



UNIVERSIDAD  
SAN SEBASTIAN



Magister en Innovación en  
Biociencias y Bioingeniería

## **BIO-SOLUBILIZACIÓN DE COBALTO A PARTIR DE UN MINERAL DE BAJA LEY**

Tesis para optar al Grado de Magíster en Innovación en Biociencias y Bioingeniería

Estudiante: **Ma. Ligia Inostroza Concha**  
Profesor Tutor: Dr. Iván Ñancuqueo

**© (María Ligia Inostroza Concha). Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra en cualquier forma, medio o procedimiento sin permiso por escrito del o los autores.**

Concepción, Chile

2022

CALIFICACIÓN

En \_\_\_\_\_, el \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_, los abajo firmantes dejan constancia que el (la) estudiante \_\_\_\_\_, de la carrera de \_\_\_\_\_ ha aprobado la tesis para optar al título de \_\_\_\_\_ con una nota de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Profesor Evaluador

\_\_\_\_\_  
Profesor Evaluador

\_\_\_\_\_  
Profesor Evaluador

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación, siendo la última tesis de mi carrera profesional como investigadora;

...a mi padre.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi familia por su infinito e incondicional apoyo brindado en todos mis años de formación académica. Por todo su esfuerzo y trabajo duro que hicieron esto posible.

Agradezco a mis padres por preocuparse, ocuparse, acompañarme y cuidarme a lo de este proceso de formación profesional. Y a mi hermana y mi cuñada por su apoyo, preocupación y cariño infinito.

A mis compañeros, amigos y colegas, Pedro y Fabiola por su apoyo constante en esta etapa. Por siempre tomarse el tiempo para explicarme, aconsejarme, apoyarme y guiarme. Por los estudios, tareas, trabajos, risas y vivencias que hicieron este proceso mucho más grato.

Al profesor Iván Ñancuqueo, quien me ha apoyado y ayudado en todo momento; pese a todos los contratiempos presentados. Muchas gracias por su preocupación, consejo y por recordarme que soy una persona.

A todos quienes de una u otra forma aportaron para que yo pudiera cumplir mis metas.

Esta etapa no ha sido fácil, pero con la ayuda de todos ustedes la he podido afrontar exitosamente.

A todos ustedes, muchísimas gracias.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	4
AGRADECIMIENTOS .....	5
ÍNDICE GENERAL .....	6
ÍNDICE DE FIGURAS .....	8
ÍNDICE DE TABLAS .....	9
RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	11
CAPÍTULO 1 .....	2
INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS .....	2
1.1    Hipótesis .....	4
1.2    Objetivo general .....	4
1.3    Objetivos específicos .....	4
CAPÍTULO 2 .....	5
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1    COBALTO .....	5
2.2    MINERÍA DEL COBALTO EN CHILE.....	7
2.3    RECUPERACIÓN DE METALES .....	9
2.4    RECUPERACIÓN DE COBALTO MEDIANTE BIOLIXIVIACIÓN.....	11
CAPÍTULO 3 .....	15
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1    Materiales.....	15
3.1.1    Equipos.....	15
3.1.2    Materiales.....	15
3.1.3    Reactivos .....	16

3.2	Implementación de los biorreactores de tanque agitado.....	16
3.2.1	Descripción de la implementación de los biorreactores.....	16
3.3	Colecta de muestras. ....	18
3.4	Análisis de la comunidad microbiana. ....	19
3.4.1	Metodología de extracción de ADN. ....	19
3.5	Determinación de metales espectroscopía de absorción atómica. ....	21
CAPÍTULO 4 .....		22
RESULTADOS .....		22
4.1	Bio-solubilización del mineral .....	22
4.2	Análisis de la comunidad microbiana .....	26
CAPÍTULO 5 .....		29
DISCUSIÓN.....		29
5.1	Recuperación de mineral.....	29
5.2	Ánalysis de la comunidad microbiana .....	31
CAPÍTULO 6 .....		33
CONCLUSIÓN.....		33
CAPÍTULO 7 .....		34
BIBLIOGRAFÍA.....		34
CAPÍTULO 8.....		50
ANEXOS.....		50

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mineral con cobalto en un depósito minero de Chile (Spa, 2020).....	5
Figura 2. Producción minera de cobalto a nivel internacional el año 2020 (Garside, 2021).....	7
Figura 3. Mapa de principales yacimientos de explotación de cobalto en Chile correspondientes a las regiones de Atacama y Coquimbo (Townley <i>et al.</i> , 2017).....	8
Figura 4. Zona geográfica de la tercera región de Atacama donde se ubica la Mina la Estrella. (Turismo virtual, 2020). .....	9
Figura 5. Biolixiviación de la pirita para la obtención del hierro, cobalto, óxido de silicio y sulfato mediante la oxidación del hierro. ....	14
Figura 6. La imagen muestra el biorreactor de tanque agitado con control de temperatura y su unidad de control (Bioflo/Celligen 115). El mineral se encuentra en un volumen de 1 L con medio ABS/TE. ....	17
Figura 7. La imagen muestra el biorreactor de tanque agitado con control de temperatura y su unidad de control (Liflux GX-Fermenter). El mineral se encuentra en un volumen de 1 L con medio ABS/TE. ....	18
Figura 8. Solubilización de hierro, cobre, níquel y cobalto en el biorreactor operado a 30 °C con el consorcio mesófilo. Leyendas: (■) hierro, (▲) cobre, (◆) níquel y (●) cobalto.....	22
Figura 9. Solubilización de hierro, cobre, níquel y cobalto en el biorreactor operado a 33 °C con el consorcio mesófilo. Leyendas: (■) hierro, (▲) cobre, (◆) níquel y (●) cobalto.....	23
Figura 10. Solubilización de hierro, cobre, níquel y cobalto en el biorreactor operado a 37 °C con el consorcio termófilo moderado. Leyendas: (■) hierro, (▲) cobre, (◆) níquel y (●) cobalto.....	24
Figura 11. Solubilización de hierro, cobre, níquel y cobalto en el biorreactor operado a 42 °C con el consorcio termófilo moderado. Leyendas: (■) hierro, (▲) cobre, (◆) níquel y (●) cobalto.....	24
Figura 12. Solubilización de hierro, cobre, níquel y cobalto en el biorreactor operado a 45 °C con el consorcio termófilo moderado. Leyendas: (■) hierro, (▲) cobre, (◆) níquel y (●) cobalto.....	25
Figura 13. Diversidad bacteriana del cultivo mesófilo para el inóculo y al término de la operación para los biorreactores a 30 y 33 °C. ....	27
Figura 14. Diversidad bacteriana del cultivo termófilo moderado para el inóculo y al término de la operación para los biorreactores a 37 y 42 y 45 °C. ....	28



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Aplicación de microorganismos acidófilos en biolixiviación de minerales. ....	13
Tabla 2. Listado de equipos utilizados en el estudio con su respectiva marca y modelo. ....	15
Tabla 3. Listado de materiales utilizados en el estudio con su respectiva marca. ....	15
Tabla 4. Listado de reactivos utilizados en el estudio con su respectiva marca. ....	16
Tabla 5. Composición química de mineral en porcentaje. ....	21
Tabla 6. Porcentaje de recuperación de hierro, cobalto, níquel y cobre mediante biolixiviación con un cultivo mesófilo. ....	26
Tabla 7. Porcentaje de recuperación de hierro, cobalto, níquel y cobre mediante biolixiviación con cultivo un termófilo moderado. ....	26
Tabla 8. Composición mineralógica. ....	50

## RESUMEN

El presente trabajo presenta el estudio de la solubilización de cobalto mediante la biolixiviación de un mineral sulfurado con contenido de pirita. Para ello se trabajó con un biorreactor de tanque agitado con un volumen de trabajo de 1 L a distintas temperaturas (30, 33, 37, 42 y 45 °C) en condiciones aerobias, inoculado con un consorcio microbiano quimiolitotrófico acidófilo mesófilo (30 y 33 °C) y un consorcio termófilo moderado (37, 42 y 45 °C). Los biorreactores se operaron en modalidad batch con 1 % de densidad de pulpa con control de pH (1,8) mediante la adición automática de hidróxido de potasio 1M y/o ácido sulfúrico 1M. Para los experimentos de biolixiviación, se analizó la diversidad microbiana por plataforma Illumina mediante la secuenciación de la región V4 del gen 16S ARNr y se determinó la cinética de solubilización hierro, níquel, cobre y cobalto mediante espectroscopía de absorción atómica. Para el experimento realizado con el consorcio microbiano termófilo moderado a 42 °C se obtuvo la mayor extracción de cobalto correspondiente a un ~28%. Los resultados permiten inferir la acción catalítica de los microorganismos oxidante de hierro y azufre en la solubilización de cobalto desde mineral sulfurado de baja ley obtenido de una mina en operación en nuestro país.

**Palabras clave:** Biolixiviación; Biorreactor; Cobalto; Microorganismos acidófilos

## ABSTRACT

The present study describes the solubilization of cobalt using bioleaching of a low-grade copper-cobalt bearing sulfide ore. For this study, bioreactors with a working volume of 1 L at different temperatures (30, 33, 37, 42 and 45 °C) under aerobic conditions were inoculated with a mesophilic (30 and 33°C) and a moderately thermophilic (37, 42, y 45°C) chemolithotroph consortia. The bioreactors were operated under batch conditions with 1% pulp density with pH control (1.8) by automatic addition (1M) of potassium hydroxide or sulfuric acid. For the bioleaching experiments, microbial diversity was analyzed by the Illumina platform by sequencing the V4 region of the 16S rRNA gene. The solubilization of iron, nickel, copper, and cobalt was determined by atomic absorption spectroscopy. For the experiment carried out with the moderately thermophilic microbial consortium at 42 °C, the highest cobalt extraction was obtained (~28%). The results allow us to infer the catalytic action of iron and sulfur oxidizing microorganisms for the solubilization of cobalt from a low-grade sulfide ore obtained from an active mine in our country.

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

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El crecimiento de la población ha promovido una alta demanda de nuevas tecnologías bajas para el procesamiento y recuperación metalúrgica de minerales que son utilizados en el desarrollo de automóviles eléctricos y generación de energía fotovoltaica (Nansai *et al.*, 2014). La búsqueda de nuevas formas de procesamiento y recuperación metalúrgica de minerales se ha expandido para la obtención de elementos químicos esenciales para la fabricación de baterías, motores y aleaciones con propiedades físicas específicas para estas nuevas tecnologías. Dentro de los metales de interés, el cobalto (Co) se ha convertido en un elemento clave en el desarrollo de baterías para los vehículos eléctricos, estimándose una vertiginosa demanda para el año 2040 y catalogándose por ello como un metal crítico por la Unión Europea (Blengini *et al.*, 2020; Campbell, 2020).

Actualmente el principal productor de cobalto es la República Democrática del Congo, que posee un 55% del mercado a nivel mundial con una producción de 69 kt al año 2017 (Cheyins *et al.*, 2014; Corathers y Corathers y USGS, 2017). Sin embargo, los problemas políticos internos dentro de esta nación han provocado una crisis en la producción de cobalto, lo cual se vio reflejado en el abastecimiento al mercado internacional (Glencore, 2020). Otros productores importantes son Nueva Caledonia, Canadá, Rusia, Australia, Cuba, Filipinas y Madagascar, donde el cobalto se obtiene como subproducto de la extracción de níquel (Brown *et al.*, 2020; Cobalt Intitute, 2020).

Chile posee una importante tradición minera, siendo una de las actividades con mayor desarrollo económico e industrial. La producción de cobre es, sin lugar a dudas, uno de los más importantes ejes de esta industria minera, realizándose en menor medida explotaciones de yacimientos de plata, oro, hierro y cobalto. Sin embargo, debido al aumento de la demanda de cobalto, el interés por la explotación se ha incrementado. Otra de las importantes razones por las que Chile debiese apostar a la producción de otros minerales se debe a la vulneración económica que provoca la producción de un solo tipo de mineral, haciendo al país fuertemente dependiente de los precios de los minerales en el mercado internacional (Townley *et al.*, 2017).

Es por ello que es necesario ampliar la explotación de diversos metales, teniendo una línea de procesamiento y recuperación metalúrgica que permita acceder a recuperar la mayor cantidad de mineral posible a partir de fuentes secundarias, utilizando tecnologías amigables con el medio ambiente que reduzcan el costo energético y la huella de carbono generada por la extracción química y física de los distintos componentes mineralógicos.

La solubilización de Co mediante la biolixiviación microbiana a partir de fuentes secundarias como residuos industriales, lodos, residuos urbanos, placas, tarjetas SIM, baterías, residuos mineros y minerales sulfurados de baja ley se considera una de las tecnologías prometedoras en actual desarrollo debido a su exitosa aplicación en la recuperación de cobre, níquel, zinc, uranio y cobalto (Ziyadanogullari, 2000; Olson *et al.*, 2003).

Los microorganismos acidófilos tienen la capacidad de crecer a bajos pH lo que permite realizar el proceso de biolixiviación de manera directa a través de la producción de ácido sulfúrico o indirectamente proporcionando ion férrico como agente de lixiviación, aportando un oxidante fuerte para la solubilización de minerales sulfurados (Li *et al.*, 2016; Isildar, 2018). Los principales microorganismos acidófilos utilizados en la biolixiviación de minerales de baja ley, son quimiolitotróficos capaces de utilizar el ion ferroso y/o azufre reducido como fuente dadora de electrones (Marcincakova *et al.*, 2016; Capeness y Horsfall, 2020).

En la actualidad, la alta demanda de elementos estratégicos como el cobalto ha incrementado la búsqueda de tecnologías más amigables con el medio ambiente. Basados en estos antecedentes, la presente investigación describe el estudio de solubilización de cobalto mediante la biolixiviación microbiana en condiciones ácidas a partir de un mineral de baja ley.

## **1.1 Hipótesis**

Es posible recuperar cobalto a partir de un mineral de baja ley mediante biolixiviación microbiana en condiciones ácidas utilizando diferentes temperaturas de operación con dos diferentes consorcios microbianos quimiolitotróficos.

## **1.2 Objetivo general**

Desarrollar un proceso biohidrometalúrgico que permita la disolución de un mineral sulfurado y la solubilización de cobalto utilizando dos consorcios microbianos quimiolitotróficos acidófilos.

## **1.3 Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto de la temperatura en el proceso biohidrometalúrgico que permita la recuperación de cobalto a partir de un mineral sulfurado de baja ley.
- Determinar el rol de los microorganismos acidófilos en la solubilización del mineral sulfurado a diferentes temperaturas de operación.

## CAPÍTULO 2

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 COBALTO

Descubierto por George Brandt en 1730, el cobalto es un metal de transición utilizado en el área de la industria química, metalúrgica, electrónica y médica debido a propiedades únicas como ferromagnetismo, estructura cristalina variable, resistencia al desgaste y corrosión cuando se alea con otros metales (Hawkins, 2001; Safarzadeh *et al.*, 2011; Chen, *et al.*, 2016; Corathers y USGS, 2017; Shedd *et al.*, 2017; Cobalt Institute 2020). A nivel mundial, bajo el contexto de advenimiento de nuevas tecnologías en el área automovilística como resultado de las medidas de mitigación de contaminación, el principal uso del cobalto es en la fabricación de cátodos para su posterior incorporación en baterías recargables de litio y superaleaciones (Manzatti and Mariasiu, 2015). Contextualizando, al año 2017, la demanda de vehículos eléctricos fue de más de un millón y se proyecta para el año 2025 una demanda de cuatrocientos millones de vehículos anuales, estimando una necesidad de producción de cobalto de 52.000 toneladas, lo que equivale a aproximadamente el 50% adicional de la producción total de cobalto refinado a nivel mundial en la actualidad (Harper *et al.*, 2019; Mathieu, 2019).

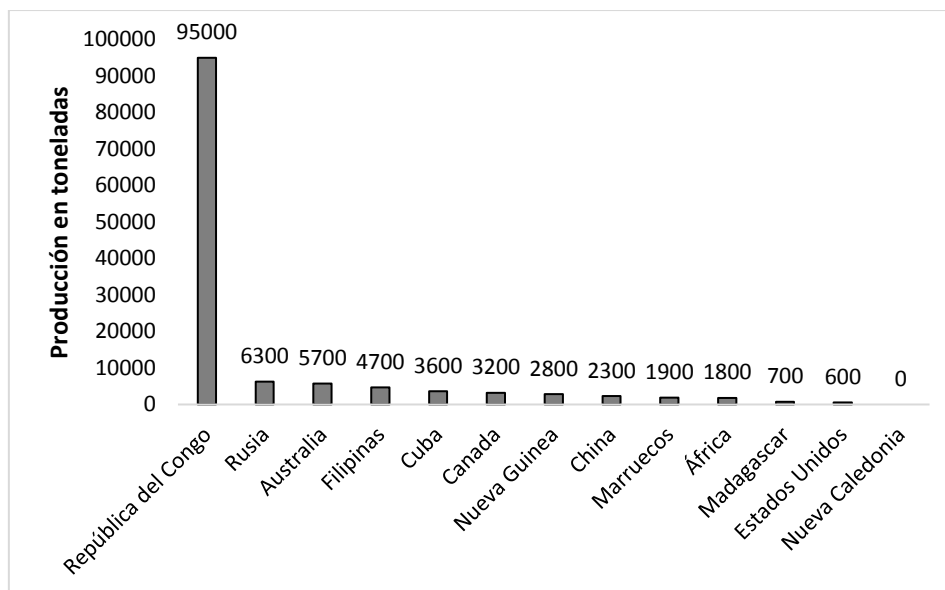


**Figura 1.** Mineral con cobalto en un depósito minero de Chile (Spa, 2020).

El cobalto se produce como un subproducto en proyectos mineros cuyos ingresos son impulsados principalmente de la minería de cobre (Figura 1) y níquel (Campbell, 2020; Fu *et al.*, 2020). La Figura 2, reporta la producción mundial de los principales países productores de cobalto en toneladas al año 2020, donde aproximadamente el 55% de la producción mundial de cobalto, equivalente a 69 kt, se genera en la República Democrática del Congo (Cheyins *et al.*, 2014; Corathers y USGS, 2017) y donde la minería artesanal realizada en la República del Congo representa aproximadamente entre el 10 y 20% de la producción anual de cobalto. Sin embargo, esta práctica no regulada ha generado grandes preocupaciones ambientales y de salud pública (Al Barazi *et al.*, 2017; Gaughran, 2013; Fu *et al.*, 2020). En China, el cobalto producido proviene a partir de la extracción del hierro con un 58% del cobalto refinado, equivalente al 91% del cobalto originado en la República del Congo (Fu *et al.*, 2020; Cobalt Intitute, 2020). De igual manera, China consume el 32% de cobalto, catalogándose como el país con mayor consumo de este metal. Otros productores de cobalto son Nueva Caledonia, Canadá, Rusia, Australia, Cuba, Filipinas y Madagascar, donde la producción de cobalto está dada como subproducto de la extracción de níquel (Brown *et al.*, 2020; Cobalt Intitute, 2020).

El cambio de vehículos con motor a gasolina a vehículos eléctricos, incluido las zonas geográficas de extracción y refinación de cobalto ha generado una gran preocupación por la disponibilidad de los suministros del metal, siendo catalogado como metal crítico por la Unión Europea, China y Estados Unidos (Mathieu, 2019; Blengini *et al.*, 2020; Campbell, 2020). Sin embargo, su producción se redujo un 6% en comparación al año 2019, debido al cierre de Mutanga de Glencore, la mina más grande de cobalto en el mundo. De igual manera, países como Canadá, Madagascar y Filipinas suspendieron sus actividades mineras debido a la pandemia COVID-19, lo que provocó una caída en la producción de níquel de un 5,2% interanual, contribuyendo a la disminución de la producción de cobalto en el año 2020 (Cobalt Institute, 2020).





**Figura 2.** Producción minera de cobalto a nivel internacional el año 2020 (Garside, 2021).

El desarrollo de tecnologías de reciclaje a partir de fuentes secundarias para la recuperación de cobalto ha aportado en la protección del medio ambiente y conservación de los recursos reduciendo la dependencia del mineral. Las principales fuentes secundarias donde se ha estudiado extracción de cobalto son los relaves mineros y baterías de ion litio gastadas, que suelen contener bajas concentraciones del metal (Chen *et al.*, 2011; Xi *et al.*, 2013; Wiecka *et al.*, 2020). Estudios aseguran que la recuperación de cobalto desde fuentes secundarias de excederá a la producción primaria al año 2080, basándose en que al año 2020, el reciclaje de las baterías con alto contenido de cobalto representó un 65% de los 10,6 kilo toneladas de cobalto reciclado (Fu *et al.*, 2020; Cobalt Intitute, 2020).

## 2.2 MINERÍA DEL COBALTO EN CHILE

Chile se destaca por ser el máximo productor a nivel mundial de cobre. Sin embargo, con el creciente interés por las explotaciones de nuevos minerales de valor para su uso en distintas áreas de relevancia industrial, ha generado la necesidad de incursionar en la explotación de

otros minerales incluyendo aquellos con contenido de cobalto. De igual manera la dependencia económica de un solo mineral perjudica la estabilidad de esta misma a nivel internacional, debido a la dependencia directa del precio del mineral en el mercado internacional (Townley *et al.*, 2017).

En Chile, la explotación del cobalto se inició a mediados del siglo XIX en las regiones de Atacama y Coquimbo. La Figura 3 muestra las principales zonas donde se ha registrado actividad de explotación minera de cobalto en Chile, donde se destacan las regiones de Atacama, Coquimbo.

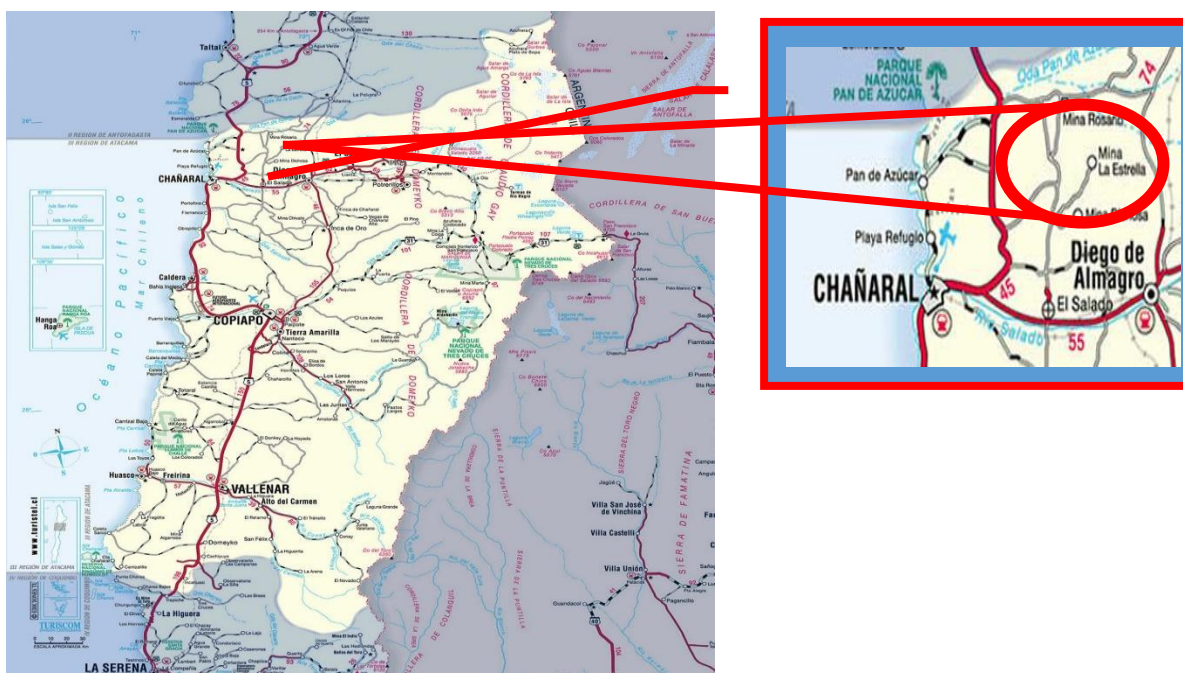


**Figura 3.** Mapa de principales yacimientos de explotación de cobalto en Chile correspondientes a las regiones de Atacama y Coquimbo (Townley *et al.*, 2017).

Dentro de las fuentes de explotación de minerales, los relaves mineros presentan una gran ventaja ya que, al estar el material chancado y molido, se disminuyen costos de producción asociados a la molienda de las muestras (SERNAGEOMIN, 2015). Recientes publicaciones sobre el cobalto en Chile dan a conocer los distintos terrenos con potencial explotación de este mineral, siendo La Cobaltera y Carrizal Alto, yacimientos con importante potencial para la explotación de cobalto además de cobre, hierro y níquel. Sin embargo, el distrito de Tambillos

y Minillas, a 15 km del sur de Coquimbo, presenta mayor presencia de cobalto en comparación con los dos terrenos antes mencionados (Spa, 2020).

Para la presente investigación, las muestras utilizadas corresponden a mineral obtenido desde la Mina “La Estrella”, ubicada en el distrito “El Zapallo” a 15 km al suroeste de Vallenar (Figura 4). El mineral caracterizado contiene importantes concentraciones de hierro, cobre, níquel y cobalto (Spa, 2020).



**Figura 4.** Zona geográfica de la tercera región de Atacama donde se ubica la Mina la Estrella. (Turismo virtual, 2020).

## 2.3 RECUPERACIÓN DE METALES

Hoy en día, se han estudiado varios métodos eficientes para la recuperación de metales, como la precipitación química, el intercambio iónico, la ósmosis inversa, la electrodiálisis, la ultrafiltración, la nanofiltración, la coagulación, la floculación, la flotación, etc. Sin embargo, estos métodos poseen desventajas, como alto requerimiento de reactivos, remoción

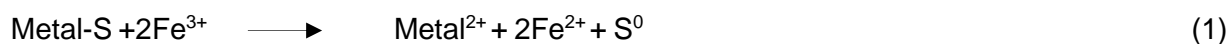
impredecible de iones metálicos, generación de lodos tóxicos, entre otras (Khulbe y Matsuura, 2018; Karimi-Maleh *et al.*, 2020).

La industria metalúrgica y de procesamiento de minerales generan grandes cantidades de residuos, como los botaderos, relaves, escorias metalúrgicas y polvos que presentan un impacto ambiental negativo (Lottermoser, 2010; Kossoff *et al.*, 2014; Kefeni *et al.*, 2017). Sin embargo, pueden presentar bajas concentraciones de metales valiosos, que podrían recuperarse si se dispusiera de un proceso adecuado y económicamente rentable (Jamieson *et al.*, 2015).

Los procesos hidrometalúrgicos representan uno de los más utilizados en recuperación de metales desde minerales. Algunos ejemplos de técnicas hidrometalúrgicas incluyen a lixiviación ácida, lixiviación alcalina, lixiviación oxidativa y la biolixiviación (Jadhav y Hocheng, 2012). Los procesos de biolixiviación son considerados tecnologías verdes, de bajo costo y alta eficiencia de recuperación de metales, que utiliza microorganismos que incluyen hongos, bacterias quimiolitotróficas y acidófilas como agentes de lixiviación utilizando iones ferrosos y azufre como fuente de energía para la recuperación de metales (Asghari *et al.*, 2013; Srichandan *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020). Los microorganismos son clasificados según su fuente de energía, siendo los quimiolitotrofos y quimiorganotrofos los más estudiados en recuperación de metales mediante biolixiviación. Los microorganismos quimiolitotróficos utilizan compuestos inorgánicos como fuente de energía a bajos pH, mientras que los quimiorganotrofos utilizan fuentes de carbono de origen orgánico como fuente de energía (Huang y Wang, 2019).

Las bacterias quimiolitotróficas acidófilas más conocidas pertenecen el género *Acidithiobacillus* (por ejemplo, *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*) (Mishra y Tripathi 2008; Tang *et al.*, 2009). En los procesos de biolixiviación en pila participan un grupo de microorganismos denominados consorcios, que se refiere a dos o más especies microbianas que se basan en una asociación simbiótica realizando una función en común, mientras que un cultivo mixto se refiere a una asociación entre dos o más especies microbianas con funciones independientes (Kang *et al.*, 2020).

En la biolixiviación de minerales, los iones férricos actúan como agentes oxidantes para la lixiviación, siendo regenerados a partir de iones ferrosos por las bacterias quimiolitotróficas acidófilas oxidantes de hierro (Ec. 1 y 2) (Le y Lee, 2021).



Estudios recientes han demostrado una alta recuperación de metales a partir de relaves piríticos utilizando biolixiviación en biorreactores. Sin embargo, cuando existen bajos contenidos de minerales no ferrosos en los relaves, las concentraciones de metales en la solución de lixiviación son poco significativas para escalar el proceso (Muravyov, 2019).

## 2.4 RECUPERACIÓN DE COBALTO MEDIANTE BIOLIXIVIACIÓN

La demanda de metales de alta pureza y las tendencias recientes hacia las tecnologías emergentes y amigables con el medio ambiente han centrado su atención en la extracción y recuperación de metales a partir de fuentes secundarias mediante el uso de sistemas microbianos que permiten lixiviar minerales de elementos de valor agregado (Rodríguez *et al.*, 2001; Kang *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2016; Liang y Gadd, 2017).

En comparación con los métodos de extracción de metales convencionales como la lixiviación química, la biolixiviación posee enormes ventajas incluyendo menos emisiones de carbono y bajo costo de capital y de operación (Chen *et al.*, 2016; Liang y Gadd, 2017; Horn *et al.*, 2020). Diferentes reportes consideran que la biolixiviación de minerales es un enfoque verde y comercialmente viable para la recuperación de metales utilizando microorganismos nativos en

la minería metálica, ya lo que implica el uso de bajas temperaturas de operación (20 – 80 °C), reduciendo los costos energéticos, si se compara por ejemplo con el proceso de lixiviación ácida a altas presiones (Johnson, 2014; Nikolki y Li, 2015; Isildar *et al.*, 2017; Malekian y Biria, 2019; Yu *et al.*, 2020).

El cobalto es un producto secundario principalmente de depósitos magmáticos de níquel y cobre que, a lo largo de los años, se ha recuperado mediante lixiviación ácida y otras tecnologías asociadas a la minería (Mushinga-Enkono, 2012; Horn *et al.*, 2020). Por otro lado, otro tipo de depósitos que contienen cobalto son los depósitos de cobre en sedimentos estratiformes y depósitos de lateritas de níquel y cobalto (Horn *et al.*, 2020).

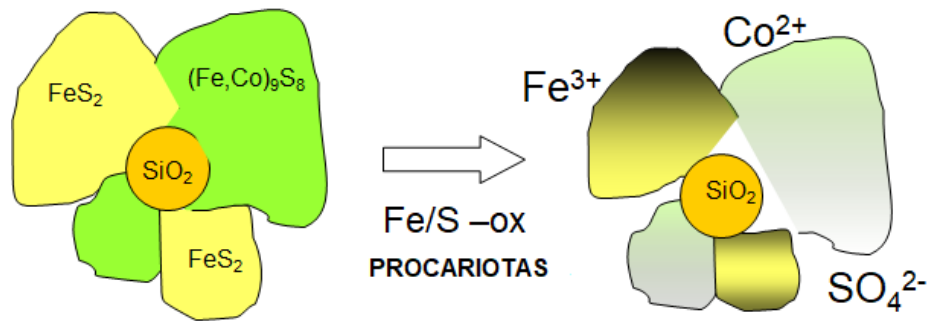
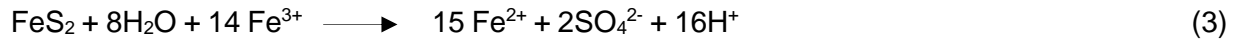
Los microorganismos contribuyen a la biolixiviación de metales a través de la producción de ácido inorgánico u orgánico, o indirectamente proporcionando hierro férrico como agente de lixiviación, aportando excelentes características físico-químicas y propiedades biológicas. Por ejemplo, la biolixiviación mediante la cepa *Acidithiobacillus ferrooxidans* ha sido ampliamente estudiada para la recuperación de varios metales a partir de recursos minerales sulfurados (Li *et al.*, 2016; Liang y Gadd, 2017; Isildar, 2018; Peng *et al.*, 2018). La Tabla 1 muestra algunos ejemplos de microorganismos biolixivantes de cobalto presente en minerales sulfurados y el porcentaje de cobalto extraído en distintos periodos de trabajo según el microorganismo evaluado y el tipo de mineral.

**Tabla 1.** Aplicación de microorganismos acidófilos en biolixiviación de minerales.

Tipo de mineral	Microorganismo	Porcentaje biolixiviado	Periodo de biolixiviación	Referencia
Relaves sulfurados- Mina de hierro de Golgohar	Cultivo mixto de <i>Leptospirillum ferriphilum</i> , <i>Acidithiobacillus caldus</i> , <i>Sulfobacillus</i> (Sb.) sp., y <i>Ferroplasma</i> (F) sp.	56 % Cobalto	21 días	Ahmadi <i>et al.</i> , 2015
Minerales laterita de baja ley	<i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i>	54 % Co	60 días	Valix <i>et al.</i> , 2001
Muestras relave Planta Taltal	Cultivo mixto de mesófilos. <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> , <i>ferrooxidans</i> , <i>Leptospirillum ferrooxidans</i> y <i>Ferroplasma acidiphilum</i> .	38 % Co	13 días	Zhang y Schippers, 2022
Muestras relave Planta Taltal	Cultivo mixto de termófilos/termófilos moderados. <i>At. caldus</i> , <i>L. ferriphilum</i> , <i>Sb. thermosulfidooxidans</i> , <i>Sb. benefaciens</i> y <i>F. acidiphilum</i>	74 % Co	12 días	Zhang y Schippers, 2022

Se ha descrito que existe un elevado potencial en la extracción y recuperación de metales valiosos de minerales sulfurados complejos polimetálicos de baja ley como la pirita y la calcopirita (abundantes en la corteza terrestre), utilizando microorganismos termofílicos moderados (Fantauzzi *et al.*, 2011; Jones *et al.*, 2013; Ahmadi *et al.*, 2015). La oxidación en la pirita ocurre cuando la superficie del mineral está expuesta a oxígeno y agua, liberando  $Fe^{2+}$ ,  $SO_4^{2-}$  y  $H^+$  (Ec. 3) (Tu *et al.*, 2017). Los microorganismos oxidantes de hierro como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, oxidan el  $Fe^{2+}$  disuelto a  $Fe^{3+}$  (Ec. 4) utilizando el oxígeno disuelto mediante un proceso de re-oxidación. Asimismo, el  $Fe^{3+}$  lixivia los minerales sulfurados recalcitrantes que pueden contener por ejemplo, Co, Ni, Cu, Au, Se, Te, Pb (Moncur

*et al.*, 2009; Fantuzzi *et al.*, 2011; Hoque y Philip, 2011). La Figura 5 muestra el proceso de biolixiviación de la pirita para la solubilización del hierro, cobalto, óxido de silicio y sulfato.



**Figura 5.** Biolixiviación de la pirita para la obtención del hierro, cobalto, óxido de silicio y sulfato mediante la oxidación del hierro.



## CAPÍTULO 3

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Materiales

##### 3.1.1 Equipos

**Tabla 2.** Listado de equipos utilizados en el estudio con su respectiva marca y modelo.

Equipo	Marca	Modelo
Agitador magnético	GLASSCO	-
Autoclave	QUIMIS	Q-190-26
Balanza Analítica	MRC	ASB-220-C2-V2
Biorreactor	EPPENDORF	BIOFLO/CELLIGEN 115
Biorreactor	BIOTRON	LIFLUX GX-FERMENTER
Cámara de flujo laminar	ESCO	-
Cámara electroforesis	-	-
Centrifuga	-	TD5A
Centrifuga microtubos	BOECO GERMANY	M-24
Espectrofotómetro	BIOTEK INSTRUMENTS	EPOCH
Estufa de incubación	-	-
pHmetro	HANNA INSTRUMENTS	HI9321pH
Termociclador	EPPENDORF	-
Vortex Mixer	ARQUIMED	VM-300

##### 3.1.2 Materiales

**Tabla 3.** Listado de materiales utilizados en el estudio con su respectiva marca.

Materiales	Marca
Asa Curva	-
Asa Recta	-
Gradillas	-
Mangueras	-
Matraz Erlenmeyer	CORNING
Micropipetas	LABNET

Microtubos	HES
Placa Petri de cultivo	THERMO SCIENTIFIC
Puntas micropipetas azul libre DNASA y RNASA	JET BIOFIL
Puntas micropipetas amarilla libre DNASA y RNASA	HES
Tubos Centrifuga 15 mL	JET BIOFIL
Tubos Centrifuga 50 mL	FALCON

### 3.1.3 Reactivos

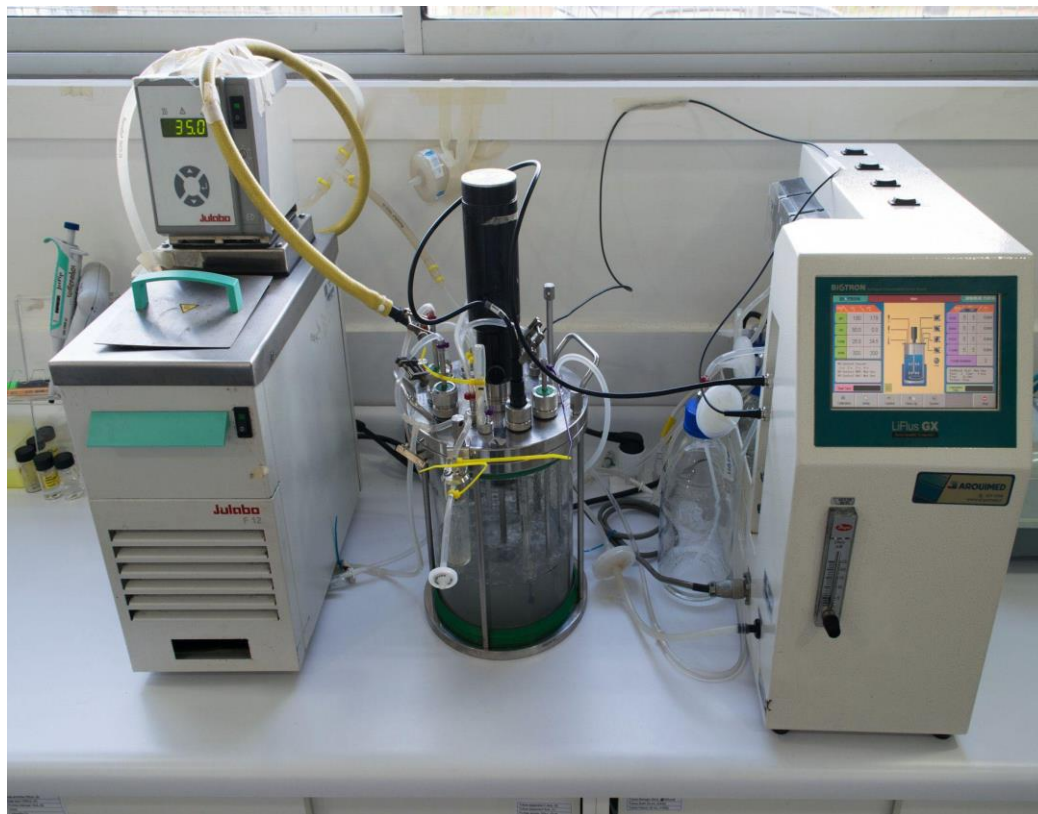
**Tabla 4.** Listado de reactivos utilizados en el estudio con su respectiva marca.

Reactivos	Marca
Agarosa	WINKLER
Hierro	SIGMA
Buffer TBE 10X	PROMEGA
Grafeno	-
Kit de purificación	MOBIO
Medio LB	PROMEGA
Reactivos Electroforesis	PROMEGA
Reactivos PCR	PROMEGA
SureClean Plus	BIOLINE
Tetrionato de Potasio	SIGMA

## 3.2 Implementación de los biorreactores de tanque agitado

### 3.2.1 Descripción de la implementación de los biorreactores

En el presente estudio se utilizaron dos biorreactores de tanque agitado Bioflo/Celligen 115 (Figura 6) y Liflux GX-Fermenter (Figura 7) con un volumen de trabajo de 1 L respectivamente. Los reactores se operaron en modalidad batch a pH 1,8 con una agitación de 300 rpm durante 40-50 días con medio basal de sales (ABS) /elementos trazas (TE) (Nancucheo *et al.*, 2016) a pH 1,8 y 20 g de mineral. Para las temperaturas de 30 y 35 °C se utilizó un consorcio microbiano mesófilo y para las temperaturas de 37, 40 y 42 °C un consorcio termófilo moderado, ambos proveídos por el Centro de Investigación Científico y Tecnológico de la Región de Antofagasta (CICITEM).



**Figura 6.** La imagen muestra el biorreactor de tanque agitado con control de temperatura y su unidad de control (Bioflo/Celligen 115). El mineral se encuentra en un volumen de 1 L con medio ABS/TE.



**Figura 7.** La imagen muestra el biorreactor de tanque agitado con control de temperatura y su unidad de control (Liflux GX-Fermenter). El mineral se encuentra en un volumen de 1 L con medio ABS/TE.

### 3.3 Colecta de muestras

Se recolectaron muestras periódicamente de los biorreactores durante la operación para cada temperatura estudiada. A las muestras colectadas se les midió el pH para posteriormente filtrarlas (tamaño de poro de 0,2 micras) y acidificarlas con ácido nítrico al 5% para su posterior análisis de metales por espectroscopía de absorción atómica. Muestras no filtradas colectadas en el inóculo y al término del experimento para cada temperatura estudiada fueron utilizadas para el análisis de diversidad microbiana.

### 3.4 Análisis de la comunidad microbiana

El ADN fue extraído de las muestras colectadas del biorreactor hidrometalúrgico, utilizando el kit Ultra-Clean™ Soil DNA Isolation (Power Soil, DNA isolation; MoBio Laboratories, EE.UU.) según las instrucciones del fabricante. Una vez cuantificadas, las muestras fueron secuenciadas en la región V4 del gen 16S ARNr mediante plataforma Illumina (Genoma Mayor, Santiago, Chile).

El kit “PowerSoil DNA isolation” es un método de extracción de ADN desde muestras ambientales, con un alto nivel de pureza, permitiendo una amplificación adecuada durante la secuenciación.

#### 3.4.1 Metodología de extracción de ADN

- Agregar 0,25 g de la muestra en un tubo Power-bead.
- Agitar suavemente el tubo Power-bead en el vortex.
- Observar la solución C1. Si la solución C1 está precipitada, calentar la solución hasta 60 °C hasta que el precipitado esté disuelto.
- Agregar 60 µL de la Solución C1 en el tubo Power-bead e invertir varias veces para mezclar.
- Colocar el tubo Power-bead en un agitador vortex horizontal a velocidad máxima por 10 minutos.
- Centrifugar el tubo Power-bead a 10000 rpm por 30 segundos a temperatura ambiente.
- Transferir el sobrenadante en un tubo de colecta de 2 ml (proveído por el kit).
- Agregar 250 µL de la solución C2 y mezclar en el vortex por 5 segundos. Incubar a 4 °C por 5 minutos
- Centrifugar los tubos a temperatura ambiente por 1 minuto a 10000 rpm.
- Evitando el pellet, transferir hasta 600 µL del sobrenadante a un nuevo tubo de colecta de 2 ml.
- Agregar 200 µL de la solución C3 en el tubo de colecta y agitar en el vórtex brevemente. Incubar a 4°C por 5 minutos.
- Centrifugar el tubo a temperatura ambiente por 1 minuto a 10000 rpm.

- Transferir hasta un volumen de 750  $\mu$ L de sobrenadante a un nuevo tubo de colecta de 2 ml.
- Mezclar la solución C4 antes de usar. Agregar 1.2 ml de solución C4 al sobrenadante (cuidado de exceder el límite del tubo con la solución C4) y agitar en el vortex por 5 minutos.
- Adicionar 675  $\mu$ L al filtro de centrifugación de 2 ml y centrifugar a 10000 rpm por 1 minuto a temperatura ambiente. Descartar el líquido filtrado y agregar nuevamente 675  $\mu$ L de sobrenadante al filtro de centrifugación y centrifugar a 10000 rpm por 1 minuto a temperatura ambiente.
- Agregar 500  $\mu$ L de la solución C5 y centrifugar a temperatura ambiente por 30 segundos a 10000 rpm.
- Descartar la solución filtrada desde el tubo de centrifugación
- Centrifugar a temperatura ambiente por 1 minuto a 10000 rpm.
- Cuidadosamente colocar el filtro de centrifugación en un nuevo tubo de colecta de 2 ml. Evitar cualquier contacto de la solución C5 usada previamente con el filtro de centrifugación donde está retenido el ADN.
- Agregar 100  $\mu$ L de la solución C6 en el centro de la membrana del filtro de centrifugación.
- Centrifugar a temperatura ambiente por 30 segundos a 10000 rpm.
- Descartar el filtro de centrifugación. El ADN está ahora en el tubo de colecta y listo para una posterior aplicación. No es necesario pasos adicionales. (Se recomienda guardar el ADN entre -20 a -80 °C).

A partir de ADN extraído con el kit MoBio, se realizará la secuenciación de la región hipervariable V4 del gen 16S ARNr utilizando los cebadores universales para esta región (515F, 806R; Walters *et al.*, 2016). Las reacciones se realizarán en una plataforma Illumina Miseq®. Para el procesamiento bioinformático de los datos se utilizará QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology). Las secuencias se alinearán y agruparán en unidades taxonómicas operativas (OTU) basadas en el algoritmo de selección de OTU novo utilizando la implementación QIIME de UCLAST con una identidad  $\geq 97\%$  (Edgar, 2010). PyNAST se empleará para la alineación utilizando la base de datos Greengenes. La taxonomía será asignada mediante BLAST.

### 3.5 Determinación de metales mediante espectroscopía de absorción atómica

El porcentaje de recuperación de cada elemento se obtuvo según la composición química del mineral proveniente de Mina La Estrella (Tabla 5). Se trabajó con 20 g del mineral en 1 L de medio. La concentración de cobalto, hierro, cobre y níquel se midió mediante espectroscopía de absorción atómica Perkin-Elmer (Modelo 900).

**Tabla 5.** Composición química de mineral en porcentaje.

	Cu (%)	Fe (%)	Co (%)	Ni (%)
Compósito 1	0,788	41,83	0,109	0,183

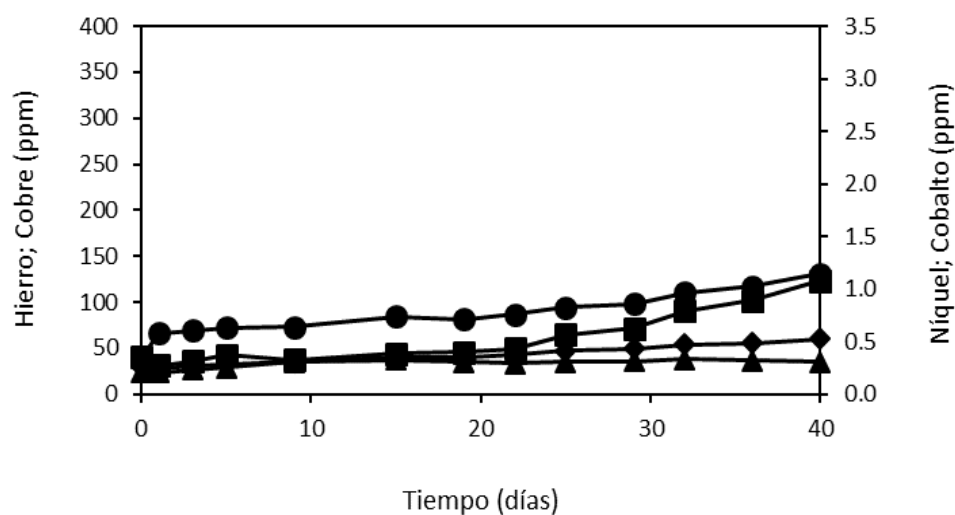
## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS

#### 4.1 Bio-solubilización del mineral

A continuación se muestran los resultados del proceso de biolixiviación a diferentes temperaturas con los respectivos consorcios microbianos.

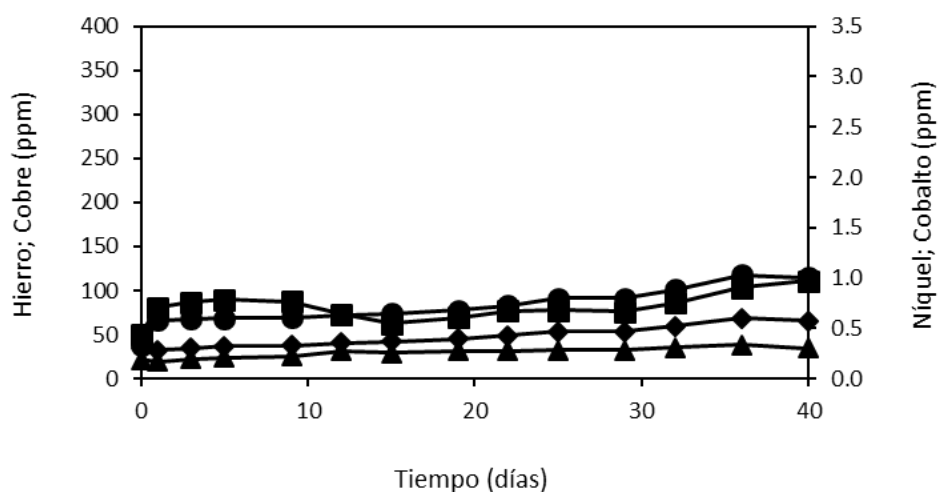
La Figura 8 muestra el resultado del proceso de biolixiviación con el cultivo mesófilo a 30 °C operado durante 40 días, obteniéndose una solubilización máxima de 1 ppm de cobalto, 0.57 ppm de níquel, 110.82 ppm de hierro y 34.52 ppm de cobre.



**Figura 8.** Solubilización de hierro, cobre, níquel y cobalto en el biorreactor operado a 30 °C con el consorcio mesófilo. Leyendas: (■) hierro, (▲) cobre, (◆) níquel y (●) cobalto.

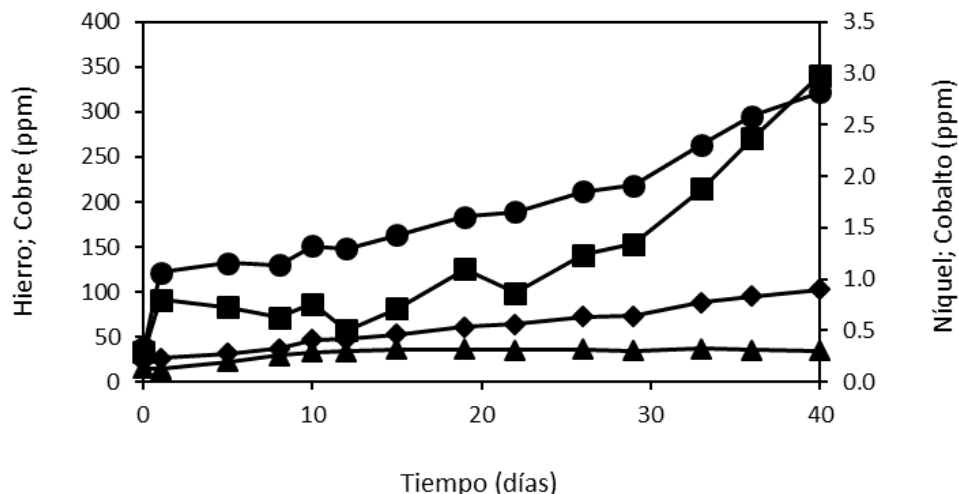
La Figura 9 presenta el resultado del proceso de biolixiviación con el cultivo mesófilo a 33°C operado durante 40 días, en el cual se obtuvo una solubilización máxima de 1.14 ppm de cobalto, 0.52 ppm de níquel, 123.56 ppm de hierro y 34.94 ppm de cobre.





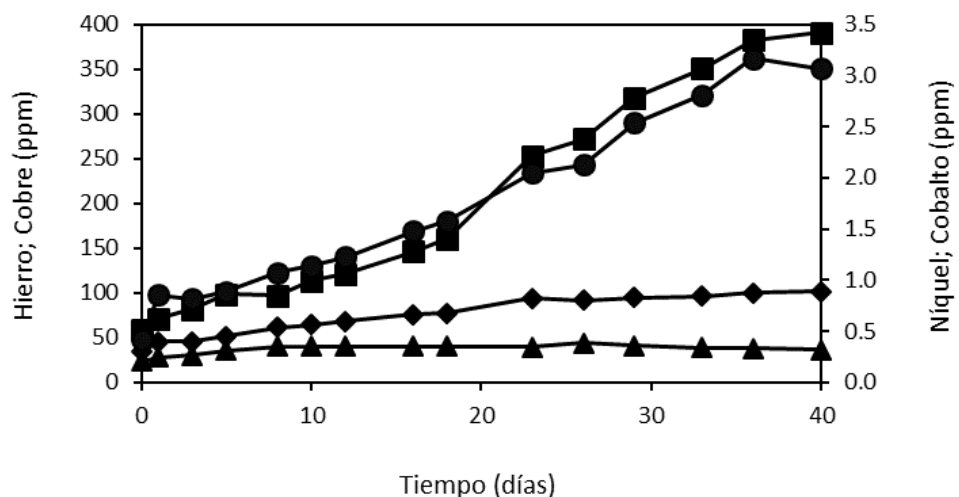
**Figura 9.** Solubilización de hierro, cobre, níquel y cobalto en el biorreactor operado a 33 °C con el consorcio mesófilo. Leyendas: (■) hierro, (▲) cobre, (◆) níquel y (●) cobalto.

Al utilizar el proceso de biolixiviación con un cultivo termófilo moderado a 37 °C, el porcentaje de extracción de cobalto obtenido fue de 25.9%, con una solubilización de 2.82 ppm determinado en el biorreactor mediante espectroscopía de absorción atómica (Figura 10). Respecto a la extracción de níquel, hierro y cobre, se logró la obtención de 0.90 ppm, 340.98 ppm y 34.62 ppm respectivamente, lo que equivale a un 4.9%, 8.2% y 43.9% de recuperación de cada metal.



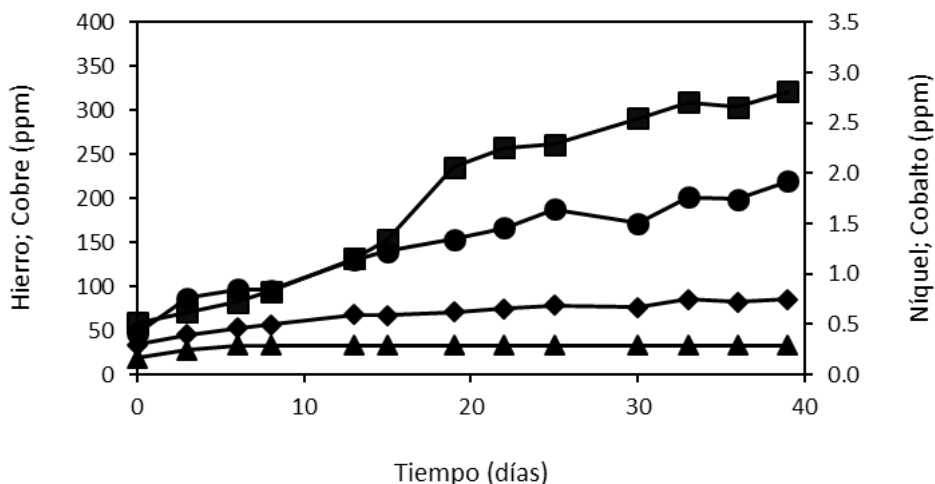
**Figura 10.** Solubilización de hierro, cobre, níquel y cobalto en el biorreactor operado a 37 °C con el consorcio termófilo moderado. Leyendas: (■) hierro, (▲) cobre, (◆) níquel y (●) cobalto.

La Figura 11 muestra el proceso de biolixiviación en modalidad batch de biorreactor inoculado con un cultivo bacteriano termófilo moderado a 42°C operado durante 40 días, en el cual se logró la obtención de 3.07 ppm de cobalto, 391.10 ppm de hierro, 0.89 ppm de níquel y 36.49 ppm de cobre, lo que equivale a un porcentaje de recuperación de 28.2, 9.3, 4.9 y 46.3% respectivamente.



**Figura 11.** Solubilización de hierro, cobre, níquel y cobalto en el biorreactor operado a 42 °C con el consorcio termófilo moderado. Leyendas: (■) hierro, (▲) cobre, (◆) níquel y (●) cobalto.

Asímismo, la Figura 12 muestra el resultado del proceso de biolixiviación del cultivo termófilo moderado durante 40 días a 45 °C, en el cual se logró la obtención de 1.92 ppm de cobalto, 321.31 ppm de hierro, 0.75 ppm de níquel y 29.40 ppm de cobre.



**Figura 12.** Solubilización de hierro, cobre, níquel y cobalto en el biorreactor operado a 45 °C con el consorcio termófilo moderado. Leyendas: (■) hierro, (▲) cobre, (◆) níquel y (●) cobalto.

Al comparar los valores de extracción de cada elemento solubilizado, de acuerdo a las condiciones de trabajo de los reactores de biolixiviación (Tabla 6 y 7), es posible determinar que la mayor recuperación de metales se alcanzó a los 42 °C de operación con un cultivo termófilo moderado, con una extracción de 9.3% de hierro, 43.6% de cobre, 4.9% de níquel y 28.2% de cobalto.

Es posible anticipar que los cultivos termófilos moderados tienen una mayor capacidad para solubilizar el mineral de pirita promoviendo la liberación de metales de interés en comparación con los cultivos mesófilos. Respecto al cobre, es importante mencionar que es el metal con mayor porcentaje de recuperación respecto a hierro, níquel y cobalto.

**Tabla 6.** Porcentaje de recuperación de hierro, cobalto, níquel y cobre mediante biolixiviación con un cultivo mesófilo.

Temperatura (°C)	Hierro (%)	Cobre (%)	Níquel (%)	Cobalto (%)
30	2.6	43.8	3.1	9.2
33	3.0	44.3	2.9	10.5

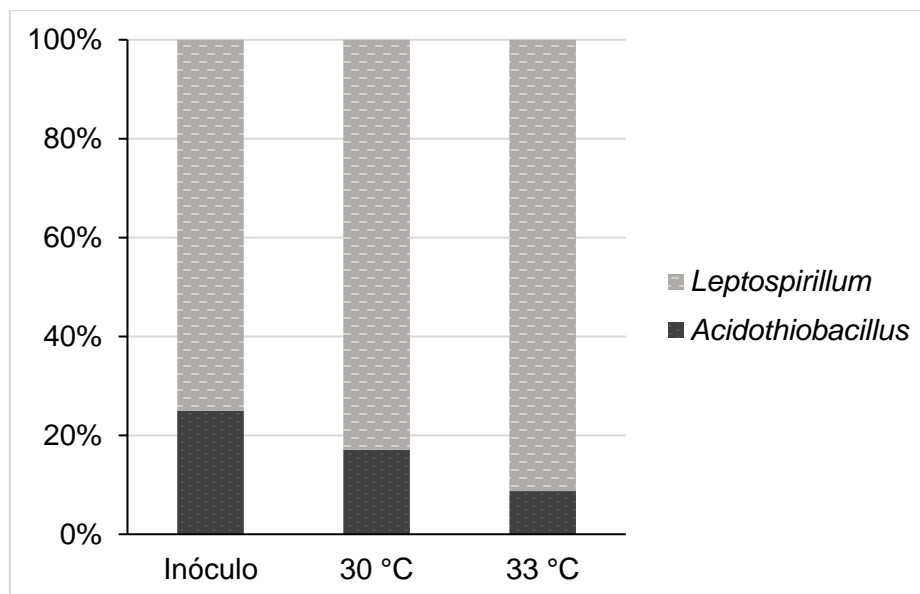
**Tabla 7.** Porcentaje de recuperación de hierro, cobalto, níquel y cobre mediante biolixiviación con un cultivo termófilo moderado.

Temperatura (°C)	Hierro (%)	Cobre (%)	Níquel (%)	Cobalto (%)
37	8.2	43.9	4.9	25.9
42	9.3	46.3	4.9	28.2
45	7.7	37.3	4.1	17.6

## 4.2 Análisis de la comunidad microbiana

La caracterización microbiana se llevó a cabo mediante la técnica de secuenciación dirigida a la región hipervariable V4 del gen 16S ARNr mediante plataforma Illumina Miseq®.

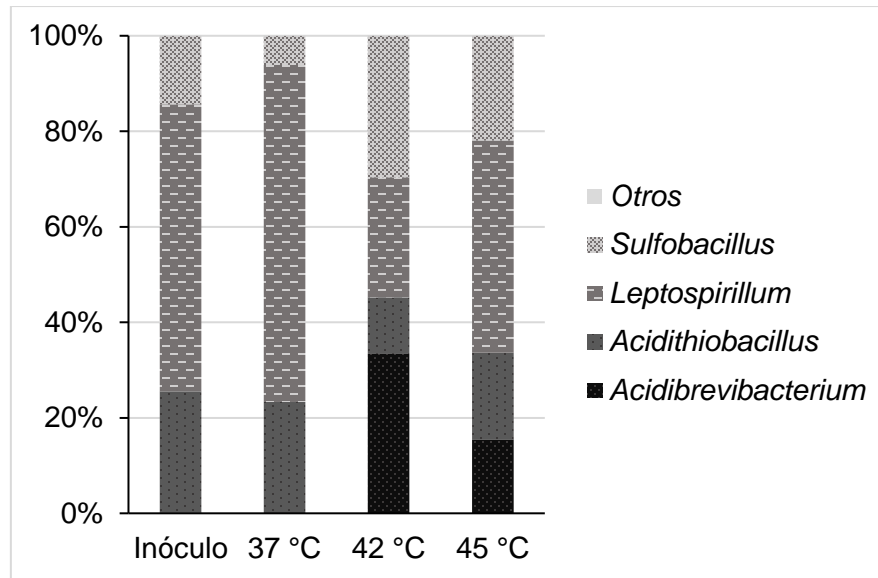
El análisis de diversidad microbiana determinada en el inóculo y al término del experimento, confirmaron la presencia de *Leptospirillum* como microorganismo dominante a 30 y 33 °C con un 83 y un 91% respectivamente, mientras que *Acidithiobacillus* se presenta en un 17 y 9% respectivamente (Figura 13).



**Figura 13.** Diversidad bacteriana del cultivo mesófilo para el inóculo y al término de la operación para los biorreactores a 30 y 33 °C.

El análisis de la diversidad microbiana de los biorreactores operados a 37, 42 y 45 °C (Figura 14) al término de la operación, reveló la presencia de bacterias del género *Leptospirillum* con una abundancia relativa de 69, 25 y 44% respectivamente, y con mayor predominancia a 37 °C. De igual manera, se observa la presencia de *Acidithiobacillus* con un 24% de abundancia relativa a 37°C, 12% a 42 °C y 18% a 45 °C.

Por otro lado, como consecuencia del aumento de temperatura, se observa al género *Sulfobacillus* con mayor presencia a 42 °C, con una abundancia relativa de 29% y menor presencia a 37 °C (con una abundancia relativa de 6%). Asimismo, a 42 y 45 °C se observa la presencia del género *Acidibrevibacterium* con una abundancia relativa de 33 y 15% respectivamente.



**Figura 14.** Diversidad bacteriana del cultivo termófilo moderado para el inóculo y al término de la operación para los biorreactores a 37 y 42 y 45 °C.

## CAPÍTULO 5

### DISCUSIÓN

#### 5.1 Recuperación de mineral.

La lixiviación de minerales es un método en el cual se liberan metales de los minerales por disolución química e incluyen distintos procesos como la lixiviación mediante carbonato de amonio, la cual presenta bajo rendimiento en la extracción de níquel y cobalto requiriendo de grandes cantidades de energía y reactivos. Por otra parte, la lixiviación con ácido sulfúrico produce elevadas concentraciones de hierro y aluminio y la lixiviación ácida a alta presión en la cual se recuperan altas cantidades de níquel y cobalto y poco hierro residual en solución (Swamy y Narayana, 2001; Guo *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011).

Por otro lado, la biolixiviación de minerales es una opción de creciente interés en el procesamiento de fuentes secundarias como relaves mineros abundantes en sulfuros, utilizando microorganismos oxidantes de hierro, como *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, que oxida  $Fe^{2+}$  disuelto a  $Fe^{3+}$  mediante el oxígeno procedente de la aireación de la pulpa. Para el caso de fuentes reducidas de azufre, los microorganismos *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Acidithiobacillus caldus* son capaces de oxidarlo transformándolo a ácido sulfúrico, suministrando los protones necesarios para la oxidación del hierro manteniendo la solución de metales en forma disuelta (Singh *et al.*, 2018; Makinen *et al.*, 2020).

Coto *et al.*, (2008) realizaron una comparación entre lixiviación química utilizando ácido cítrico (0,1 M) y ácido sulfúrico (0,1 M) y la lixiviación bacteriana usando *Acidithiobacillus thiooxidans* en relaves de lateritas resultante de la extracción de níquel y cobalto, con un contenido de 890 mg/kg de cobalto. Los resultados demostraron que la lixiviación química de cobalto fue eficaz utilizando ácido cítrico y sulfúrico a distintas cantidades de relaves para alcanzar distintas densidades de pulpas (2,5%, 5% y 10 % p/v), observándose que, a menor densidad de pulpa,

mayor es la recuperación del metal. A una densidad de pulpa de 2,5% se obtuvo un 80% de cobalto y un ~60% de recuperación de cobalto en el caso del 5% y 10% p/v de pulpa. Por otro lado, la mayor solubilización de cobalto se obtuvo mediante la biolixiviación con *Acidithiobacillus thiooxidans* en medio de azufre agregando las mismas cantidades de relave que en la lixiviación química. En este caso, al igual que en la lixiviación química, se obtuvo una mayor recuperación de cobalto a una menor densidad de pulpa, equivalente a un 80% de extracción del metal.

Mediante los ensayos de biolixiviación realizados (Figura 8, 9, 10, 11 y 12) al mineral utilizado en el presente estudio, se demuestra que es posible lixiviar el cobalto y los otros metales de transición, según la composición química descrita en Materiales y Métodos.

Al utilizar el proceso de biolixiviación, el porcentaje de extracción de cobalto varía desde un 9.2 hasta el 28.2% en un rango de temperatura entre 30°C y 42°C (Figuras 8 y 11). Respecto a la extracción de níquel, los valores fluctúan entre 2.9% y 4.9% independiente de la temperatura de operación, sugiriendo que no existe influencia catalítica por los microorganismos. Mientras el hierro fluctúa entre 2.6% y 9.3% a 30°C y 42°C respectivamente. Finalmente, la extracción de cobre varía entre 43.8% y 46.3% al ser expuestas a 30°C y 42°C. El valor máximo de la extracción de cobre presenta un 46% de abundancia relativa a 42°C, mientras que el valor mínimo se encuentra en un 37.3% al aumentar la temperatura a 45°C. Cabe mencionar que al aumentar la temperatura en el rango de 30°C a 37°C, los porcentajes de extracción fueron de 43.8%, 44.3% y 43.9%, presentando poca variación, coincidiendo con lo descrito por Zhang y Schippers (2022), los cuales en su estudio realizaron biolixiviación con microorganismos termófilos moderados, obteniendo una alta recuperación de cobalto y cobre a 42 °C. Es importante señalar, que las reacciones de lixiviación de los sulfuros metálicos son exotérmicas, elevando la temperatura de los tanques agitados entre 40 a 50 °C, siendo este el rango óptimo para el crecimiento de microorganismos termófilos moderados, los cuales operan normalmente entre los 40 a 45°C, mejorando el rendimiento de extracción de metales de transición (Cancho *et al.*, 2007; Joulain *et al.*, 2020).

La biolixiviación en tanque agitado a altas temperaturas (80 °C) en minerales y concentrados de calcopirita presenta desventajas tales como baja solubilidad del aire, alta tasa de



evaporación y baja resistencia mecánica de las células vivas. Por otro lado, las operaciones utilizando microorganismos termófilos moderados a bajas temperaturas (37 - 50°C), presentan una menor resistencia a densidades de pulpa altas y altas concentraciones de metales pesados en comparación a los microorganismos termófilos extremos (Olson *et al.*, 2003)

## 5.2 Análisis de la comunidad microbiana

El análisis biomolecular de las muestras colectadas en el biorreactor hidrometalúrgico operado con el cultivo microbiano mesófilo, confirmó que se compone principalmente de los géneros *Leptospirillum* y *Acidithiobacillus*. Lo obtenido concuerda con las características descritas para estos microorganismos en distintos estudios donde se refieren a *Leptospirillum* por ser un género de bacterias acidófilas, quimiolitotróficas, gram negativas, oxidantes de hierro, dominantes en procesos industriales de biooxidación de flujo continuo (Liu *et al.*, 2007; Jafari *et al.*, 2019). Asimismo, *Acidithiobacillus* es un microorganismo aeróbico, extremadamente acidófilo, quimiolitotrófico, gran-negativo, que puede utilizar azufre elemental y compuestos de azufre inorgánico reducido (y hierro dependiendo de la especie) como fuente de energía para su crecimiento (Xia *et al.*, 2010; Yin *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2016). Los resultados de diversidad microbiana demuestran un aumento del género *Leptospirillum*, al observar la abundancia relativa al final del experimento con respecto al inóculo. Panyushkina *et al.* (2018), describe que bacterias pertenecientes al género *Leptospirillum* son más activas en el rango de temperatura de 30 a 50 °C (Daims, 2014). Contrario a *Leptospirillum*, bacterias del género *Acidithiobacillus* disminuyen en abundancia relativa al término del experimento con respecto al inóculo. El rango de temperatura de crecimiento del género *Acidithiobacillus* es de 20 a 45 °C con un pH óptimo de 1,9 (Valdés *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2016; Panyushkina *et al.*, 2018).

Para los experimentos realizados con el consorcio microbiano termófilo moderado, se determinó la presencia del género *Sulfobacillus*, con una abundancia relativa de un 29% a 42 °C, que representa aproximadamente 5 veces más a lo determinado a 37 °C. Este género se encuentra comúnmente en nichos ecológicos ricos en metales y extremadamente ácidos. Las bacterias del género *Sulfobacillus* crecen particularmente en la pirita, siendo ampliamente presentes en la biolixiviación de minerales sulfurados por ser organismos mixotróficos; capaces de utilizar fuentes inorgánicas y orgánicas como fuentes de energía. Además de ser acidófilos, presentan un metabolismo aerobio, con un rol relevante en la lixiviación de

minerales sulfurados a temperaturas sobre 35 °C (Bogdanova *et al.*, 2006; Panyushkina *et al.*, 2019; Panyushkina *et al.*, 2020; Panyushkina y Muravyov, 2023).

A 42 °C y 45 °C, se observa presencia de *Acidibrevibacterium* (Figura 14), con una abundancia relativa de 33% y 15% respectivamente. El género *Acidibrevibacterium* ha sido descrito como heterotrófo perteneciente a la familia *Acetobacteraceae* e incluye una amplia gama de microorganismos con diversas características químicas, bioquímicas y fisiológicas, con alto potencial biotecnológico. Estos microorganismos se han aislado de varios hábitats, entre ellos, suelos salinos, compost y aguas residuales (Muhadesi *et al.*, 2019; Lutfullin *et al.*, 2022). Muhadesi *et al.*, 2019, aislaron la cepa G45-3<sup>T</sup> desde un drenaje ácido de una mina en la provincia de Fujian, República Popular de China. . La cepa G45-3<sup>T</sup>, perteneciente al género *Acidibrevibacterium* presenta forma de varilla, de tamaño 1.3 y 1.5 µm de ancho, y 3.2 y 3.3 µm de ancho, y colonias de color amarillo claro. La cepa G45-3<sup>T</sup> se caracterizó por crecer en condiciones aeróbicas en un rango de temperatura de 20 a 45°C con una temperatura óptima de 37°C y un pH ácido entre 2.5 y 5.0. Cabe señalar, que el crecimiento de microorganismos acidófilos quimiolitotróficos es llevado a cabo regularmente en un ambiente inorgánico, donde la fuente de carbono es proporcionada principalmente por el dióxido de carbono presente en el aire. Es probable que la presencia y crecimiento del género *Acidibrevibacterium*, el cual no posee la característica de mixotrófico, esté dado por el carbono orgánico disuelto (DOC) acumulado en el cultivo, que se origina mediante lisados de células muertas y/o exudados celulares (Okibe *et al.*, 2003).

## **CAPÍTULO 6**

### **CONCLUSIÓN**

Actualmente, es un desafío implementar y operar un proceso alternativo de recuperación de cobalto a partir de minerales sulfurados de baja ley, usualmente presente en depósitos mineros de nuestro país. Entre los procesos biohidrometalúrgicos, la biolixiviación se perfila como una alternativa para la recuperación de residuos mineros y desechos tecnológicos con bajo contenido de metales valiosos. A partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo, la biolixiviación del mineral sulfurado de baja ley con un cultivo microbiano termófilo moderado presentó un mayor extracción de cobalto comparado con el cultivo mesófilo. Para evaluar una futura etapa de escalamiento del proceso, se sugiere determinar la extracción de cobalto a mayores densidades de pulpa.

## CAPÍTULO 7

### BIBLIOGRAFÍA

Adams, F. C., & Barbante, C. (2013). Nanoscience, nanotechnology and spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 86, 3-13.

Ahmadi, A., Khezri, M., Abdollahzadeh, A. A., & Askari, M. (2015). Bioleaching of copper, nickel and cobalt from the low-grade sulfidic tailing of Golgohar Iron Mine, Iran. *Hydrometallurgy*, 154, 1-8.

Akram, R., Khan, M. D., Zequine, C., Zhao, C., Gupta, R. K., Akhtar, M., ... & Bhatti, M. H. (2020). Cobalt sulfide nanoparticles: Synthesis, water splitting and supercapacitance studies. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 109, 104925.

Al Barazi, S., Näher, U., Vetter, S., Schütte, P., Liedtke, M., Baier, M., & Franken, G. (2017). Cobalt from the DR Congo—Potential Risks and Significance for the global Cobalt market. *Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe, Hannover*.

Ansorge, W. J. (2009). Next-generation DNA sequencing techniques. *New biotechnology*, 25(4), 195-203.

Asghari, I., Mousavi, S. M., Amiri, F., & Tavassoli, S. (2013). Bioleaching of spent refinery catalysts: A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 19(4), 1069-1081.

Bao, S. J., Li, C. M., Guo, C. X., & Qiao, Y. (2008). Biomolecule-assisted synthesis of cobalt sulfide nanowires for application in supercapacitors. *Journal of Power Sources*, 180(1), 676-681.

Basak, M., Rahman, M. L., Ahmed, M. F., Biswas, B., & Sharmin, N. (2021). Calcination effect on structural, morphological and magnetic properties of nano-sized CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> developed by a simple co-precipitation technique. *Materials Chemistry and Physics*, 264, 124442.

Bayda, S., Hadla, M., Palazzolo, S., Kumar, V., Caligiuri, I., Ambrosi, E., ... & Rizzolio, F. (2017). Bottom-up synthesis of carbon nanoparticles with higher doxorubicin efficacy. *Journal of Controlled Release*, 248, 144-152.

Bogdanova T., Tsaplina, I. A., Kondrat'eva, T. F., Duda, V. I., Suzina, N. E., Melamud, V. S., ... & Karavaiko, G. I. (2006). *Sulfobacillus thermotolerans* sp. nov., a thermotolerant, chemolithotrophic bacterium. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 56(5), 1039-1042.

Boisseau, P., & Loubaton, B. (2011). Nanomedicine, nanotechnology in medicine. *Comptes Rendus Physique*, 12(7), 620-636.

Brierley, C. L., & Brierley, J. A. (2013). Progress in bioleaching: part B: applications of microbial processes by the minerals industries. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(17), 7543-7552.

Cabrera, G., Gómez, J. M., Hernández, I., Coto, O., & Cantero, D. (2011). Different strategies for recovering metals from CARON process residue. *Journal of hazardous materials*, 189(3), 836-842.

Campbell, G. A. (2020). The cobalt market revisited. *Mineral Economics*, 33(1), 21-28.

Cancho, L., Blázquez, M. L., Ballester, A., González, F., & Muñoz, J. A. (2007). Bioleaching of a chalcopyrite concentrate with moderate thermophilic microorganisms in a continuous reactor system. *Hydrometallurgy*, 87(3-4), 100-111.

Capeness, M. J., & Horsfall, L. E. (2020). Synthetic biology approaches towards the recycling of metals from the environment. *Biochemical Society Transactions*, 48(4), 1367-1378.

Casas, M., Lienqueo, E., Cubillos, F., & Herrera, L. (2015). Modelación cinética de la precipitación de hierro como Jarosita en soluciones lixiviantes utilizando la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*. Recuperado de: <https://www.cec.uchile.cl/~mlienque/cv/jesus.pdf>

Chan, H. K., & Kwok, P. C. L. (2011). Production methods for nanodrug particles using the bottom-up approach. *Advanced drug delivery reviews*, 63(6), 406-416.

Chen, Y., Ruan, M., Jiang, Y. F., Cheng, S. G., & Li, W. (2010). The synthesis and thermal effect of CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*, 493(1-2), L36-L38.

Chen, L., Tang, X., Zhang, Y., Li, L., Zeng, Z., & Zhang, Y. (2011). Process for the recovery of cobalt oxalate from spent lithium-ion batteries. *Hydrometallurgy*, 108(1-2), 80-86.

Chen, G., Yang, H., Li, H., & Tong, L. (2016). Recovery of cobalt as cobalt oxalate from cobalt tailings using moderately thermophilic bioleaching technology and selective sequential extraction. *Minerals*, 6(3), 67.

Cheng, W., Di, H., Shi, Z., & Zhang, D. (2020). Synthesis of ZnS/CoS/CoS<sub>2</sub>@ N-doped carbon nanoparticles derived from metal-organic frameworks via spray pyrolysis as anode for lithium-ion battery. *Journal of Alloys and Compounds*, 831, 154607.

Cheyns, K., Nkulu, C. B. L., Ngombe, L. K., Asosa, J. N., Haufroid, V., De Putter, T., ... & Smolders, E. (2014). Pathways of human exposure to cobalt in Katanga, a mining area of the DR Congo. *Science of the total environment*, 490, 313-321.

Cho, K., Chang, H., Kil, D. S., Kim, B. G., & Jang, H. D. (2009). Synthesis of dispersed CaCO<sub>3</sub> nanoparticles by the ultrafine grinding. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 15(2), 243-246.

Clavijo Díaz, A. (2002). Fundamentos de química analítica: Equilibrio iónico y análisis químico. Universidad Nacional de Colombia, Bogota (Colombia).

Corathers, L. A., & Manganese, U. S. G. S. (2017). Mineral commodity summaries 2017. *US Geological Survey*, 106-107.

Cobalt Institute. (2020). Cobalt Institute publishes state of the cobalt market report 2020. Cobalt Institute. Recuperado de: <https://www.cobaltinstitute.org/news/cobalt-institute-publishes-state-of-the-cobalt-market-report-2020/>

Coto, O., Galizia, F., Hernandez, I., Marrero, J., & Donati, E. (2008). Cobalt and nickel recoveries from laterite tailings by organic and inorganic bio-acids. *Hydrometallurgy*, 94(1-4), 18-22.

Cruz, J. C., Nascimento, M. A., Amaral, H. A., Lima, D. S., Teixeira, A. P. C., & Lopes, R. P. (2019). Synthesis and characterization of cobalt nanoparticles for application in the removal of textile dye. *Journal of environmental management*, 242, 220-228.

Daims, H. (2014). 59 The family nitrospiraceae. *The Prokaryotes. Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea*, eds E. Rosenberg, EF DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, and F. Thompson (Berlin: Springer).

- Das, S., Sudhagar, P., Nagarajan, S., Ito, E., Lee, S. Y., Kang, Y. S., & Choi, W. (2012). Synthesis of Graphene-CoS electro-catalytic electrodes for dye sensitized solar cells. *Carbon*, *50*(13), 4815-4821.
- David, S. A., Veeraputhiran, V., & Vedhi, C. (2019). Biosynthesis of Cobalt Oxide Nanoparticles-A Short Review. *Journal of Nanoscience and Technology*, 734-737.
- D'Angeli, I. M., Ghezzi, D., Leuko, S., Firrincieli, A., Parise, M., Fiorucci, A., ... & Cappelletti, M. (2019). Geomicrobiology of a seawater-influenced active sulfuric acid cave. *PloS one*, *14*(8), e0220706.
- D'Aubarede, G. (2015). Evaluación de los conocimientos existentes sobre Cobalto, Manganeso, Mercurio, Perlita, Plomo, Zinc, Zirconio. Pub. IREN N° 13/1969.
- De Mello Donegá, C. (2011). Synthesis and properties of colloidal heteronanocrystals. *Chemical Society Reviews*, *40*(3), 1512-1546.
- De Oliveira, P. F., Torresi, R. M., Emmerling, F., & Camargo, P. H. (2020). Challenges and opportunities in the bottom-up mechanochemical synthesis of noble metal nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry A*, *8*(32), 16114-16141.
- Dhillon, G. S., Brar, S. K., Kaur, S., & Verma, M. (2012). Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: current trends and applications. *Critical reviews in biotechnology*, *32*(1), 49-73.
- Días, J. (2015). Síntese e caracterização de nanopartículas de carbono.
- Doyle, D. J. (2013). Nanotechnology in anesthesia and medicine. *Advances in Anesthesia*, *31*(1), 181-200.
- Dzidziguri, E. L., Sidorova, E. N., Inkar, M., Yudin, A. G., Kostitsyna, E. V., Ozherelkov, D. Y., & Gromov, A. A. (2019). Cobalt nanoparticles synthesis by cobalt nitrate reduction. *Materials Research Express*, *6*(10), 105081.
- Edgar R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*; *26* (19): 2460-2461.
- El-Sayed, E. S. R., Abdelhakim, H. K., & Zakaria, Z. (2020). Extracellular biosynthesis of cobalt ferrite nanoparticles by *Monascus purpureus* and their antioxidant, anticancer and antimicrobial

activities: yield enhancement by gamma irradiation. *Materials Science and Engineering: C*, 107, 110318.

Fantauzzi, M., Licheri, C., Atzei, D., Loi, G., Elsener, B., Rossi, G., & Rossi, A. (2011). Arsenopyrite and pyrite bioleaching: evidence from XPS, XRD and ICP techniques. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 401(7), 2237-2248.

Fu, X., Beatty, D. N., Gaustad, G. G., Ceder, G., Roth, R., Kirchain, R. E., & Olivetti, E. A. (2020). Perspectives on cobalt supply through 2030 in the face of changing demand. *Environmental science & technology*, 54(5), 2985-2993.

Gade, A., Ingle, A., Whiteley, C., & Rai, M. (2010). Mycogenic metal nanoparticles: progress and applications. *Biotechnology letters*, 32(5), 593-600.

Gaughran, A. (2013). Inside the DRC's artisanal mining industry. Amnesty International. Recuperado de: <https://www.amnestyusa.org/inside-the-drcs-artisanal-mining-industry/>

Glencore. (2020). World Day Against Child Labour 2020. Recuperado de: <https://www.glencore.com/media-and-insights/insights/world-day-against-child-labour-2020>

Gutiérrez González, L., Hernández Jiménez, M. J., & Molina Borchert, L. (2013). Daños para la salud tras exposición laboral a nanopartículas. *Medicina y Seguridad del Trabajo*, 59(231), 276-296.

Harper, G., Sommerville, R., Kendrick, E., Driscoll, L., Slater, P., Stolkin, R., & Anderson, P. (2019). Recycling lithium-ion batteries from electric vehicles. *Nature*, 575(7781), 75-86.

Harper, E. M., Kavlak, G., & Graedel, T. E. (2012). Tracking the metal of the goblins: cobalt's cycle of use. *Environmental science & technology*, 46(2), 1079-1086.

Hawkins, M. (2001). Why we need cobalt. *Applied Earth Science*, 110(2), 66-70.

Heather, J. M., & Chain, B. (2016). The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*, 107(1), 1-8.

Hernández Díaz, I., Galizia, F., Coto, O., & Donati, E. R. (2009). Improvement in metal recovery from laterite tailings by bioleaching. In *Advanced Materials Research* (Vol. 71, pp. 489-492). Trans Tech Publications Ltd.

Hiraishi, A. (2015). Acidisphaera. *Manual de Sistemática de Archaea y Bacteria de Bergey*, 1-5.



- Hoque, M. E., & Philip, O. J. (2011). Biotechnological recovery of heavy metals from secondary sources An overview. *Materials Science and Engineering: C*, 31(2), 57-66.
- Hong, C., Si, Y., Xing, Y., & Li, Y. (2015). Illumina MiSeq sequencing investigation on the contrasting soil bacterial community structures in different iron mining areas. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(14), 10788-10799.
- Horn, S., Gunn, A. G., Petavratzi, E., Shaw, R., Eilu, P., Törmänen, T., ... & Wall, F. (2020). Cobalt resources in Europe and the potential for new discoveries. *Ore Geology Reviews*, 103915.
- Horikoshi, S., & Serpone, N. (Eds.). (2013). *Microwaves in nanoparticle synthesis: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
- Huang, B., and Wang, J. (2019). Bio-hydrometallurgically treatment of spent Lithium-ion batteries. In *Recycling of spent Lithium-ion batteries* (pp. 85-92). Springer, Cham.
- Hussain, I., Singh, N. B., Singh, A., Singh, H., & Singh, S. C. (2016). Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *Biotechnology letters*, 38(4), 545-560.
- Isildar, A., van de Vossenberg, J., Rene, E. R., van Hullebusch, E. D., & Lens, P. N. (2017). Biorecovery of metals from electronic waste. In *Sustainable Heavy Metal Remediation* (pp. 241-278). Springer, Cham.
- Isildar, A. (2018). *Metal Recovery from Electronic Waste: Biological Versus Chemical Leaching for Recovery of Copper and Gold*. CRC press.
- Jadhav, U. U., and Hocheng, H. (2012). A review of recovery of metals from industrial waste. *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering*, 54(2), 159-167.
- Jafari, M., Golzadeh, M., Shafaei, SZ, Abdollahi, H., Gharabaghi, M. y Chehreh Chelgani, S. (2019). Efectos de los espumantes de flotación convencionales sobre la población de microorganismos mesófilos en diferentes cultivos. *Procesos*, 7 (10), 653.
- Jamieson, H. E., Walker, S. R., and Parsons, M. B. (2015). Mineralogical characterization of mine waste. *Applied Geochemistry*, 57, 85-105.
- Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H., & Kalaskar, M. G. (2019). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 53, 101174.

Johnson, D. B. (2014). Biomining biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials. *Current opinion in biotechnology*, 30, 24-31.

Jones, G. C., Van Hille, R. P., & Harrison, S. T. L. (2013). Reactive oxygen species generated in the presence of fine pyrite particles and its implication in thermophilic mineral bioleaching. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(6), 2735-2742.

Joulian, C., Fonti, V., Chapron, S., Bryan, C. G., & Guezennec, A. G. (2020). Bioleaching of pyritic coal wastes: bioprospecting and efficiency of selected consortia. *Research in microbiology*, 171(7), 260-270.

Kainz, Q. M., Fernandes, S., Eichenseer, C. M., Besostri, F., Körner, H., Müller, R., & Reiser, O. (2015). Synthesis of functionalized, dispersible carbon-coated cobalt nanoparticles for potential biomedical applications. *Faraday discussions*, 175, 27-40.

Kang, D., Jacquiod, S., Herschend, J., Wei, S., Nesme, J., and Sorensen, S. J. (2020). Construction of simplified microbial consortia to degrade recalcitrant materials based on enrichment and dilution-to-extinction cultures. *Frontiers in microbiology*, 10, 3010.

Kang, J., Senanayake, G., Sohn, J., & Shin, S. M. (2010). Recovery of cobalt sulfate from spent lithium ion batteries by reductive leaching and solvent extraction with Cyanex 272. *Hydrometallurgy*, 100(3-4), 168-171.

Karimi-Maleh, H., Kumar, B. G., Rajendran, S., Qin, J., Vadivel, S., Durgalakshmi, D., and Karimi, F. (2020). Tuning of metal oxides photocatalytic performance using Ag nanoparticles integration. *Journal of Molecular Liquids*, 314, 113588.

Kaur, A., & Chauhan, R. P. (2014). Effect of gamma irradiation on electrical and structural properties of Zn nanowires. *Radiation Physics and Chemistry*, 100, 59-64.

Kefeni, K. K., Msagati, T. A., and Mamba, B. B. (2017). Acid mine drainage: Prevention, treatment options, and resource recovery: A review. *Journal of Cleaner Production*, 151, 475-493.

Kchouk, M., Gibrat, J. F., & Elloumi, M. (2017). Generations of sequencing technologies: from first to next generation. *Biology and Medicine*, 9(3).

Kelly, D. P., & Wood, A. P. (2000). Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and

- Thermithiobacillus gen. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 50(2), 511-516.
- Kelly, D. P., & Wood, A. P. (2015). Acidithiobacillus. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-5.
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), 908-931.
- Khulbe, K. C., and Matsuura, T. (2018). Removal of heavy metals and pollutants by membrane adsorption techniques. *Applied water science*, 8(1), 1-30.
- Knecht, M. R., García-Martínez, J. C., & Crooks, R. M. (2006). Synthesis, characterization, and magnetic properties of dendrimer-encapsulated nickel nanoparticles containing < 150 atoms. *Chemistry of Materials*, 18(21), 5039-5044.
- Kossoff, D., Dubbin, W. E., Alfredsson, M., Edwards, S. J., Macklin, M. G., and Hudson-Edwards, K. A. (2014). Mine tailings dams: characteristics, failure, environmental impacts, and remediation. *Applied Geochemistry*, 51, 229-245.
- Kreyling, W. G., Semmler-Behnke, M., & Chaudhry, Q. (2010). A complementary definition of nanomaterial. *Nano today*, 5(3), 165-168.
- Kuever, J., Rainey, F. A., & Widdel, F. (2015). Desulfomicrobiaceae fam. nov. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-1.
- Lade, B. D., & Shanware, A. S. (2020). Phytonanofabrication: methodology and factors affecting biosynthesis of nanoparticles. In *Smart Nanosystems for Biomedicine, Optoelectronics and Catalysis*. IntechOpen.
- Le, M. N., and Lee, M. S. (2021). A review on hydrometallurgical processes for the recovery of valuable metals from spent catalysts and life cycle analysis perspective. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, 42(5), 335-354.
- Liang, X., & Gadd, G. M. (2017). Metal and metalloid biorecovery using fungi. *Microbial biotechnology*, 10(5), 1199-1205.
- Li, Q., Liu, D., Jia, Z., Csetenyi, L., & Gadd, G. M. (2016). Fungal biomineralization of manganese as a novel source of electrochemical materials. *Current Biology*, 26(7), 950-955.

- Li, Y., Perederiy, I., and Papangelakis, V. G. (2008). Cleaning of waste smelter slags and recovery of valuable metals by pressure oxidative leaching. *Journal of Hazardous Materials*, 152(2), 607-615.
- Liu, J. S., Xie, X. H., Xiao, S. M., Wang, X. M., Zhao, W. J., & Tian, Z. L. (2007). Isolation of *Leptospirillum ferriphilum* by single-layered solid medium. *Journal of Central South University of Technology*, 14(4), 467-473.
- Loo, Y. Y., Chieng, B. W., Nishibuchi, M., & Radu, S. (2012). Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia sinensis*. *International journal of nanomedicine*, 7, 4263.
- Lottermoser B. (2010). Mine wastes: characterization, treatment and environmental impacts. Springer, Berlín. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-12419-8>
- Lukanov, P., Anuganti, V. K., Krupskaya, Y., Galibert, A. M., Soula, B., Tilmaciu, C., ... & Flahaut, E. (2011). CCVD Synthesis of Carbon-Encapsulated Cobalt Nanoparticles for Biomedical Applications. *Advanced functional materials*, 21(18), 3583-3588.
- Lünsmann, V., Kappelmeyer, U., Benndorf, R., Martinez-Lavanchy, P. M., Taubert, A., Adrian, L., ... & Jehmlich, N. (2016). In situ p roteoin-SIP highlights Burkholderiaceae as key players degrading toluene by para ring hydroxylation in a constructed wetland model. *Environmental microbiology*, 18(4), 1176-1186.
- Lutfullin, M. T., Lutfullina, G. F., Pudova, D. S., Akosah, Y. A., Shagimardanova, E. I., Vologin, S. G., ... & Mardanov, A. M. (2022). Identification, characterization, and genome sequencing of *Brevibacterium sediminis* MG-1 isolate with growth-promoting properties. *3 Biotech*, 12(11), 326.
- Mäkinen, J., Salo, M., Khoshkhoo, M., Sundkvist, J. E., & Kinnunen, P. (2020). Bioleaching of cobalt from sulfide mining tailings; a mini-pilot study. *Hydrometallurgy*, 196, 105418.
- Malekian, H., Salehi, M., & Biria, D. (2019). Investigation of platinum recovery from a spent refinery catalyst with a hybrid of oxalic acid produced by *Aspergillus niger* and mineral acids. *Waste Management*, 85, 264-271.
- Manzetti, S., & Mariasiu, F. (2015). Electric vehicle battery technologies: From present state to future systems. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 51, 1004-1012.
- Marcincakova, R., Kadukova, J., Mrazikova, A., Velgosova, O., Luptakova, A., & Ubaldini, S. (2016). Metal bioleaching from spent lithium-ion batteries using acidophilic bacterial strains. *Inżynieria Mineralna*, 17(1), 117-120.

Meshram, P., Pandey, B. D., & Mankhand, T. R. (2014). Extraction of lithium from primary and secondary sources by pre-treatment, leaching and separation: A comprehensive review. *Hydrometallurgy*, 150, 192-208.

Metzker, M. L. (2005). Emerging technologies in DNA sequencing. *Genome research*, 15(12), 1767-1776.

Mishra, V. K., and Tripathi, B. D. (2008). Concurrent removal and accumulation of heavy metals by the three aquatic macrophytes. *Bioresource technology*, 99(15), 7091-7097.

Mohammadizadeh, M., Pourabbas, B., Mahmoodian, M., Foroutani, K., & Fallahian, M. (2014). Facile and rapid production of conductive flexible films by deposition of polythiophene nanoparticles on transparent poly (ethyleneterephthalate): Electrical and morphological properties. *Materials science in semiconductor processing*, 20, 74-83.

Moncur, M. C., Jambor, J. L., Ptacek, C. J., & Blowes, D. W. (2009). Mine drainage from the weathering of sulfide minerals and magnetite. *Applied Geochemistry*, 24(12), 2362-2373.

Muhadesi, J. B., Huang, Y., Wang, B. J., Jiang, C. Y., & Liu, S. J. (2019). Acidibrevibacterium fodinaquatile gen. nov., sp. nov., isolated from acidic mine drainage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(10), 3248-3255.

Muradov, M. B., Balayeva, O. O., Azizov, A. A., Maharramov, A. M., Qahramanli, L. R., Eyvazova, G. M., & Aghamaliyev, Z. A. (2018). Synthesis and characterization of cobalt sulfide nanoparticles by sonochemical method. *Infrared Physics & Technology*, 89, 255-262.

Muravyov, M. (2019). Bioprocessing of mine waste: effects of process conditions. *Chemical Papers*, 73(12), 3075-3083.

Muravyov, M. I., Fomchenko, N. V., Usoltsev, A. V., Vasilyev, E. A., and Kondrat'eva, T. F. (2012). Leaching of copper and zinc from copper converter slag flotation tailings using H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and biologically generated Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>. *Hydrometallurgy*, 119, 40-46.

Mushinga-Enkono, A. (2012). Recuperación de cobalto de los escombros lateríticos por lixiviación ácida. *Ciencia & Futuro*, 2(4), 1-13.

Nansai, K., Nakajima, K., Kagawa, S., Kondo, Y., Suh, S., Shigetomi, Y., & Oshita, Y. (2014). Global flows of critical metals necessary for low-carbon technologies: the case of neodymium, cobalt, and platinum. *Environmental science & technology*, 48(3), 1391-1400.

- Neale, J., Seppälä, J., Laukka, A., van Aswegen, P., Barnett, S., & Gericke, M. (2017). The MONDO minerals nickel sulfide bioleach project: from test work to early plant operation. In *Solid State Phenomena* (Vol. 262, pp. 28-32). Trans Tech Publications Ltd.
- Ňancuqueo, I., Rowe, O. F., Hedrich, S., & Johnson, D. B. (2016). Solid and liquid media for isolating and cultivating acidophilic and acid-tolerant sulfate-reducing bacteria. *FEMS microbiology letters*, 363(10), fnw083.
- Olson, G. J., Brierley, J. A., & Brierley, C. L. (2003). Bioleaching review part B. *Applied microbiology and biotechnology*, 63(3), 249-257.
- Osuna, J., de Caro, D., Amiens, C., Chaudret, B., Snoeck, E., Respaud, M., ... & Fert, A. (1996). Synthesis, characterization, and magnetic properties of cobalt nanoparticles from an organometallic precursor. *The Journal of Physical Chemistry*, 100(35), 14571-14574.
- Panyushkina, A. E., Babenko, V. V., Nikitina, A. S., Selezneva, O. V., Tsaplina, I. A., Letarova, M. A., ... & Letarov, A. V. (2019). Sulfobacillus thermotolerans: New insights into resistance and metabolic capacities of acidophilic chemolithotrophs. *Scientific reports*, 9(1), 1-16.
- Panyushkina, A. E., Tsaplina, I. A., Kondrat'Eva, T. F., Belyi, A. V., & Bulaev, A. G. (2018). Physiological and morphological characteristics of acidophilic bacteria Leptospirillum ferriphilum and Acidithiobacillus thiooxidans, members of a chemolithotrophic microbial consortium. *Microbiology*, 87(3), 326-338.
- Panyushkina, A., Matyushkina, D., & Pobeguts, O. (2020). Understanding stress response to high-arsenic gold-bearing sulfide concentrate in extremely metal-resistant Acidophile Sulfobacillus thermotolerans. *Microorganisms*, 8(7), 1076.
- Panyushkina, A., & Muravyov, M. (2023). New Features of Acidophilic Bacteria of the Genus Sulfobacillus: Polysaccharide Biosynthesis and Degradation Pathways. *Minerals*, 13(2), 255.
- Parolo, C., Merkoçi, A. (2013). based nanobiosensors for diagnostics. *Chemical Society Reviews*, 42(2), 450-457.
- Parveen, K., Banse, V., & Ledwani, L. (2016, April). Green synthesis of nanoparticles: their advantages and disadvantages. In *AIP conference proceedings* (Vol. 1724, No. 1, p. 020048). AIP Publishing LLC.
- Peng, W., Li, X., Xiao, S., & Fan, W. (2018). Review of remediation technologies for sediments contaminated by heavy metals. *Journal of soils and sediments*, 18(4), 1701-1719.

- Perederiy, I., and Papangelakis, V. G. (2017). Why amorphous FeO-SiO<sub>2</sub> slags do not acid-leach at high temperatures. *Journal of hazardous materials*, 321, 737-744.
- Rane, A. V., Kanny, K., Abitha, V. K., & Thomas, S. (2018). Methods for synthesis of nanoparticles and fabrication of nanocomposites. In *Synthesis of inorganic nanomaterials* (pp. 121-139). Woodhead Publishing.
- Safarzadeh, M. S., Dhawan, N., Birinci, M., & Moradkhani, D. (2011). Reductive leaching of cobalt from zinc plant purification residues. *Hydrometallurgy*, 106(1-2), 51-57.
- Salman, S. A., Usami, T., Kuroda, K., & Okido, M. (2014). Synthesis and characterization of cobalt nanoparticles using hydrazine and citric acid. *Journal of Nanotechnology*, 2014.
- Schröfel, A., Kratošová, G., Šafařík, I., Šafaříková, M., Raška, I., & Šor, L. M. (2014). Applications of biosynthesized metallic nanoparticles—a review. *Acta biomaterialia*, 10(10), 4023-4042.
- Schulz, J., De Young, H., Seal, R., & Bradley, C. (2018). *Critical Mineral Resources of the United States: Economic and Environmental Geology and Prospects for Future Supply*. Geological Survey.
- Seabra, A. B., & Duran, N. (2015). Nanotoxicology of metal oxide nanoparticles. *Metals*, 5(2), 934-975.
- Serena, P. (2010). *La nanotecnología*. CSIC. Catarata. Madrid.
- SERNAGEOMIN. Atlas de Depósitos de Relaves de Chile. Recuperado de: <http://relaves.sernageomin.cl/#/home>. 2015.
- Shedd, K. B., McCullough, E. A., & Bleiwas, D. I. (2017). Global trends affecting the supply security of cobalt. *Mining engineering*, 69(12), 37-42.
- Shin, N. C., Lee, Y. H., Shin, Y. H., Kim, J., & Lee, Y. W. (2010). Synthesis of cobalt nanoparticles in supercritical methanol. *Materials Chemistry and Physics*, 124(1), 140-144.
- Singh, P., Kim, Y. J., Zhang, D., & Yang, D. C. (2016). Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in biotechnology*, 34(7), 588-599.

Singh, V. K., Singh, A. L., Singh, R., & Kumar, A. (2018). Iron oxidizing bacteria: insights on diversity, mechanism of iron oxidation and role in management of metal pollution. *Environ. Sustain.* 1, 221–231.

Slatko, B. E., Gardner, A. F., & Ausubel, F. M. (2018). Overview of next-generation sequencing technologies. *Current protocols in molecular biology*, 122(1), e59.

Srichandan, H., Mohapatra, R. K., Parhi, P. K., and Mishra, S. (2019). Bioleaching approach for extraction of metal values from secondary solid wastes: a critical review. *Hydrometallurgy*, 189, 105122.

Song, Y., Modrow, H., Henry, L. L., Saw, C. K., Doomes, E. E., Palshin, V., ... & Kumar, C. S. (2006). Microfluidic synthesis of cobalt nanoparticles. *Chemistry of materials*, 18(12), 2817-2827.

Spa, d. (2020). Cobalto: ¿Dónde se encuentra este mineral en Chile? ElectroMov. Recuperado de: <http://www.electromov.cl/2019/04/15/cobalto-donde-se-encuentra-este-mineral-en-chile/>.

Garside, M. (2021). Cobalt – mine production by major countries 2010-2020. Statista. Recuperado de: <https://www.statista.com/statistics/264928/cobalt-mine-production-by-country/>

Swamy, K. M., y Narayana, K. L. (2001). Intensification of leaching process by dual-frequency ultrasound. *Ultrasonics sonochemistry*, 8(4), 341-346.

Tang, K., Baskaran, V., & Nemati, M. (2009). Bacteria of the sulphur cycle: an overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochemical Engineering Journal*, 44(1), 73-94.

Tao, H., & Dongwei, L. (2014). Presentation on mechanisms and applications of chalcopyrite and pyrite bioleaching in biohydrometallurgy a presentation. *Biotechnology Reports*, 4, 107-119.

Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., & Parikh, R. Y. (2010). Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*, 6(2), 257-262.

Townley, B., Díaz, A., & Luca, R. (2017). Recursos minerales por cobalto en Chile: potencial de exploración y explotación minera. *Corporación de Fomento de la Producción (CORFO)/Comité de Minería No Metálica/Servicio Nacional de Geología y Minería*.



Mathieu, L. (2019). Electric surge: Carmakers' electric car plans across Europe 2019–2025. *European Federation for Transport and Environment AISBL*.

Okibe, N., Gericke, M., Hallberg, K. B., & Johnson, D. B. (2003). Enumeration and characterization of acidophilic microorganisms isolated from a pilot plant stirred-tank bioleaching operation. *Applied and environmental microbiology*, 69(4), 1936-1943.

Trofa, M., D'Avino, G., Fabiano, B., & Vocciante, M. (2020). Nanoparticles synthesis in wet-operating stirred media: Investigation on the grinding efficiency. *Materials*, 13(19), 4281.

Tu, Z., Guo, C., Zhang, T., Lu, G., Wan, J., Liao, C., & Dang, Z. (2017). Investigation of intermediate sulfur species during pyrite oxidation in the presence and absence of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*, 167, 58-65.

Turismo Virtual. (2020). Mapa turístico de la III Región de Atacama. Recuperado de: <https://www.turismovirtual.cl/iii/iii.html>

Valdés, J., Ossandon, F., Quatrini, R., Dopson, M., & Holmes, D. S. (2011). Draft genome sequence of the extremely acidophilic biomining bacterium *Acidithiobacillus thiooxidans* ATCC 19377 provides insights into the evolution of the *Acidithiobacillus* genus.

Valix, M., Usai, F., & Malik, R. (2001). Fungal bio-leaching of low grade laterite ores. *Minerals Engineering*, 14(2), 197-203.

Ventra, M., Evoy, S., Heflin, J. (Eds.). (2006). Introduction to nanoscale science and technology. Springer Science & Business Media.

Verma, M., Kumar, V., & Katoch, A. (2018). Sputtering based synthesis of CuO nanoparticles and their structural, thermal and optical studies. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 76, 55-60.

Vijayanandan, A. S., & Balakrishnan, R. M. (2018). Biosynthesis of cobalt oxide nanoparticles using endophytic fungus *Aspergillus nidulans*. *Journal of environmental management*, 218, 442-450.

Walters, W., Hyde, E. R., Berg-Lyons, D., Ackermann, G., Humphrey, G., Parada, A., ... & Knight, R. (2016). Improved bacterial 16S rRNA gene (V4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys. *Msystems*, 1(1), e00009-15.

Wang, L., Sun, Y., Li, Z., Wu, A., & Wei, G. (2016). Bottom-up synthesis and sensor applications of biomimetic nanostructures. *Materials*, 9(1), 53.

Wanitschke, A., & Hoffmann, S. (2020). ¿Are battery electric vehicles the future? An uncertainty comparison with hydrogen and combustion engines. *Environmental Innovation and Societal Transitions*, 35, 509-523

Wiecka, Z., Rzelewska-Piekut, M., Cierpiszewski, R., Staszak, K., & Regel-Rosocka, M. (2020). Hydrometallurgical recovery of cobalt (II) from spent industrial catalysts. *Catalysts*, 10(1), 61.

Wiegel, J. (2015). Clostridiaceae. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-5.

Xia, L., Yang, Y., He, H., Liang, C. L., Zhao, X. J., Zheng, L., & Qiu, G. Z. (2010). Investigation of the sulfur speciation during chalcopyrite leaching by moderate thermophile *Sulfobacillus* thermosulfidooxidans. *International Journal of Mineral Processing*, 94(1-2), 52-57.

Xi, X., Nie, Z., Xu, K., Ma, L., Chen, G., Zhang, X., & Zuo, T. (2013). Structure and properties of secondary cobalt powder. *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials*, 41, 90-93.

Yadav, A., Kon, K., Kratosova, G., Duran, N., Ingle, A. P., & Rai, M. (2015). Fungi as an efficient mycosystem for the synthesis of metal nanoparticles: progress and key aspects of research. *Biotechnology letters*, 37(11), 2099-2120.

Yin, H., Zhang, X., Li, X., He, Z., Liang, Y., Guo, X., ... & Liu, X. (2014). Whole-genome sequencing reveals novel insights into sulfur oxidation in the extremophile *Acidithiobacillus* thiooxidans. *BMC microbiology*, 14(1), 1-14.

Zhang, R., Hedrich, S., Römer, F., Goldmann, D., & Schippers, A. (2020). Bioleaching of cobalt from Cu/Co-rich sulfidic mine tailings from the polymetallic Rammelsberg mine, Germany. *Hydrometallurgy*, 197, 105443.

Zhang, X., Feng, X., Tao, J., Ma, L., Xiao, Y., Liang, Y., ... & Yin, H. (2016). Comparative genomics of the extreme acidophile *Acidithiobacillus* thiooxidans reveals intraspecific divergence and niche adaptation—international *journal of molecular sciences*, 17(8), 1355.

Zhang, R., & Schippers, A. (2022). Stirred-tank bioleaching of copper and cobalt from mine tailings in Chile. *Minerals Engineering*, 180, 107514.

Zhu, W., Bartos, P. J., & Porro, A. (2004). Application of nanotechnology in construction. *Materials and Structures*, 37(9), 649-658.

Ziyadanogullari, B. (2000). Recovery of copper and cobalt from concentrate and converter slag. *Separation Science and Technology*, 35(12), 1963-1971.

## CAPÍTULO 8

### ANEXOS

**Tabla 8. Composición mineralógica.**

<b>Especie</b>	<b>Fórmula</b>	<b>Mineral</b>
Calcopirita	$\text{CuFeS}_2$	1.49
Calcosina	$\text{Cu}_2\text{S}$	0.19
Covelina	$\text{CuS}$	0.18
Pirrotina	$\text{Fe}(1-x)\text{S}$	0.07
Pirita	$\text{FeS}_2$	29.12
Magnetita	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	23.26
Hematita	$\text{Fe}_2\text{O}_3$	0.85
Limonita	$\text{FeO}(\text{OH}) \cdot n\text{H}_2\text{O}$	0.36
Ganga		44.47
Total		100.00