita. Además, se detectó un incremento de temperatura de 3 a 5 °C respecto al ambiente, pese a no usar fuente externa de calor, lo que indica que el proceso bacteriano fue exotérmico. Estos resultados reflejan una adaptación activa y eficaz del consorcio bacteriano frente al mineral tratado.

IV. DISCUSIÓN

A. Análisis de resultados literarios

1) La biomodulación se utiliza mayormente en minerales complejos, con parámetros promedios de temperatura ambiente y $pH < 7$ y a diferencia de la biolixiviación, que suele tomar días, la biomodulación se lleva a cabo en cuestión de minutos, lo que optimiza significativamente el tiempo de procesamiento mostrado en Fig. 8a. Lográndose recuperaciones de mineral económico de hasta 87 % como se muestra en Fig. 8b. En general, la pirita es fácilmente deprimida en esas condiciones

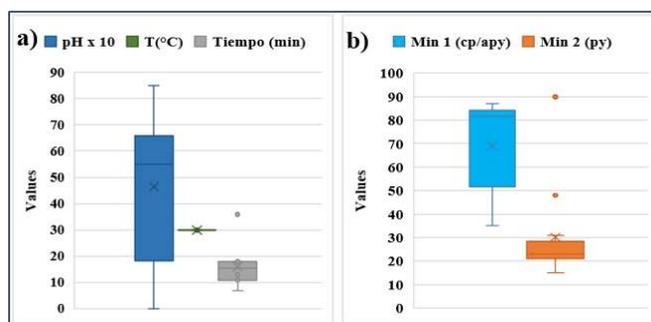


Fig. 8 a) Parámetros de biomodulación de minerales. b) Recuperación por biomodulación. La información proviene de la Tabla 1.

Es necesaria evaluar la adaptación real al proceso, y debe considerarse que los resultados reportados en la literatura [16–21], están basadas en muestras de grado museo, donde el grado de liberación no influye. En un proceso industrial, el grado de liberación va a ser determinante en una etapa de flotación, por lo cual, futuras pruebas con muestras de grado no-museo, son necesarias.

2) El análisis de la biolixiviación de cobre, según la Fig. 9c, muestra un pH promedio de 2, con excepciones cercanas a la neutralidad. Generalmente, el proceso ocurre a temperatura ambiente, aunque puede alcanzar hasta 70 °C. La cinética varía según el mineral y las condiciones, desde 7 días hasta 120 días. Se lograron recuperaciones significativas, especialmente con consorcios bacterianos y cultivos mixtos, que superaron el 70 % en minerales refractarios, gracias a la sinergia microbiana y el uso de medios como 9K o sales basales evidenciando la eficacia de la diversidad de estos cultivos [27]. En contraste, bacterias aisladas presentan menores eficiencias (<70 %) si no están en condiciones óptimas, salvo *A. ferrooxidans*, que alcanza más del 80 % por su alta adaptación. Con una adecuada gestión de parámetros, es posible alcanzar recuperaciones que van desde 21 % hasta 99 %, con una mediana de 70 % frente al 34 % del

proceso de recuperación de control como se muestra en la Fig. 9d, destacando la eficacia del proceso.

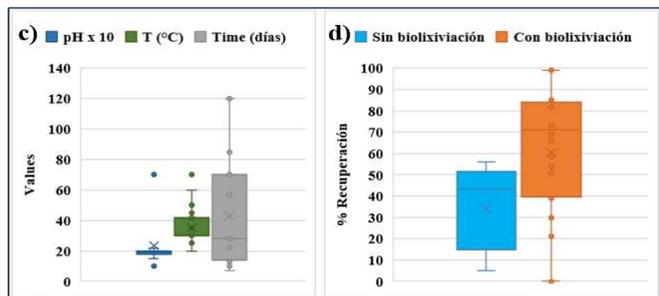


Fig. 9 c) Parámetros de biomodulación de minerales. d) Recuperación por control y biolixiviación. La información proviene de la Tabla 2.

3) En el análisis de la biooxidación de los sulfuros auríferos, según Fig. 10e, se observa un pH promedio de 2 y temperatura ambiente como condiciones predominantes, con excepciones de hasta 60 °C. A diferencia del cobre, los tiempos de reacción varían desde 1 hasta más de 250 días, lo que afecta su viabilidad. Aunque el medio de nutrientes común para el desarrollo de las bacterias es el 9K. También se ha investigado el uso de medios orgánicos como alternativa más sostenible para la recuperación de Au [50]. Al igual que en la biolixiviación de Cu, la diversidad bacteriana mejora los resultados significativamente. En la Tabla 3, la Ref. [42], es un cultivo mixto que logró una recuperación del 99 % en 15 días, mucho más eficiente que la Ref. [44], en donde el *A. ferrooxidans* alcanzó un 88,7 % en 252 días. La biooxidación de Au presenta recuperaciones variables entre 21 % y 99 %, con un promedio de 73 %, frente a lo recuperado en las pruebas de control que en promedio es de 41 %, mostrado en la Fig. 10f. Así mismo como se muestra en Tabla 3, la biolixiviación directa de Au logró un 66 % de recuperación, mostrando su potencial para disolver el Au metálico directamente mediante compuestos complejantes.

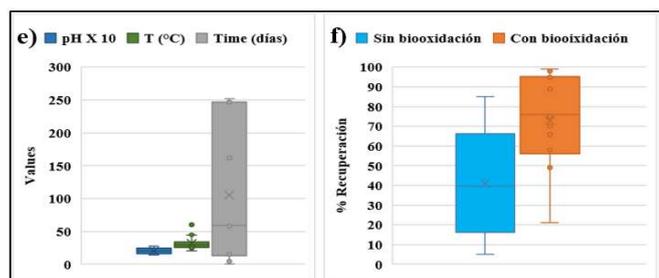


Fig. 10 e) Parámetros de biomodulación de minerales. f) Recuperación por control y biooxidación. La información proviene de la Tabla 3.

B. Fase Experimental

El experimento evidenció la exitosa adaptación de un consorcio bacteriano acidófilo, liderado por *A. ferrooxidans*, que mejoró la biolixiviación de sulfuros metálicos como piritita y arsenopiritita. En los primeros ciclos, se requirieron más de 148 horas para alcanzar 1×10^8 células/ml, pero en el quinto ciclo,

con medio 9K V4 y 5 % de mineral, ese tiempo se redujo a 48 horas. Este avance se asoció con un aumento del potencial ORP, que superó los 500 mV, indicando alta actividad metabólica. Además, se registraron incrementos en arsénico (de 0,4 a 6 ppm) y hierro disuelto (de 311 a 3479 ppm), validando la efectividad del consorcio. El proceso fue exotérmico, con incrementos de temperatura de 3–5 °C sin fuente de calor externa. El diseño incluyó concentrados con alta liberación (>90 %) y monitoreo constante de pH, ORP y población bacteriana. A pesar de la formación de jarositas, el sistema mostró alta eficiencia, coherente con resultados previos en consorcios y cultivos mixtos (Tablas 2 y 3), destacando el potencial de la biolixiviación en minerales sulfurados.

C. Sostenibilidad Ambiental y Desafíos de la Biominería

La biominería tiene un gran potencial de sostenibilidad, reduciendo el consumo de agua y energía generando menores emisiones de CO₂ y residuos tóxicos [6]. Su alineación con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la ONU la convierte en una opción atractiva para reducir la huella de carbono [51]. En contraste, la pirometalurgia, aunque eficiente, consume mucha energía y produce altas emisiones de CO₂ y SO₂ y requiere un proceso adicional para manejar los gases y la escoria [52]. La lixiviación química con ácidos y bases, por otro lado, es menos efectiva en muchos casos y presenta desafíos ambientales significativos y medidas extremas de seguridad ambiental. A pesar de los avances en biominería y estudios sobre concentración de minerales, persisten dudas sobre su aplicación industrial debido a la complejidad mineralógica de las muestras reales, que difieren de los minerales puros utilizados en laboratorio. Esta diferencia afecta la efectividad del proceso, generando desconfianza en la minería. Además, la falta de infraestructura, junto con la necesidad de inversión en tecnología y capacitación, representa una barrera significativa, especialmente en países en desarrollo donde los recursos limitados dificultan la implementación a gran escala.

D. El Futuro de la Biominería

Se proyectan avances significativos en biotecnología, incluyendo la ingeniería genética para desarrollar cepas bacterianas más eficientes en biolixiviación [25]. Tecnologías de monitoreo en tiempo real y sistemas automatizados con Inteligencia Artificial permitirán optimizar los procesos, reducir costos y mejorar la sostenibilidad ambiental. La colaboración entre la industria minera y centros de investigación será clave para consolidar estos desarrollos [24].

Las aplicaciones de la biolixiviación se están ampliando a minerales estratégicos como uranio, cobalto, níquel, litio y tierras raras, esenciales en tecnologías renovables y electrónicas [22]. Casos destacados incluyen la biolixiviación de uranio en yacimientos de baja ley y la extracción de metales mediante *A. ferrooxidans*. También se ha logrado recuperar cobalto y níquel desde residuos electrónicos con buenos resultados [5]. Además, se investiga la biomodulación bacteriana en la flotación de sulfuros, donde bacterias como *A. ferrooxidans* modifican

selectivamente superficies minerales, abriendo nuevas posibilidades industriales [12]. Finalmente, la biominería podría aplicarse a tecnologías ISRU (In-Situ Resource Utilization) para extraer recursos en entornos extraterrestres, representando una frontera prometedora para la minería espacial [53]. Un ejemplo de ello es el uso de *Aspergillus simplicissimus* en la disolución de metales a partir de minerales lunares simulantes [54], o el mismo *A. Ferroxidans* que ha demostrado disolución en minerales similares a los esperados a encontrar en la Luna y Marte, en condiciones de microgravedad simulada [55].

V. CONCLUSIÓN

La biolixiviación de cobre y la biooxidación de oro presentan tasas de recuperación promedio del 70 % al 73 %, con máximos de hasta 99 % respectivamente, lo que evidencia su efectividad de la biominería en minerales refractarios. La biomodulación también ha demostrado ser útil, eliminando esencialmente la piritita y permitiendo recuperaciones de hasta 86 % y una depresión considerable de la piritita. Por el lado experimental, tras varios ciclos de siembra-resiembra, los consorcios bacterianos suelen adaptarse al sustrato mineral, como se observó en un experimento donde se alcanzó una población de más de 1×10^8 células/ml en solo 48 horas, frente a las 148 horas iniciales. Durante el proceso, se registraron incrementos en arsénico (de 0,4 a 6 ppm), hierro disuelto (de 311 a 3479 ppm) y temperatura (3–5 °C), indicadores de una intensa actividad microbiana y de la naturaleza exotérmica del proceso. Aunque esta tecnología mejora la eficiencia y sostenibilidad de la minería, su aplicación industrial aún enfrenta desafíos que deben superarse para su implementación.

REFERENCIAS

- [1] Rawlings, D. E. (2002). Heavy metal mining using microbes. *Annual Review of Microbiology*, 56(1), 65–91. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.161052>
- [2] De la Fuente, V., Giaveno, A., Chiacchiarini, P., Lavalle, L., Donati, E., & Tedesco, P. (1995). Uso combinado de dos biorreactores en la biolixiviación de un mineral sulfurado de cobre. *Revista de metalurgia*, 31(5), 320–325. <https://doi.org/10.3989/revmetalm.1995.v31.i5.948>
- [3] Codelco. (2018). Biolixiviación “Bacterias come piedras”. Recuperado de: Codelco Educa.
- [4] Osinergmin. (2016). Biolixiviación Tecnología de la Lixiviación Bacteriana de Minerales. Recuperado de: https://www.osinergmin.gob.pe/seccion/centro_documental/mineria/Documentos/Publicaciones/Biolixiviacion.pdf
- [5] Zhang, R., & Schippers, A. (2022). Stirred-tank bioleaching of copper and cobalt from mine tailings in Chile. *Minerals Engineering*, 180(107514), 107514. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2022.107514>
- [6] Rodríguez, Y. (2000). Tesis Doctoral: “Contribución al estudio del mecanismo de biolixiviación de distintos sulfuros metálicos con bacterias mesófilas y termófilas”. Universidad Complutense, Madrid, España.
- [7] Ballester, A. (1991). *Minería Química*. Instituto Tecnológico Geominero de España, Madrid, pp. 485–543
- [8] Ospina, J. D., Restrepo, E. M., Bedoya, L., Márquez, M., & Morales, A. (2012). Biooxidación de concentrados de arsenopiritita por *Acidithiobacillus ferrooxidans* en erlenmeyer agitados. 14, 135–145. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/42260>
- [9] Nakazawa, H., Sato, H., & Okamoto, K. (1995). Effect of silver ions on the bacterial leaching of chalcopyrite flotation concentrate. *Shigen Sozai*, 111(3), 169–175. <https://doi.org/10.2473/shigentosoza.111.169>
- [10] Misra, M., Chen, S., Smith, R. W., & Raichur, A. M. (1993). *Mycobacterium phlei* as a flotation collector for hematite. *Mining, Metallurgy & Exploration*, 10(4), 170–175. <https://doi.org/10.1007/bf03403022>
- [11] Zheng, X., & Smith, R. W. (1997). Dolomite depressants in the flotation of apatite and colophane from dolomite. *Minerals Engineering*, 10(5), 537–545. [https://doi.org/10.1016/s0892-6875\(97\)00031-9](https://doi.org/10.1016/s0892-6875(97)00031-9)
- [12] Robbiano, S. M., & Alejandra, F. (2018). Bio-depression of pyrite with *Acidithiobacillus ferrooxidans* in seawater flotation. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/152822>
- [13] Arias, V., Anaya, F., Quiñones, J., Salazar, D., Gil, J., & Jamanca, G. (2013). Adaptación del *Thiobacillus Ferrooxidans* a sustratos conformados con especies de minerales piriticos. DOI: 10.15381/IIGEO.V16I31.8339
- [14] Arias, A., Rodríguez, V., Ramírez, R., Nonones, V. E., Salazar, I., Gil, R., Paredes, R., & Jamanca, L. G. (2013). Aislamiento de bacterias acidófilas a partir del drenaje ácido proveniente de las inmediaciones a las unidades mineras de Julcani y Recuperada, Huancavelica. 15, 59–66. <https://core.ac.uk/reader/304894105>
- [15] Ortiz, N. (2021). “Biolixiviación como pretratamiento a minerales auríferos refractarios”. Recuperado de: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/1884a9d1-1517-494f-86c1-ed0e5030a134>
- [16] Chandraprabha, M. N., Natarajan, K. A., & Modak, J. M. (2004). Selective separation of pyrite and chalcopyrite by biomodulation. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 37(3–4), 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.colsurf.2004.06.011>
- [17] Chandraprabha, M. N., Natarajan, K. A., & Somasundaran, P. (2005). Selective separation of pyrite from chalcopyrite and arsenopyrite by biomodulation using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *International Journal of Mineral Processing*, 75(1–2), 113–122. <https://doi.org/10.1016/j.minpro.2004.08.014>
- [18] Atkins, A. S., Bridgwood, E. W., Davis, A. J., & Pooley, F. D. (1987). A study of the suppression of pyritic sulphur in coal froth flotation by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Coal Preparation*, 5(1–2), 1–13. <https://doi.org/10.1080/07349348708945553>
- [19] Chandraprabha, M. N., Natarajan, K. A., & Somasundaran, P. (2004). Selective separation of arsenopyrite from pyrite by biomodulation in the presence of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 276(2), 323–332. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.03.047>
- [20] Sharma, P. K., & Rao, K. H. (1999). Role of a heterotrophic *Paenibacillus polymyxa* bacteria in the bioflotation of some sulfide minerals. *Mining, Metallurgy & Exploration*, 16(4), 35–41. <https://doi.org/10.1007/bf03403232>
- [21] Vilinska, A., & Rao, K. H. (2008). *Leptosirillum ferrooxidans*-sulfide mineral interactions with reference to bioflotation nad bioflocculation. *Transactions of the Nonferrous Metals Society of China*, 18(6), 1403–1409. [https://doi.org/10.1016/s1003-6326\(09\)60016-9](https://doi.org/10.1016/s1003-6326(09)60016-9)
- [22] Huarachi-Olivera, R., Dueñas-Gonza, A., Yapó, U., Almanza, M., Manuel, D., Lazarte-Rivera, A., Mogrovejo-Medina, G., Taco-Cervantes, H., & Esparza, M. (2017). Biolixiviación de mineral cuarzo por *Acidithiobacillus ferrooxidans* en reactor de columna por gravedad. *Revista de metalurgia*, 53(2), 096. <https://doi.org/10.3989/revmetalm.096>
- [23] Bulaev, A., Kanayeva, Z. K., Muravyov, M. I., Kanayev, A. T., & Kondrat'eva, T. F. (2015). Column bioleaching of refractory gold ores. *Advanced Materials Research*, 1130, 459–462. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.1130.459>
- [24] Arce, V. A., Dávila, D. L., Lavado, J. Q., Paucarima, A. F., Gil, J., Ramirez, L., & Cayo, H. (2015). Biolixiviación de cobre a partir de minerales sulfurados con altos tenores de piritita y arsenopiritita. *Revista del Instituto de investigación de la Facultad de minas, metalurgia y ciencias geográficas*, 18(36). <https://doi.org/10.15381/iigeo.v18i36.12164>
- [25] Kazemi, M. J., Kargar, M., Nowroozi, J., Akhavan Sepahi, A., Doosti, A., & Manafi, Z. (2019). The wide distribution of an extremely thermoacidophilic microorganism in the copper mine at ambient

- temperature and under acidic condition and its significance in bioleaching of a chalcopyrite concentrate. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(1), 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.09.004>
- [26] Behrad Vakylabad, A., Nazari, S., & Darezereshki, E. (2022). Bioleaching of copper from chalcopyrite ore at higher NaCl concentrations. *Minerals Engineering*, 175(107281), 107281. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2021.107281>
- [27] Chen, W., Tang, H., Yin, S., Wang, L., & Zhang, M. (2024). Copper recovery from low-grade copper sulfides using bioleaching and its community structure succession in the presence of *Sargassum*. *Journal of Environmental Management*, 349(119549), 119549. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119549>
- [28] Bakhti, A., Moghimi, H., Bozorg, A., Stankovic, S., Manafi, Z., & Schippers, A. (2024). Comparison of bioleaching of a sulfidic copper ore (chalcopyrite) in column percolators and in stirred-tank bioreactors including microbial community analysis. *Chemosphere*, 349(140945), 140945. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140945>
- [29] Manafi, Z., Kargar, M., & Kafizadeh, F. (2021). Biolixiviación en tanque de un concentrado de cobre utilizando los microorganismos moderadamente termofílicos *Sulfobacillus thermosulfidoxidans* KMM3 y *Sulfobacillus acidophilus* KMM26. *Revista de metalurgia*, 57(4), e207. <https://doi.org/10.3989/revmetalm.207>
- [30] Zhong, W., Zhong, S., Tang, D., Chi, X., & Weng, W. (2023). Understanding the mechanism of microcrack-enhanced bioleaching of copper. *Hydrometallurgy*, 218(106045), 106045. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2023.106045>
- [31] Chen, W., Yin, S., Wu, A., Wang, L., & Chen, X. (2020). Bioleaching of copper sulfides using mixed microorganisms and its community structure succession in the presence of seawater. *Bioresource Technology*, 297(122453), 122453. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122453>
- [32] You, J., Solongo, S. K., Gomez-Flores, A., Choi, S., Zhao, H., Urik, M., Ilyas, S., & Kim, H. (2020). Intensified bioleaching of chalcopyrite concentrate using adapted mesophilic culture in continuous stirred tank reactors. *Bioresource Technology*, 307(123181), 123181. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123181>
- [33] Qin, W. Q., Zhang, Y. S., Zhen, S. J., Wang, J., Zhang, J. W., & Qiu, G. Z. (2009). Bioleaching of Low-Grade Copper Sulfide Ore Using a Column Reactor. In *Advanced Materials Research (Vols. 71–73, pp. 409–412)*. Trans Tech Publications, Ltd. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.71-73.409>
- [34] Wang, Y., Chen, X., & Zhou, H. (2018). Disentangling effects of temperature on microbial community and copper extraction in column bioleaching of low grade copper sulfide. *Bioresource Technology*, 268, 480–487. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.031>
- [35] Ma, L., Wang, X., Liu, X., Wang, S., & Wang, H. (2018). Intensified bioleaching of chalcopyrite by communities with enriched ferrous or sulfur oxidizers. *Bioresource Technology*, 268, 415–423. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.019>
- [36] Zazueta, E. Vázquez, G. Rojas, A. Fierros, G. Medrano, H. Reyes, D. (2023). Evaluation of manganese bioleaching and silver extraction in mining tailings by native bacteria using a flooded system. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 39, 501–512. <https://doi.org/10.20937/rica.54597>
- [37] Shin, D., Jeong, J., Lee, S., Pandey, B. D., & Lee, J.-C. (2013). Evaluation of bioleaching factors on gold recovery from ore by cyanide-producing bacteria. *Minerals Engineering*, 48, 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2013.03.019>
- [38] Song, Y., Yang, H. Y., & Tong, L. L. (2015). Bioleaching of complex refractory gold ore concentrate of China: Comparison of shake flask and continuous bioreactor. *Advanced Materials Research*, 1130, 243–246. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.1130.243>
- [39] Zhang, X., Feng, Y.-L., & Li, H.-R. (2016). Enhancement of biooxidation of refractory arsenopyritic gold ore by adding pyrolusite in bioleaching system. *Transactions of the Nonferrous Metals Society of China*, 26(9), 2479–2484. [https://doi.org/10.1016/s1003-6326\(16\)64339-x](https://doi.org/10.1016/s1003-6326(16)64339-x)
- [40] Anusaraporn, S., Dolphen, R., & Thiravetyan, P. (2022). Importance of laccase enzyme and triiodide for gold leaching from silicate ore by marine bacterium *Acinetobacter sp.* *Process Safety and Environmental Protection: Transactions of the Institution of Chemical Engineers, Part B*, 161, 788–800. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2022.03.054>
- [41] McNeice, J., Mahandra, H., & Ghahreman, A. (2022). Biogenic production of thiosulfate from organic and inorganic sulfur substrates for application to gold leaching. *Sustainability*, 14(24), 16666. <https://doi.org/10.3390/su142416666>
- [42] Deng, T., & Liao, M. (2002). Gold recovery enhancement from a refractory flotation concentrate by sequential bioleaching and thiourea leach. *Hydrometallurgy*, 63(3), 249–255. [https://doi.org/10.1016/s0304-386x\(01\)00226-2](https://doi.org/10.1016/s0304-386x(01)00226-2)
- [43] Kanaev, A. T., Semenchenko, G. V., Konysbayeva, A. A., Shilmanova, A. A., & Kanayeva, Z. K. (2015). Method of gold extraction from ores of bakyrchik deposit by percolation bioleaching. *International Journal of Biology and Chemistry*, 8(2), 28–35. <https://doi.org/10.26577/2218-7979-2015-8-2-28-35>
- [44] Cheng, D.-H., He, J.-T., & Li, G.-B. (2013). Heap bioleaching of refractory arsenic gold concentrates. *Asian Journal of Chemistry*, 25(5), 2839–2844. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2013.14028>
- [45] Kudpeng, K., Thayanukul, P., & Thiravetyan, P. (2021). Bioleaching of gold from silicate ore by *Macrococcus caseolyticus* and *Acinetobacter calcoaceticus*: Effect of medium, amino acids and growth supernatant. *Minerals (Basel, Switzerland)*, 11(6), 580. <https://doi.org/10.3390/min11060580>
- [46] Curreli, L., Loi, G., Peretti, R., Rossi, G., Trois, P., & Zucca, A. (1997). Gold recovery enhancement from complex sulphide ores through combined bioleaching and cyanidation. *Minerals Engineering*, 10(6), 567–576. [https://doi.org/10.1016/s0892-6875\(97\)00036-8](https://doi.org/10.1016/s0892-6875(97)00036-8)
- [47] Wu, Z. L., Huang, Z. S., Ruan, R. M., Zhong, S. P., & Chan, B. K. C. (2013). Effect of temperature on column bioleaching of a refractory gold ore. *Advanced Materials Research*, 825, 352–355. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.825.352>
- [48] Abbruzzese, C., Ubaldini, S., Veglio, F., & Toro, L. (1994). Preparatory bioleaching to the conventional cyanidation of arsenical gold ores. *Minerals Engineering*, 7(1), 49–60. [https://doi.org/10.1016/0892-6875\(94\)90146-5](https://doi.org/10.1016/0892-6875(94)90146-5)
- [49] Iglesias, N., Carranza, F., & Palencia, I. (1998). La biolixiviación como pretratamiento de menas auríferas refractarias en matriz de sulfuros. *Revista de metalurgia*, 34(1), 29–38. <https://doi.org/10.3989/revmetalm.1998.v34.i1.656>
- [50] Castillo-Cotrina, D., Chipana-Laura, V., Clavijo-Koc, C., & Castellanos-Cabrera, R. (2024). Cinética de crecimiento de consorcios microbianos acidófilos en cultivo sumergido para biolixiviantes. *Ecología aplicada*, 23(1), 103–112. <https://doi.org/10.21704/rea.v23i1.2169>
- [51] [52] Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). (2020). *La Agenda para el Desarrollo Sostenible*. <https://www.unep.org/es/explore-topics/sustainable-development-goals>
- [52] Eyzaguirre Liendo, P. del R., & Castillo Cotrina, D. M. (2019). Biolixiviación indicativa del sulfato de cobre por crecimiento microbiano ante el drenaje minero. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 21(1), 49–56. <https://doi.org/10.18271/ria.2019.444>
- [53] Gumulya, Y., Zea, L., & Kaksonen, A. H. (2022). In situ resource utilisation: The potential for space biomineralization. *Minerals Engineering*, 176(107288), 107288. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2021.107288>
- [54] J. Piepjohn, K. Steinacker, K. Beblo-Vranesevic, A. Cowley, and S. Leuko, “Fungal biomineralization – In-situ resource utilization in space Utilizing fungi to help establish resource – efficient space missions,” 2025.
- [55] A. H. Kaksonen, X. Deng, C. Morris, H. N. Khaleque, L. Zea, and Y. Gumulya, “Potential of *Acidithiobacillus ferrooxidans* to grow on and bioleach metals from mars and lunar regolith simulants under simulated microgravity conditions,” *Microorganisms*, vol. 9, no. 12, p. 2416, 2021.