



FACULTAD DE INGENIERÍA

Carrera de Ingeniería de Minas

“INFLUENCIA DEL TIEMPO Y LA TEMPERATURA EN LA RECUPERACIÓN DE MANGANESO POR BIOLIXIVIACIÓN DE UN MINERAL DE NAMORA – CAJAMARCA, 2021”

Tesis para optar el título profesional de:

Ingeniero de Minas

Autores:

Edwin Manuel Costales Saucedo

Alder Guzmán Ortiz Lucano

Asesor:

Ing. Víctor Eduardo Alvarez León

Cajamarca - Perú

2021

DEDICATORIA

A mis padres por darme todas las facilidades para poder superarme y por ser mi sustento en toda la etapa de mi formación profesional, personal y moral, ya que gracias a los principios y valores que me inculcaron he podido salir adelante.

Alder

A mis padres Gerónimo y María que por su apoyo desde que comencé en mis estudios en todo el transcurso de mi vida yo pude seguir adelante, además la fe y confianza que depositaron en mi logró llegar hasta este punto y continuare mejorando siempre dedicando a ellos todos los logros futuros.

Edwin

AGRADECIMIENTO

A Dios por darnos sabiduría, esperanza y salud en estos tiempos, a mi familia por el apoyo constante, a todos mis docentes quienes me brindaron su apoyo y enseñanza en mis años de estudiante, al ingeniero Víctor Eduardo Alvarez León por su apoyo en el desarrollo de esta tesis y a todas las personas quienes brindaron su ayuda en la presente investigación.

Alder

A Dios por darme la vida, la salud y sabiduría para poder cumplir con este gran paso para cumplir las metas y sueños que trace en mi vida, mis padres, mis hermanos, gracias por estar siempre para mí, sin su apoyo incondicional no hubiera podido lograr.

A mis maestros y amigos que en transcurso de toda mi vida universitaria recibí motivación de su parte y así poder continuar hacia delante en adición a ellos a mi asesor el ingeniero Víctor Eduardo Alvarez León que sin sus consejos este trabajo de investigación no hubiese tenido un buen desarrollo de la misma.

Edwin

Tabla de contenidos

DEDICATORIA.....	2
AGRADECIMIENTO.....	3
ÍNDICE DE TABLAS	5
ÍNDICE DE FIGURAS	6
RESUMEN.....	7
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	8
1.1. Realidad problemática.....	8
1.2. Formulación del problema.....	19
1.3. Objetivos	19
1.3.1. <i>Objetivo general</i>	19
1.3.2. <i>Objetivos específicos</i>	19
1.4. Hipótesis.....	20
1.4.1. <i>Hipótesis general</i>	20
1.4.2. <i>Hipótesis específicas</i>	20
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA	22
2.1. Tipo de investigación	22
2.2. Población y muestra.....	23
2.3. Técnicas e instrumentos de recolección y análisis de datos	23
2.4. Procedimiento	24
2.5. Aspectos éticos.....	28
CAPÍTULO III. RESULTADOS	29
CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	46
REFERENCIAS.....	51
ANEXOS.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Propiedades Físico - Químicas del Manganeso.....	11
Tabla 2: Minerales principales del Manganeso	11
Tabla 3: Biodegradación Bacteriana del dióxido de manganeso en cultivo microaeróbico estático.....	34
Tabla 4: Datos de laboratorio - Prueba de botellas.....	35
Tabla 5: Comportamiento de la lixiviación del reactor agitado en condiciones microaeróbicas	40
Tabla 6: Efecto de la pirolusita sobre la lixiviación bacteriana de óxidos de manganeso ..	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Localización del mineral de manganeso- Namora.....	25
Figura 2: Análisis de Laboratorio.....	29
Figura 3: Gráfico comparativo de tasa y rendimiento entre <i>E. Cloacae</i> y <i>E. Agglomerans</i>	34
Figura 4: Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 01	36
Figura 5: Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 02	36
Figura 6: Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 03	37
Figura 7: Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 04	37
Figura 8: Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 05	38
Figura 9: Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 06	38
Figura 10: Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 07	39
Figura 11: Curvas de Lixiviación según Temperatura	45

RESUMEN

En la tesis que se presenta a continuación, el objetivo general fue determinar la influencia del tiempo y la temperatura en la recuperación de manganeso por biolixiviación de un mineral de Namora – Cajamarca, 2021; para lo cual se ha considerado el proceso de biolixiviación con bacterias como una propuesta alternativa para la recuperación de manganeso, a partir de muestras representativas obtenidas de afloramientos, alteraciones y cambios litológicos referidos a diferentes mantos de mineralización. La lixiviación microbiana de óxidos de manganeso, ha sido objeto de estudios de laboratorio, realizados durante 7 días, las muestras obtenidas de pirolusita contienen entre 17% al 31% de Mn, con presencia de caolinita, goethita y cuarzo. Se requirió el contacto bacteriano con el mineral para una lixiviación óptima. La presencia de pirolusita en el conjunto mineral redujo ligeramente las tasas de lixiviación. Concluyendo que, las tasas de lixiviación alcanzaron los 3 gramos de Mn^{2+} litro/día (hasta 20 gramos de Mn^{2+} /kilogramo/día). Las tasas de lixiviación se incrementaron con el aumento de las concentraciones de azúcar (hasta un 15% de melaza (p/v)) pero los rendimientos de Mn^{2+} / nutriente disminuyeron. Las especies de Enterobacter fueron los microbios ejecutivos a 30° C, mientras que un bastón Gram positivo no identificado fue dominante a 70° C. Las mejores tasas de lixiviación se obtuvieron a 50-60 ° C.

Palabras clave: Biolixiviación, bacterias, enterobacter, melaza, colonias.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad problemática

Actualmente, las entidades gubernamentales a nivel mundial han tomado mayor interés respecto a la contaminación ambiental, debido a las influencias negativas de la polución en la agricultura y en la salud humana. Dentro de los diferentes tipos de contaminación ambiental se encuentran las derivadas de las actividades minero metalúrgicas que, como resultado de sus diversas operaciones, generan contaminantes. Estos pueden ser efluentes líquidos, sólidos y/o gaseosos, que necesariamente requieren de la aplicación de técnicas de tratamiento antes de ser devueltos a la naturaleza. Asimismo, es importante mencionar que, dentro de los procesos mineros metalúrgicos, las principales fuentes de contaminación ambiental son las aguas de mina, los efluentes de los procesos metalúrgicos, y los drenajes de los depósitos de relaves y de los desmontes (Osinergmin, 2016).

Existen diferentes métodos que permiten proteger nuestra salud y medio ambiente, ya que es necesario tomar medidas adecuadas para controlar la contaminación. Entre ellos, uno de los métodos que está siendo utilizado con éxito para procesar los efluentes contaminados es el tratamiento biológico (biolixiviación) seguido de una neutralización. Esta tecnología ha demostrado tener costos más baratos que otros procesos. En el trabajo de investigación que se presenta se ha considerado el proceso de biolixiviación con bacterias como una propuesta alternativa para la recuperación de manganeso, a partir de muestras representativas obtenidas de afloramientos, alteraciones y cambios litológicos referidos a diferentes mantos de mineralización ubicados en el distrito de Namora, provincia de Cajamarca.

La lixiviación microbiana de óxidos de manganeso, ha sido objeto de estudios de laboratorio, realizados durante 7 días, las muestras obtenidas contenían entre 17% al 31% de Mn, compuestas de caolinita, goethita y cuarzo. Por lo cual se requirió un proceso de bajo costo que puede formar al menos 3-6 gramos de Mn^{2+} /litro. El ion manganeso disuelto podría luego procesarse más para formar compuestos de mayor calidad, como un elemento en fertilizantes agrícolas o como óxidos de manganeso.

Las bacterias del género *Enterobacter* son bacilos gram negativos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, ampliamente distribuidos en la naturaleza. Se les puede encontrar en el suelo, agua y como parte del microbiota de animales, insectos y tracto gastrointestinal humano. Incluye 21 especies dentro de las cuales se define el complejo *Enterobacter cloacae*. Fue descrito en 1890 como *Bacillus cloacae*, sufriendo varios cambios taxonómicos hasta ser nombrado como *E. cloacae* por *Hormaeche* y Edwards en 1960. La relación dentro de este complejo se establece a partir de la hibridación ADN-ADN de genomas completos, pruebas bioquímicas y por la secuenciación del 16S ARNr y del gen HSP60 (Silva y Martínez, 2012).

Las bacterias son microorganismos que se reproducen por fisión binaria, y se presentan en tres formas: esféricas o cocos, alargadas o bacilos y curvadas o espirilos (Vargas & Kuno, 2014). La mayor parte de las bacterias son visibles como colonias rápidamente cuando se las siembra en medios de cultivo sólidos. Para que esto suceda, requieren de una incubación de aproximadamente 24 horas en una temperatura que favorezca su crecimiento (Pérez & Mota, 2006).

El aspecto de cada colonia suele ser constante para cada género y especie bacteriana, es por ello que se considera los siguientes aspectos (Granados & Villaverde, 2003): tamaño (mediano 1 a 2 mm, grande 4 a 6 mm) extendidas de tal manera que invaden toda la superficie del medio sólido y puntiformes (0.5 mm de diámetro aproximadamente); forma (puntiforme, circular, rizoide, filamentosa, irregular, fusiforme); elevación (plana, convexa, umbilicada, acuminada, plano – convexa, papilada); bordes (entero, ondulado, filamentoso, rizoide, lobulado, espiculado); transparencia y coloración (es común que las colonias tengan algún tipo de color debido a la producción de pigmentos), superficie (lisa, rugosa, mucosa, seca), consistencia de la colonia (duras, viscosas, mucosas, secas, muy secas, cremosas).

El manganeso es el elemento químico con el número atómico 25. Situado en el grupo VII de la tabla periódica de los elementos y se simboliza como “Mn”. A menudo se encuentra en combinación con el hierro en estado sólido. Como elemento libre, el manganeso es un metal con aleación de metales industriales con importantes usos; uno de ellos es en los aceros (contiene cerca del 12% Mn y 1.2% C) que combina alta dureza y ductilidad con una gran capacidad de endurecimiento por deformación y una buena resistencia al desgaste. El fosfatado de manganeso se utiliza como tratamiento para la prevención de la oxidación y corrosión del acero. Dependiendo de su estado de oxidación, los iones de manganeso tienen colores diferentes y se utilizan industrialmente como pigmentos. Los permanganatos alcalinos y de metales alcalinotérreos son oxidantes poderosos. El dióxido de manganeso se utiliza como cátodo en las pilas alcalinas (Lugo, 2017).

Tabla 1:

Propiedades Físico - Químicas del Manganeso

PROPIEDADES	VALORES
Numero atómico	25
Valencia	2, 3, 4, 6 y 7
Estado de oxidación	+2
Electronegatividad	1.5
Radio covalente (Å)	1.39
Radio iónico (Å)	0.80
Radio atómico (Å)	1.26
Configuración electrónica	[Ar] 3d ⁵ 4s ²
Potencial primero de ionización (eV)	7.46
Masa atómica (g/mol)	54.938
Estado ordinario	Solido (generalmente no magnético)
Densidad (g/ml)	7.43
Punto de ebullición (°C)	2,150
Punto de fusión (°C)	1,245
Entalpia de vaporización	226 KJ/mol
Entalpia de fusión	12.05 KJ/mol

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2:

Minerales principales del Manganeso

NOMBRE	FÓRMULA	CARACTERÍSTICA
Pirolusita	Mn ⁺⁴ O ₂	Color: Gris metalizado Raya: negra Lustre: Submetálico

Manganita	$Mn^{+3}O(OH)$	Color: negro grisáceo Raya: pardo oscuro Lustre: Submetálico
Ramsdellita	$Mn^{+4}O_2$	Color: gris acero Raya: negro mate Lustre: metálico
Hausmannita	$Mn^{+2}Mn^{+3}2O_4$	Color: negro marrón Raya: marrón oscuro Lustre: Submetálico
Bixbyita	$Mn^{+3}2O_3$	Color: negro Raya: negra Lustre: metálico
Rodocrosita	$MnCO_3$	Color: rojo de rosa Raya: blanca Lustre: vitro a nacarado
Alabandita	MnS	Color: negro-hiero Raya: verde oscura Lustre: Submetálico
Rodonita	$(Mn^{2+})SiO_3$	Color: rojo-carne Raya: blanca Lustre: vítreo-mate
Leucofenicita	$Mn_2(SiO_4)_3(OH)_2$	Color: rojo-marrón Raya: rosa claro a blanco Lustre: Vitreo
Espersatina	$Mn^{2+}_3Al_2(SiO_4)_3$	Color: naranja rojizo Raya: blanca Lustre: vitro
Serandita	$Na(Mn^{2+})_2Si_3O_8(OH)$	Color: rosa pálido Raya: blanca Lustre: vitreo

Fuente: Elaboración propia.

Entre las técnicas biológicas de recuperación de sitios contaminados por metales pesados que ha surgido en las últimas décadas es la biolixiviación; técnica que busca solubilizar de manera ex - situ, los metales pesados mediante el uso de microorganismos tanto hongos como bacterias. La biolixiviación está basada en la capacidad de los microorganismos para transformar compuestos sólidos en elementos solubles y extractables. Las ventajas de la tecnología de biolixiviación incluyen condiciones de reacción suaves, bajo consumo de energía, proceso simple, bajo impacto ambiental y es adecuado para el bajo grado de colas mineras, residuos y suelos contaminados (Deng et al, 2012).

Generalmente, los microorganismos están involucrados en la movilidad de los metales a través de su oxidación, reducción, acumulación y sus metabolitos durante la biolixiviación. Se han realizado estudios que especifican los mecanismos de biolixiviación según el tipo y especie de microorganismo. Por ejemplo, el mecanismo de biolixiviación de *A. niger*, *P. simplicissimum*, *P. purpurogenum* fue relacionada a la producción de metabolitos de bajo peso molecular, principalmente ácidos orgánicos tales como ácido glucónico, ácido pirúvico, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido málico y ácido succínico, pero es diferente que el mecanismo de *R. rubra*, *A. thiooxidans* y *A. ferrooxidans*. La biolixiviación del *R. rubra* fue relacionada a su actividad metabólica y a macromoléculas estructural de la capsula y pared celular. La biolixiviación del *A. thiooxidans* y *A. ferrooxidans* contribuyen a los mecanismos de “contacto” y “no contacto”. El mecanismo de “contacto” toma en cuenta que la mayoría de las células se adhieren a la superficie de los sustratos de biolixiviación. El mecanismo de “no contacto” está relacionado a las reacciones redox tales como la reducción del hierro (II) a la oxidación de Azufre (Midence y García, 2013).

Según Bayat (2011) se utilizan tres grupos de microorganismos utilizados para los procesos de lixiviación: bacterias autotróficas, bacterias heterotróficas y hongos. Por su parte, Gadd (2004) expresa la clasificación de la biolixiviación en función de los organismos heterótrofos y autótrofos.

Shinner & Klauser, (2005) hacen mención sobre las condiciones que influyen en los procesos de biolixiviación se incluyen diversos parámetros medibles como lo son: la cantidad de sustrato disponible, temperatura de ambiente para crecimiento de microorganismos, pH condicionante para los microorganismos, familia y género de microorganismos y las condiciones químicas-físicas del medio o muestra.

Según Midence y García (2013), la efectividad de la biolixiviación depende esencialmente de la eficiencia de los microorganismos y de la composición química del sólido. El máximo rendimiento de extracción de metal puede lograrse solamente cuando las condiciones de lixiviación corresponden con las condiciones óptimas de crecimiento de los microorganismos. Para ello, es necesario complementar el medio de cultivo con sales de amonio, fosfatos y magnesio. Un adecuado suministro de oxígeno es un requisito para el buen crecimiento y la mayor actividad lixivante de las bacterias. En el laboratorio esto puede lograrse por aireación o por agitación. También el ajuste del valor de pH correcto es una condición necesaria para el crecimiento de la cepa y para la solubilización de los metales. El pH en el proceso de biolixiviación depende de la capacidad tampón. La capacidad tampón es lentamente disminuida por la producción continua de ácido a partir de la oxidación de compuestos del azufre.

Según Unda (2020) en su trabajo de investigación titulado “: Aislamiento e identificación de bacterias nativas biodegradadoras de Cianuro y Arsénico presente en relaves mineros de oro”, el objetivo de esta investigación fue aislar e identificar bacterias nativas de los relaves mineros de oro de la Planta de Beneficio “Virgen de la Nube” del cantón Portovelo y determinar la concentración de inóculo bacteriano requerido para degradar Cianuro y Arsénico. Se recolectaron 3 muestras de relaves entre los meses de septiembre y octubre del 2019. La valoración y determinación de la biodegradación de los contaminantes y la concentración óptima de inóculo bacteriano se lo realizó a partir de la formulación de 3 estándares de McFarland en medios de cultivo controlados con el contaminante como sustrato limitante para el crecimiento, evaluando el crecimiento de la biomasa cada 24 horas durante 5 días. Concluyendo que los valores promedios obtenidos del análisis fisicoquímico de los relaves mineros fueron: pH de 7.35; conductividad eléctrica de 1791 $\mu\text{S}/\text{cm}$; concentración de Cianuro de 0.57 mg/kg; y, concentración de Arsénico de 1694.47 mg/kg. Se aislaron un total 32 colonias de bacterias, 15 cepas bacterianas resultaron degradadoras de Cianuro, de las cuales fueron identificadas 3 especies: *Burkholderia pseudomallei*, *Bacillus spp.*, *Bacillus sphaericus*; y, 17 cepas resultaron biodegradadoras de Arsénico de las cuales se identificaron 6 especies: *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas putida*, *Enterobacter agglomerans*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus coagulans*. Se determinó que las especies *Bacillus sphaericus* y *Burkholderia cepacia* presentaron la mayor capacidad de biodegradar Cianuro y Arsénico, respectivamente.

Rodríguez (2012), en su tesis denominada: “Lixiviación ácida de escombros lateríticos a presión Atmosférica”, el objetivo fue evaluar de forma preliminar la influencia de diferentes factores en la extracción del Ni, Co y Fe al lixiviar los escombros lateríticos

con ácido sulfúrico a presión atmosférica, utilizando melaza azucarera como agente reductor. Las corridas experimentales se efectuaron a escala de laboratorio, según un diseño factorial completo del tipo 2^n . Se estudiaron cinco factores: las relaciones en peso Acido/Mineral, Melaza/Mineral y Permanganato de potasio/Mineral, la relación Líquido/Sólido y el Tiempo de residencia del mineral. Se obtuvo un modelo estadístico – matemático que define la dependencia entre el Grado de Extracción de cada elemento objeto de estudio con respecto a cada factor estudiado y sus interacciones. Se comprobó que las extracciones de estos metales serán más elevadas mientras mayor sea la cantidad de ácido y de melaza, siendo negativa la presencia del oxidante permanganato de potasio. Las mejores extracciones del níquel y el cobalto oscilaron entre 86 y 90 %, las cuales se obtienen al cabo de 20 días de preparación del mineral para la lixiviación con una relación Acido/Mineral de 0,25 y Melaza/Mineral de 0,1. En estas condiciones se extrae aproximadamente el 90 % del hierro contenido en los escombros. Estos resultados abren la posibilidad de desarrollar una nueva forma para recuperar el níquel y el cobalto contenidos en los escombros lateríticos.

Estrada (2019) en su tesis denominada “Evaluación de la lixiviación bacteriana de minerales mixtos de la mina Utcush para la recuperación de cobre – Huánuco – 2018”, el objetivo principal fue, recuperar cobre contenido en los minerales mixtos de la mina Utcush- Huánuco, evaluando por el método de la lixiviación bacteriana. Concluyendo que la recuperación alcanzada de 65,3% de cobre a – 400 mallas es todavía baja, debe realizarse más pruebas para mejorar esta recuperación, aunque la teoría dice que las bacterias lixivian bien los sulfuros de cobre como calcosita, covelita y bornita, pero con la calcopirita tienen un comportamiento caprichoso, pero también como alternativa recomiendo que los minerales mixtos de cobre de la mina Utcush se debe

procesar haciendo una lixiviación acida de la fracción oxidada y luego una lixiviación bacteriana para recuperar el cobre de la fracción sulfurada, a ello debe adicionarse una evaluación económica preliminar del proyecto, que a su vez decidiría una mayor inversión en pruebas complementarias, específicamente útiles y propongo la lixiviación bacteriana en pilas y se diseñe las pilas de lixiviación.

Las condiciones óptimas de crecimiento de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* se sabe que es capaz de crecer en el rango de temperaturas de 25 a 45°C, estando su temperatura óptima probablemente alrededor de los 32 a 35°C. En cuanto a pH el *Thiobacillus ferrooxidans* crece en el amplio rango de 1 a 5, estando el óptimo alrededor de 2 a 4. Aparte del pH y temperatura, influyen grandemente en su cinética de crecimiento la composición de sales del medio, la concentración o presión parcial de CO₂, el tamaño de la partícula del mineral, la presencia de ciertos iones metálicos inhibidores y los surfactantes, también son factores influyentes en el proceso (Estrada, 2019).

Reyes, Lopez, Alvarado y Valencia (2016) en su investigación “Biolixiviación de Minerales Auríferos Refractarios de la Compañía Minera Sayapullo S.A.” utilizó el diseño experimental en el cual presenta dos mecanismos de biolixiviación o lixiviación bacteriana: directa, donde las bacterias *ferrooxidans* pueden lixiviar sulfuros metálicos directamente sin participación del sulfato férrico producido biológicamente y la indirecta, donde el sulfato férrico es un oxidante fuerte capaz de degradar y disolver una amplia variedad de minerales sulfurados, es decir depende de la regeneración biológica del sulfato férrico, es por ello que se aplica el método indirecto. En el desarrollo del experimento presenta las siguientes etapas: cianuración y/o thioureación

directa; y Biooxidación-lixiviación férrica seguido de cianuración y/o thioureación. En la parte Bioquímica presenta 2 biorreactores de lecho empacado air lift con una bomba de aire para el suministro del mismo en forma continua para cada una. En la lixiviación férrica, cianuración y/o thioureación se utilizó un sistema de agitación constituido por 2 agitadores. Se extrajo 10 muestras de 1 litro cada una de diferentes puntos de la Compañía Minera Sayapullo, se cultivó la muestra utilizando el medio 9k con 20% de muestra y 80% medio más sulfato ferroso de esta manera se podrá evaluar la oxidación del ferroso y la presencia de microorganismos. Se concluyó que las más altas extracciones de oro y plata se da cuando el mineral de cabeza es molido a 81% -m200 y con biooxidación tratado posteriormente por cianuración teniendo 65% y 73.22% de extracción respectivamente. Finalmente, la Biolixiviación o lixiviación bacteriana indirecta es factible aplicar a minerales auríferos refractarios, por lo que se propone una alternativa viable para el procesamiento de dichos minerales.

Según Álvarez (2017) en su tesis “Evaluación de la biooxidación de concentrado arsenopirítico aurífero por pretratamiento con bacterias quimiolitotrofas acidófilas que mejoren la recuperación del oro por cianuración en la empresa minera Eminsol S.A. Bolivia”, evalúa la biolixiviación de un concentrado arsenopirítico aurífero por pretratamiento con una cepa quimiolitotrofa, para de alguna forma mejorar las condiciones de recuperación del mineral, consistió en realizar pruebas experimentales, primeramente, se hizo un pretratamiento al concentrado de arsenopirita aurífera ricos en metales preciosos antes del proceso de lixiviación con cianuro y luego evaluar la cianuración directa. De lo cual se obtuvo que las pruebas de biooxidación de las bacterias A. ferrooxidans y el consorcio, aplicado a las muestras del concentrado de arsenopirita aurífera, si se varía en el porcentaje de sólidos de 8 y 12%, esto favorece

en un 8%, lográndose así una mayor biooxidación y crecimiento bacteriano, debido a que los microorganismos presentan menor estrés de las bacterias al 12 %. Así mismo la cianuración directa sin tratamiento de la arsenopirita aurífera presenta una máxima recuperación del 51.57 % a las 72 horas del proceso, debido a que un porcentaje del oro sigue encapsulado dentro de la matriz de la arsenopirita, y al realizar el pretratamiento de biooxidación se logra beneficiar la recuperación del oro.

1.2. Formulación del problema

¿Cuál es la influencia del tiempo y la temperatura en la recuperación de Manganeso por biolixiviación de un mineral de Namora – Cajamarca?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar la influencia del tiempo y la temperatura en la recuperación de Manganeso por biolixiviación de un mineral de Namora – Cajamarca, 2021.

1.3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar el mineral de manganeso y los microorganismos para la biolixiviación.
- Determinar los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas sin agitación a 30° C.
- Determinar los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas con agitación continua.
- Determinar los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas en la mineralogía de las muestras y recuperación de manganeso.

1.4. Hipótesis

1.4.1. Hipótesis general

Al determinar la influencia del tiempo y la temperatura en la recuperación de manganeso por el proceso de biolixiviación haciendo uso de *Enterobacter Cloacae* y *Enterobacter agglomerans*, se logrará establecer temperatura óptima y tiempo para obtener un porcentaje rentable del mineral en estudio.

1.4.2. Hipótesis específicas

- Realizando la caracterización de manganeso y los microorganismos, se identificará las leyes presentes en las muestras y las colonias de bacterias que se desarrollen y aporten en el proceso de biolixiviación.
- Al determinar los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas sin agitación a 30° C, se logrará identificar los tipos de colonias de bacterias que serán capaces de crecer en condiciones microaeróbicas a altas concentraciones de manganeso a la temperatura señalada.
- Al determinar los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas con agitación continua, se logrará identificar el rendimiento de ion manganeso disuelto, su variación según la especie microbiana, la concentración de la fuente de carbono y la densidad del dióxido de manganeso sólido por volumen de suspensión.
- Al determinar los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas en la mineralogía de las muestras y recuperación de manganeso, se identificará

las formas cristalinas de los óxidos de manganeso y la tendencia hacia tasas de lixiviación bacteriana más lentas en óxidos.

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de investigación

El presente proyecto corresponde a una investigación Aplicada, del tipo Experimental a nivel de laboratorio, ya que los datos de las muestras tomadas en campo se manejaron en el laboratorio, se analizaron colonias de veinticuatro horas de placas de agar de sacarosa / levadura para detectar la presencia de enzimas oxidas (miembros de *Enterobacter Cloacae*) y catalasa (células aerobias), incluyendo el seguimiento de crecimiento de las colonias, la fermentación estática, la incubación del reactor continuo con estaño y el análisis químico.

Vargas (2009), nos indica que el tipo de investigación Aplicada es una forma de conocer las realidades con una prueba científica; requiere obligatoriamente de un marco teórico, sobre el cual se basará para generar una solución al problema específico que se quiera resolver, se centra en el análisis y solución de problemas de varias índoles de la vida real, así como también se nutre de avances científicos y se caracteriza por su interés en la aplicación de los conocimientos.

Según Palella y Martins, (2012) “El diseño experimental es aquel según el cual el investigador manipula una variable experimental no comprobada, bajo condiciones estrictamente controladas. Su objetivo es describir de qué modo y porque causa se produce o puede producirse un fenómeno. Busca predecir el futuro, elaborar pronósticos que una vez confirmados, se convierten en leyes y generalizaciones tendentes a incrementar el cúmulo de conocimientos pedagógicos y el mejoramiento de la acción educativa” (p.86).

2.2. Población y muestra

Población

Mineral de manganeso localizado en el departamento de Cajamarca.

Muestra

100 kg de mineral de Manganeso localizado en la zona de San Jorge de Chuchun, Namora.

2.3. Técnicas e instrumentos de recolección y análisis de datos

Para la recolección de datos se utilizaron las técnicas de observación directa, análisis documental y experimentación.

2.3.1. Observación directa

Se hizo una observación directa del depósito ubicado en la zona de San Jorge de Chuchun, Namora, dónde se evidenció la presencia de afloramientos y algunos mantos en los cuales estaba contenido el mineral de manganeso, además ya se tenía conocimiento de las leyes presentes en el depósito debido al análisis de laboratorio (Anexo 01), proporcionado por el dueño de la concesión, por lo cual se planteó la idea de realizar la recuperación de mineral haciendo uso de la lixiviación bacteriana, ya que implicaría un menor costo, para lo cual se recolectaron muestras para la realización del proceso a nivel de laboratorio que permitan determinar la viabilidad del mismo a gran escala.

2.3.2. Análisis documental

Se utilizó esta técnica, ya que se investigó diversos estudios relacionados al proceso de biolixiviación en minerales de manganeso. Dichas investigaciones fueron catalogadas como: artículos científicos, tesis, boletines informativos geológicos, etc. Los cuales fueron recopilados a través de diversas plataformas

virtuales como Alicia Concytec, Google Académico, Scielo, etc. Asimismo, se revisó mapas geológicos dentro del Geocatmin.

2.3.3. Experimentación

Se recogió 100 kg de mineral, el cual fue chancado, pulverizado y cargado en las botellas, del mismo modo se monitoreo el crecimiento de las colonias de bacterias con medio de sacarosa / levadura solidificada con agar (1,0% p / v). Las colonias individuales, que crecieron en medios sólidos dentro de las 48 horas a 30 °C, se seleccionaron sobre la base del color, la forma y el tamaño. Se realizó la incubación de bacterias en las botellas a nivel estático y giratorio para determinar cuál proceso genera el desarrollo de las mismas contribuyendo a la recuperación de mineral en porcentajes altos.

Para el análisis de datos, los resultados de la experimentación por el método de la prueba de botellas estáticas y giratorias, se organizaron en una de base de datos digital en Excel, creada inicialmente con los datos generales de dichas pruebas, para poder tabular la información obtenida del procedimiento de lixiviación con bacterias en tablas, las cuales nos ayudaron a la creación de gráficos que permitan una mejor interpretación de los resultados.

2.4. Procedimiento

El tipo de investigación que se utilizó en este trabajo es experimental, por lo cual se realizaron varias pruebas en laboratorio y la técnica que se utilizó fue la prueba de botellas que permitió realizar 02 procesos de biolixiviación, el estático y giratorio.

2.4.1. Etapa I: Gabinete

Se realizó la revisión de la bibliografía referente al tema de investigación a nivel internacional, nacional y local. Asimismo, se hizo la revisión de mapas geológicos y ubicación de depósitos de manganeso en Cajamarca mediante el Geocatmin. Una vez ubicado el yacimiento, se procedió con la petición de permiso del dueño de la concesión donde estaba ubicado el depósito mineral.

Figura 1

Localización del mineral de manganeso- Namora



Fuente: Geocatmin

La accesibilidad al yacimiento en base al Geocatmin es mediante la carretera asfaltada Baños del Inca – Namora. Se toma un desvío en el cruce que tiene las siguientes coordenadas Este 790903.53 y Norte 9209840.85. A Partir de ese punto el camino es de herradura hasta llegar a la concesión.

2.4.2. Etapa II: Trabajo de laboratorio

Se identifico la composición mineralógica de la muestra, la cual contiene una amplia variedad de óxidos de manganeso esencialmente tetravalentes (14

óxidos registrados). Principalmente, se utilizó un medio líquido no estéril en cultivos de rutina. El pH en el momento de la inoculación fue de 5.9 ± 0.25 . Se utilizó melaza de caña de azúcar al 10% (p/v) excepto donde se indique como la principal fuente nutricional en cultivos líquidos. La melaza constaba de aproximadamente 35% de sucrosa más 1-12% de glucosa, fructosa, almidón y otros carbohidratos menores. La melaza también contiene un 10% de ceniza (K, Mg, Ca, Na, SO_4 , Cl, P y Si) y un 0,6% de nitrógeno, junto con las vitaminas A y B. El potasio representa el 30-50% de los elementos inorgánicos de la ceniza. El jarabe viscoso de reserva contenía aproximadamente un 20% de humedad. Se utilizó agua de ósmosis inversa para las diluciones.

Las colonias de bacterias se purificaron mediante una única franja de colonias y luego cada organismo se volvió a sembrar en un medio sólido impregnado con MnO_2 estéril submicrométrico, molido. Se analizaron colonias de veinticuatro horas de placas de agar de sacarosa / levadura para detectar la presencia de enzimas oxidas (miembros de Enterobacteriaceae) y catalasa (células aerobias).

El mineral finamente molido se preparó en un molino, se trituraron treinta gramos de mineral durante aproximadamente una semana a 30 rpm en 100 ml de agua (ósmosis inversa). Se dejó reposar la suspensión durante 10 minutos y se añadió 1 ml de sobrenadante, que contenía el intervalo de tamaño de partícula de sub-micrones, por 20 ml de mezcla de nutrientes de agar antes de esterilizar en autoclave a 15 psi durante 20 min. Los medios sólidos en 48 horas

a 70° C, se seleccionaron y purificaron por estriado de una sola colonia. Los recuentos viables se realizaron utilizando la técnica de placa extendida con el agar manganeso/sacarosa/extracto de levadura anterior. Los recuentos de células totales se realizaron usando microscopía de contraste de fase. No se determinaron las células adheridas a las partículas de manganeso.

Las fermentaciones discontinuas se realizaron en solución estática con resuspensión de partículas por agitación mecánica una vez cada dos días. El matraz de 250 ml se tapó a rosca para excluir los desechos en el aire y en cultivos a largo plazo no se intentó mantener los cultivos estériles. Después del crecimiento por lotes (3 días), el sobrenadante y las matas se mezclaron y centrifugaron a 8.000 g durante 15 minutos. Se utilizaron quince mililitros del sobrenadante (Ca 10⁸ células / ml) antes de la centrifugación para reinocular lotes posteriores.

Los experimentos se realizaron al menos 2 veces, el ion manganeso tiende a adsorberse en MnO₂ a pH > 5 y limita la lixiviación adicional. Como el óxido de manganeso tiene una solubilidad insignificante en ácido sulfúrico diluido a temperatura ambiente, el ión manganeso adsorbido se volvió a disolver en H₂SO₄ (0,03 M, pH 1,5, 2 x 100 ml). El mineral tratado con ácido se lavó dos veces con 100 ml de agua de ósmosis inversa para llevar el pH de los sólidos a aproximadamente pH 7. Las concentraciones de Mn²⁺ indicadas aquí son la suma del ácido desorbido y el Mn²⁺ soluble al final de cada lixiviación por lotes. Después de lavar los residuos tratados con ácido y con agua, el sedimento

centrifugado se resuspendió en melaza fresca, se inóculo de 15 ml del lote anterior.

2.4.3. Etapa III: Procesamiento de datos en gabinete

Los datos tomados se organizaron en una de base de datos digital en Excel, procesando en tablas los resultados de análisis químico con el reporte de Análisis de laboratorio, de igual manera con la caracterización de los medios de cultivo y de los microorganismos. Los resultados de la experimentación sirvieron para construir tablas y gráficos de la lixiviación para determinar la influencia de la variable independiente (tiempo y temperatura) en la variable dependiente (recuperación de manganeso), para una mejor interpretación de los resultados.

2.5. Aspectos éticos

Para cumplir con la resolución y protocolo que nos brinda la Universidad, el desarrollo de esta investigación se rige bajo los aspectos éticos estrictamente relacionados al uso del Manual de Redacción APA, evitando así plagios, valiéndose de una correcta situación de autores y coautores de las investigaciones antecesoras a esta.

CAPÍTULO III. RESULTADOS

3.1. Caracterización del mineral de manganeso y los microorganismos para la biolixiviación

3.1.1. Caracterización del mineral

La composición de este mineral de baja ley fue: Mn total 17% al 31%, SiO₂ 28%, Al₂O₃ 22%, Fe 8% con cantidades menores de Ti, B, K, Mg y Ca. El mineral contiene una amplia variedad de óxidos de manganeso esencialmente tetravalentes (14 óxidos registrados, por ejemplo, pirolusita, criptomelano, todorokita, romanechita).

Figura 2

Reporte de Análisis de Laboratorio



INFORME DE ANALISIS QUIMICO

CLIENTE : NEGOCIOS ARGOS E.I.R.L. **Nº COD. 54398**
TIPO DE MUESTRA : MINERAL
IDENTIFIC. DE LA MUESTRA : M1-C
MUESTRAS RECIBIDAS : 1
DETALLE DEL ENVASE : SOBRE/SELLADO
FECHA DE RECEPCIÓN : 1/07/2020
INSTRUCCIÓN DE ANALISIS : TIPO LOTE
METODO ANALÍTICO : ABSORCIÓN ATÓMICA
RESULTADOS :

Mn - MANGANESO (%)	31.41
--------------------	-------

Fecha de Emisión: 2/07/2020
*Este informe no debe reproducirse total ni parcial sin autorización escrita de G&S Laboratory SRL.
*Los resultados de este Certificado solo corresponden a la muestra recibida en nuestra oficina.
*Los remanentes de las muestras se guardarán por un periodo máximo de 1 mes.


Jefe de Laboratorio
CIP. N° 185126

Fuente: Datos de Laboratorio.

3.1.2. Caracterización de medios

Principalmente, se utilizó un medio líquido no estéril en cultivos de rutina. El pH en el momento de la inoculación fue de 5.9 ± 0.25 . Se utilizó melaza de

caña de azúcar al 10% (p / v) excepto donde se indique como la principal fuente nutricional en cultivos líquidos. La melaza constaba de aproximadamente 35% de sacarosa más 1-12% de glucosa, fructosa, almidón y otros carbohidratos menores. La melaza también contiene un 10% de ceniza (K, Mg, Ca, Na, SO₄, Cl, P y Si) y un 0,6% de nitrógeno, junto con las vitaminas A y B. El potasio representa el 30-50% de los elementos inorgánicos de la ceniza. El jarabe viscoso de reserva contenía aproximadamente un 20% de humedad. Se utilizó agua de ósmosis inversa para las diluciones.

3.1.3. Caracterización de microorganismos

El crecimiento de las colonias se logró con medio de sacarosa / levadura solidificada con agar (1,0% p/v). Las colonias individuales, que crecieron en medios sólidos dentro de las 48 horas a 30 ° C, se seleccionaron sobre la base del color, la forma y el tamaño. Estas colonias se purificaron mediante una única franja de colonias y luego cada organismo se volvió a sembrar en un medio sólido impregnado con MnO₂ estéril submicrométrico, molido en bolas. Las especies que disolvieron partículas de mineral en suspensión se sub cultivaron para pruebas taxonómicas y de lixiviación.

Se analizaron colonias de veinticuatro horas de placas de agar de sacarosa / levadura para detectar la presencia de enzimas oxidas (miembros de Enterobacteriaceae) y catalasa (células aerobias). La diferenciación de la producción oxidativa y fermentativa de ácido a partir de carbohidratos se realizó mediante la prueba de Hugh y Liefson. Se realizaron veintitrés pruebas

bioquímicas estándar utilizando el kit de prueba de identificación. El recuento viable se realizó por triplicado en diluciones 10^{-2} - 10^{-8} de cultivos recién suspendidos.

3.1.4. Caracterización de microorganismos termofílicos

El crecimiento de colonias, derivado de los relaves, se logró en medio sólido con sacarosa al 1% (p/v), extracto de levadura al 0,1% (p/v) y relaves de manganeso molidos solidificados con agar (2,5% p/v). El mineral finamente molido se preparó en un molino (un cilindro de 12 x 12 cm de diámetro que contiene 20-50 g de perlas de vidrio de 3 mm de diámetro). Se trituraron treinta gramos de relaves durante aproximadamente una semana a 30 rpm en 100 ml de agua (ósmosis inversa). Se dejó reposar la suspensión durante 10 minutos y se añadió 1 ml de sobrenadante, que contenía el intervalo de tamaño de partícula de sub-micrones, por 20 ml de mezcla de nutrientes de agar antes de esterilizar en autoclave a 15 psi durante 20 min. Los medios sólidos en 48 horas a 70 ° C, se seleccionaron y purificaron por estriado de una sola colonia. Los recuentos viables se realizaron utilizando la técnica de placa extendida con el agar manganeso / sacarosa / extracto de levadura anterior. Los recuentos de células totales se realizaron con una cámara de recuento usando microscopía de contraste de fase. No se determinaron las células adheridas a las partículas de manganeso.

3.2. Determinar los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas sin agitación a 30° C

Los estudios preliminares que utilizaron un nutriente de glucosa y bacterias acróbicas purificadas, Pseudomonad y Bacilli, arrojaron tasas de aproximadamente 11 mg Mn^{+2} L/d para la solubilización de iones manganosos. Los cultivos de enriquecimiento crudo tuvieron tasas de aproximadamente tres veces estos valores. Se obtuvieron mejores tasas en condiciones microaeróbicas utilizando melaza. Utilizando cultivos estáticos a 30 ° C, se alcanzaron tasas promedio de 0,8 g Mn^{2+} / L / d. Los cultivos que crecían con sacarosa más extracto de levadura tenían cuatro microbios de lixiviación, pero hasta dieciséis tipos de colonias diferentes que no se lixivaban. Se encontraron dos bacterias, Enterobacter cloacae y E. agglomerans, que eran capaces de crecer en condiciones microaeróbicas a altas concentraciones de manganeso. La Tabla 1 establece las tasas y los rendimientos de iones manganosos para estas bacterias clave utilizando un extracto de levadura de sacarosa al 1% (p/v) en un medio de 0,1% (p/v).

Ha sido una característica recurrente de estos estudios que las poblaciones microbianas mixtas en cultivos de enriquecimiento crudo dieron tasas de reducción mucho más altas que las bacterias purificadas. Los cultivos purificados no se considerarían en la práctica industrial porque el sistema crudo proporciona tasas de lixiviación más altas y bastante reproducibles. Se aislaron especies aeróbicas como Achromobacter y los hongos Aspergillus Niger del cultivo estático, pero no se consideraron apropiadas para un proceso de bajo grado a gran escala debido a la

dificultad de mantener la transferencia de oxígeno, la bacteria *Pseudomonas paucimobilis* también se identificó en estudios posteriores.

Tabla 3

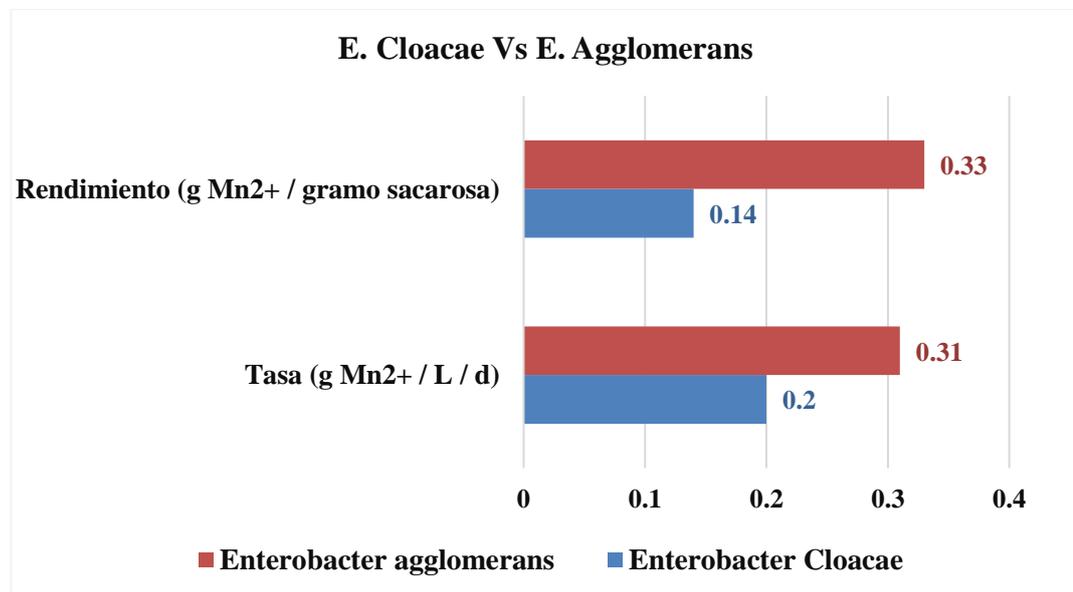
Biodegradación Bacteriana del dióxido de manganeso en cultivo microaeróbico estático

	Enterobacter Cloacae	Enterobacter agglomerans	Cultivo de enriquecimiento crudo
Tasa (g Mn ²⁺ / L / d)	0.2	0.31	1.26
Rendimiento (g Mn ²⁺ / gramo sacarosa)	0.14	0.33	0.55

Fuente: Datos de Laboratorio.

Figura 3

Gráfico comparativo de tasa y rendimiento entre E. Cloacae y E. Agglomerans



Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

3.3. Determinar los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas con agitación continua

A continuación, se muestra el patrón de uso de melaza, producción de Mn^{2+} , cambios en el pH y la curva de crecimiento para bacterias de lixiviación viables durante 7 días de cultivo.

Tabla 4

Datos de laboratorio - Prueba de botellas

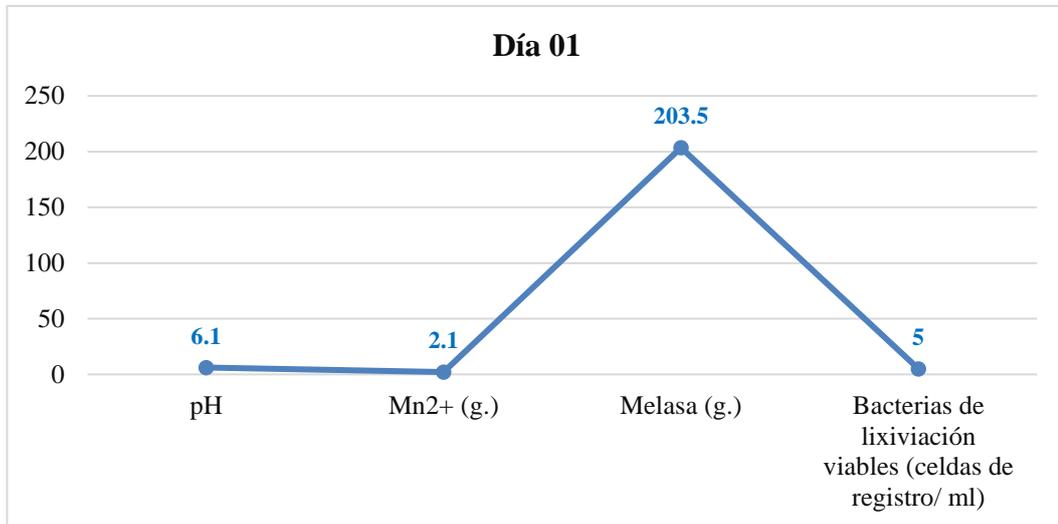
Días	pH	Mn ²⁺ (g.)	Melasa (g.)	Bacterias de lixiviación viables (celdas de registro/ ml)
1	6.1	2.1	203.5	5
2	6.6	7.2	70.4	9.5
3	6.8	14.3	55.6	9.5
4	6.8	22.5	26.5	9.5
5	6.6	20.3	17.4	9.5
6	6.4	24.8	14.5	8.5
7	6.4	25.5	12.6	8.5

Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

Las principales bacterias lixiviantes pertenecían a la especie *Enterobacter*. Densidad de pulpa 5% (p/v) 30 ° C.

Figura 4

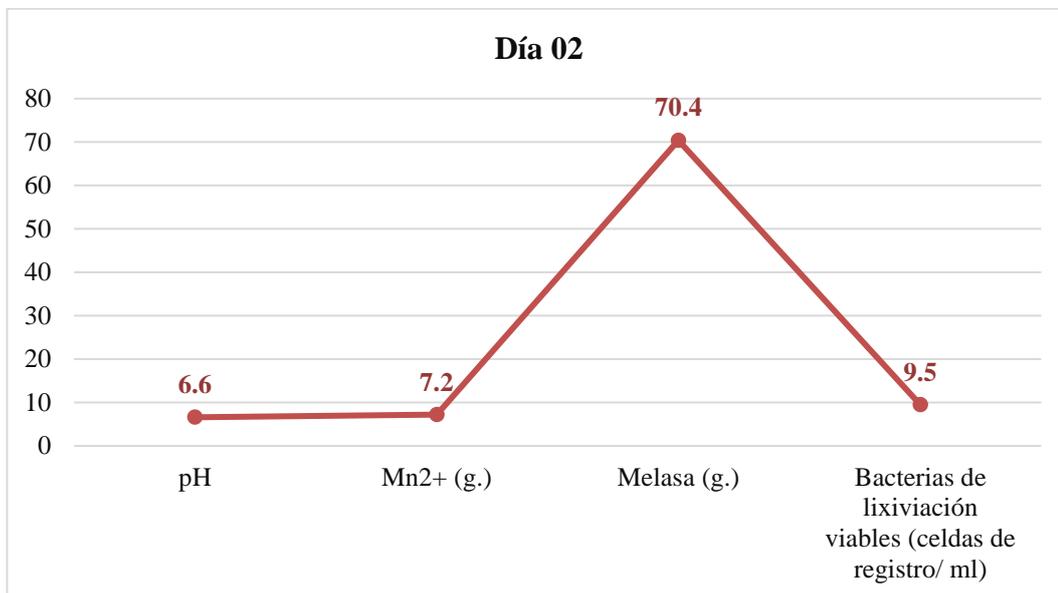
Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 01



Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

Figura 5

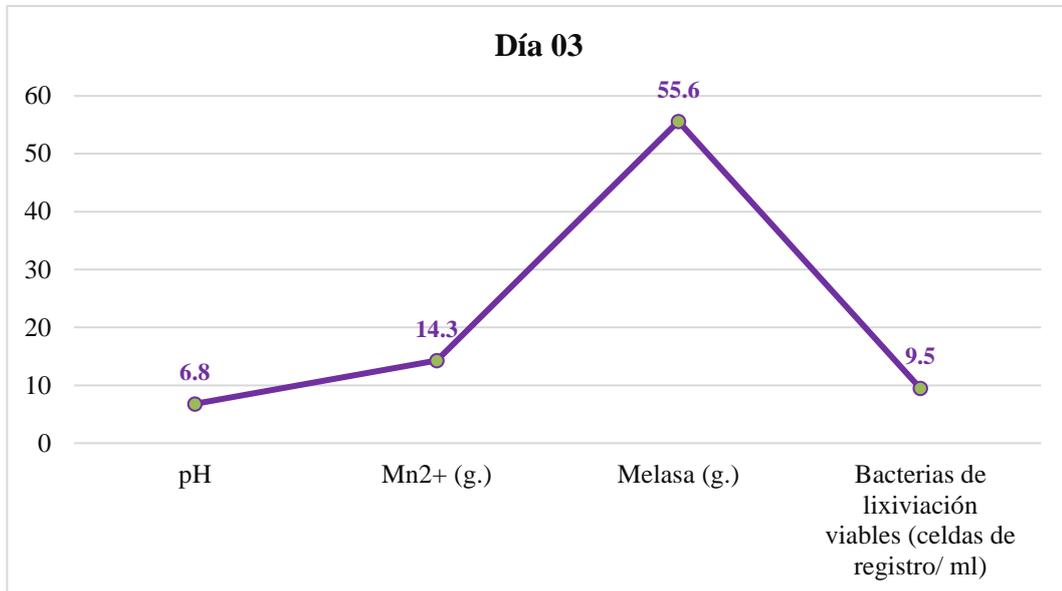
Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 02



Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

Figura 6

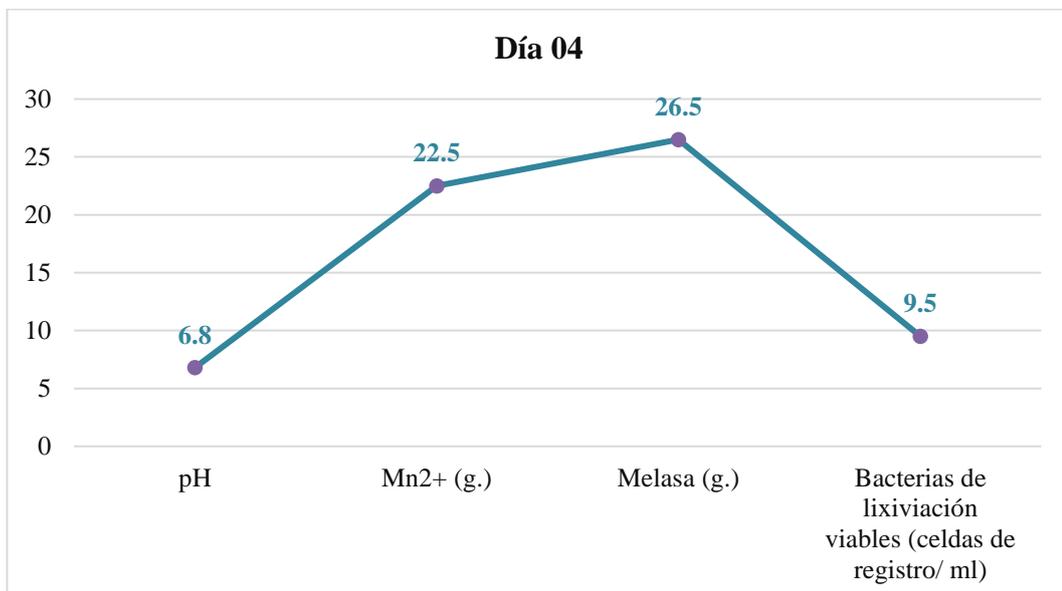
Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 03



Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

Figura 7

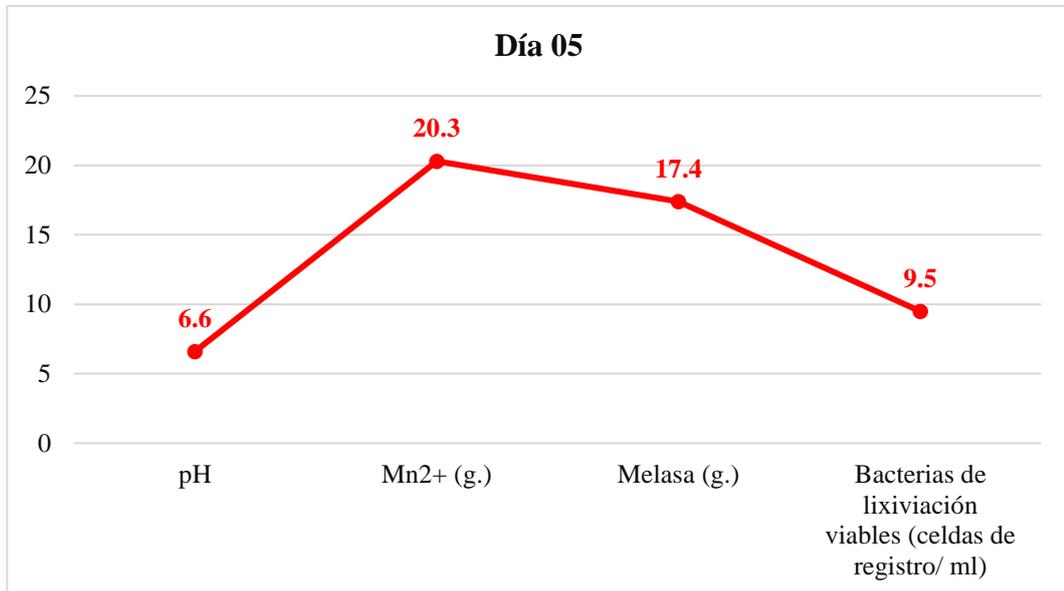
Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 04



Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

Figura 8

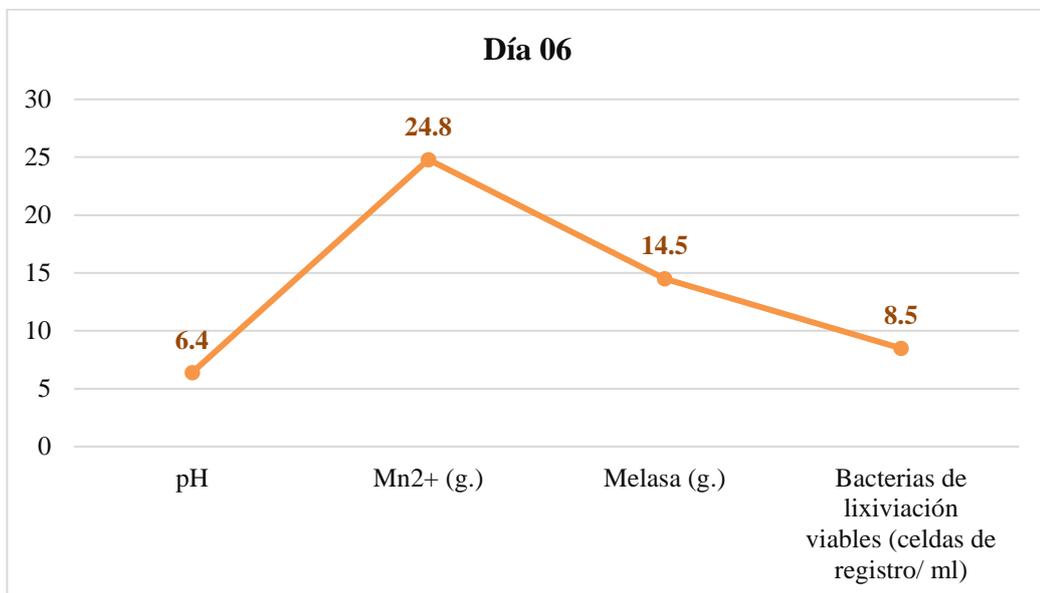
Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 05



Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

Figura 9

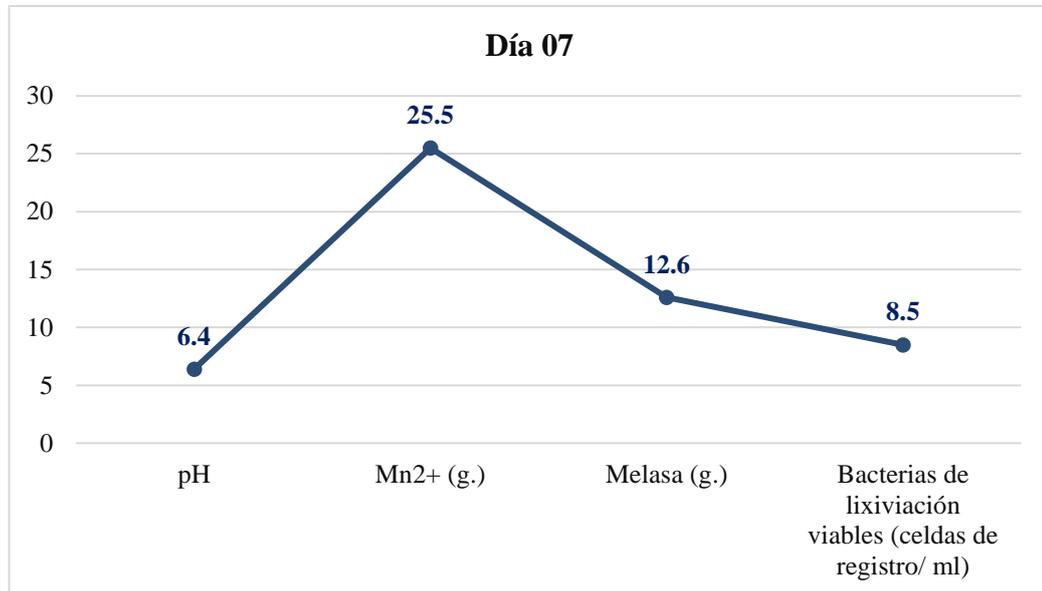
Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 06



Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

Figura 10

Gráfico comparativo de los resultados de laboratorio - Día 07



Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

La mayor parte de la melaza (70%) se consume en las primeras 24 horas, donde se cultivan en números máximos de células y se selecciona una población casi exclusiva de *Enterobacter* en concentraciones de 1.9 g Mn²⁺/L. Vale la pena señalar que alrededor del 71% de Mn²⁺ se lixivió en la fase estacionaria del cultivo, donde solo se utilizó el 8% de la melaza. En otras palabras, la lixiviación fue principalmente independiente del crecimiento y muy probablemente el resultado de la fermentación anaeróbica donde el óxido de manganeso actuaba como sumidero de electrones (Reacción 2). Los cambios de pH fueron leves (entre pH 6.0 y pH 7.2) pero mostraron una característica interesante de este sistema. Hubo un consumo neto de ácido, entre el día 1 y el día 2, en el momento de la producción máxima de Mn²⁺, como se esperaría de las reacciones de reducción. En el punto de incipiente 'producción' de ácido, Mn²⁺ la adsorción a MnO₂ se duplica. Presumiblemente, esta adsorción es un intercambio de iones que implica la liberación de iones de hidrógeno. Desde el punto de vista de la producción de Mn²⁺ el mejor momento para finalizar este lote sería a

las 56 horas. El rendimiento de ion manganeso disuelto, en términos de suministro y uso de azúcar, varía considerablemente según la especie microbiana, la concentración de la fuente de carbono y la densidad del dióxido de manganeso sólido por volumen de suspensión.

Tabla 5

Comportamiento de la lixiviación del reactor agitado en condiciones microaeróbicas

Melaza (g/100 ml)	Tasa de Mn ²⁺ formado (g/L/d)	Rendimiento Mn ²⁺ formado (g Mn ²⁺ /g melaza)
1	0.7	0.45
5	1	0.12
15	1.5	0.05

Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

Densidad de la pulpa, 5% (p/v), 32 °C. Las tasas y los rendimientos se calcularon durante 7 días de fase de liberación de Mn²⁺.

La disminución del rendimiento de Mn²⁺ con el aumento del suministro de azúcar se manifestó tanto en el cultivo puro como en el mixto, pero fue más pronunciado en los enriquecimientos crudos. A concentraciones más altas de carbohidratos, el crecimiento y la fermentación microaeróbica en solución libre (a granel) probablemente desperdicia energía a expensas de la disponible para la reacción de reducción de dióxido de manganeso en la superficie de la partícula. Cuando se agregaron niveles sub-tóxicos de un biocida (2,2 - dihidroxifenilmetano (5 mg / L)) en la inoculación a las fermentaciones a niveles medios de melaza (por ejemplo, 5% (p / v)), hubo aproximadamente un 30% mejora del rendimiento (g Mn²⁺ / g melaza). Esto tiende a respaldar la noción de que el crecimiento y el metabolismo sin

lixiviación desperdician nutrientes donde una reacción dependiente de la superficie se ha saturado.

El estudio de reactores de membrana en los cultivos aeróbicos se demostró que las bacterias degradaban el mineral mediante la secreción de compuestos reductores orgánicos difusibles de bajo peso molecular en el medio. Estos cultivos estaban limitados por el ácido disponible (presumiblemente ácido fórmico y oxálico) mientras que las incubaciones micro aeróbicas permanecieron cerca de la neutralidad, pero produjeron cinco veces la cantidad de ion manganeso soluble. Además, hubo una mejora significativa en el rendimiento de Mn^{2+} por uso de azúcar a concentraciones de azúcar más bajas (por ejemplo, aumento de 2 a 4 veces en el Mn^{2+} producido pasando del 5% al 1% de melaza) que no ocurrió en el cultivo aeróbico. Estos resultados sugirieron la presencia de un mecanismo de respiración fermentativa directa similar al encontrado en algunas bacterias marinas.

La tasa inicial de lixiviación en el reactor de membrana fue $0.06 \text{ g } Mn^{2+} \text{ L/día}$ mientras que el control fue de 0 a $64 \text{ g } Mn^{2+} \text{ L/día}$. Cuando se retiró la membrana y los microbios entraron en contacto directo con el mineral, la tasa aumentó ocho veces. Estos resultados sugieren que hubo al menos dos mecanismos de reducción de dióxido de manganeso en cultivo micro aeróbico, debido a agentes reductores difusibles y debido a una reacción directa de la bacteria con el mineral. En condiciones micro aeróbicas, alrededor del 80% del ión manganeso formado se debió a los mecanismos de contacto directo.

3.4. Determinar los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas en la mineralogía de las muestras y recuperación de manganeso

La biodegradación de diferentes formas cristalinas de óxidos de manganeso no varía apreciablemente a pesar del hecho de que los óxidos de manganeso pueden estar entre los más complejos de todos los minerales. Sin embargo, hubo una tendencia hacia tasas de lixiviación bacteriana más lentas en óxidos con estructuras más ordenadas o cristalinas como la pirolusita. La Tabla 06 muestra que los óxidos de manganeso que contienen relativamente más pirolusita que criptomelano, fueron menos susceptibles al ataque bacteriano que aquellos con menos.

La nutrición de las bacterias de lixiviación de manganeso se logró de manera más conveniente usando melaza de caña de azúcar.

Tabla 6

Efecto de la pirolusita sobre la lixiviación bacteriana de óxidos de manganeso

	Óxido rico en pirolusita	Óxido bajo en pirolusita
Relación, pirolusita: cryptomelana	11:1	3:1
Porcentaje de recuperación Mn ²⁺ (total)	55	63
Tasa promedio de Mn ²⁺ formado (mg/d)	42	51
Ph Promedio	6.7 ± 0.2	5.7 ± 0.8
Número promedio de células (cells /ml)	10.1 ± 0.4	9.9 ± 0.4

Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

Cultivos microaeróbicos estáticos repetidos (15 lotes) 30°C 20% (p/v) óxido, 5% (p/v) melaza.

Esta fuente podría ser reemplazada por sacarosa con un rastro de extracto de levadura agregado o extracto de microalgas. Los sacáridos simples solos, yendo del más al menos efectivo, fructosa, sacarosa, arabinosa, manosa, ramnosa, galactosa y glucosa, eran malos proveedores de energía. Cuando se complementa con extracto de algas, el rendimiento de la lixiviación de iones manganosos mejoró. Otros materiales de bajo crecimiento probados fueron macroalgas rojas, marrones y verdes, bagazo, suero y microalgas. La mejor alternativa barata a la melaza era el polvo seco de las algas rojas. *Gracilaria secundata*, pero en base al peso por peso, las algas marinas fueron solo la mitad de efectivas. La mayoría de estos sustitutos de bajo costo podrían actuar como única fuente de carbono y energía en cultivos macrobianos mixtos, aunque en el caso de *G. secundata* hubo un retraso de aproximadamente una semana antes de que la planta se descompusiera lo suficiente como para promover la biodegradación del dióxido de manganeso.

Se agregaron diversas fuentes de nitrógeno a la melaza, ya que el proveedor comercial consideraba que el contenido de nitrógeno del 2% al 4.5% era insuficiente para las fermentaciones bacterianas. La peptona, el extracto de levadura, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 , NaNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ reducen la lixiviación de manganeso cuando se utilizan como suplementos. La caseína dio una mejora marginal en la lixiviación de Mn_2 . Este resultado: sugirió el crecimiento estimulado por nitrógeno agregado de bacterias no lixiviantes inicialmente presentes en estas poblaciones heterogéneas enriquecidas con melaza.

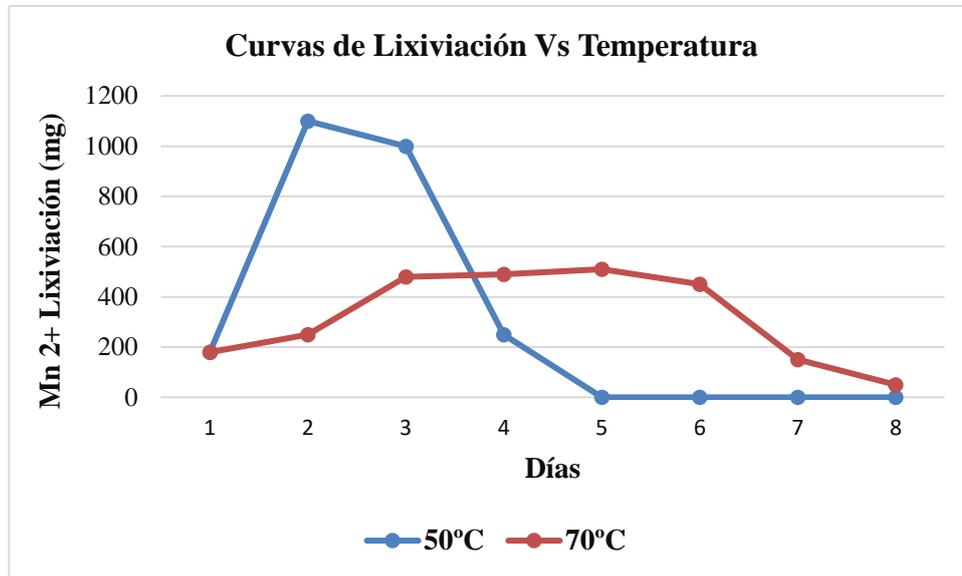
En la lixiviación termofílica, se probó la lixiviación por lotes mediante cultivos bacterianos estáticos que degradan los relaves de la suspensión de óxido de manganeso en un rango de temperaturas entre 4 y 70 ° C. La mejor lixiviación de Manganeso se logró a 50 ° C (tasa promedio de 3 g Mn^{2+} / L / día para el primer lote de 3 días) con actividad de lixiviación pobre a 4° C y 20° C. Las tasas promedio más altas para cada temperatura se registraron en los primeros tres días, lo que probablemente se relacionó con el ataque preferencial sobre las partículas más pequeñas en este rango de tamaño mixto.

La Figura 11 muestra las curvas de lixiviación por lotes a 50 ° C y 70 ° C, donde se completó la conversión bacteriana de Mn^{5+} a Mn^{2+} (reducción > 90%). El cultivo termofílico a 50 C lixivió MnO_2 , en promedio, a 2.8 multiplicado por la tasa a 70 ° C durante los primeros ocho días de cultivo (es decir 2 lotes).

Las concentraciones de Mn^{2+} alcanzaron 13,6 gl en el pico de extracción a 50 ° C. Las placas extendidas de microbios crudos de cultivo mixto a 70 ° C mostraron que dos de los cinco aislamientos pudieron reducir el MnO_2 . La colonia que apareció con más frecuencia fue opaca y plana (0,5 cm \pm 0,3 mm) con un límite circular mal definido con un centro claro, debido a la eliminación reductora de MnO_2 negro, dejando los minerales de ganga lateríticos de color naranja. La bacteria encontrada frecuentemente a 70 ° C fue grampositiva. Microscópicamente, se observaron barras de varios tamaños de 0.8-2.4 a 4.8 μ con una protuberancia en forma de raqueta, posiblemente una espora, formada terminalmente (aproximadamente 0.5 x 5.6 μ).

Figura 11

Curvas de Lixiviación según Temperatura



Fuente: Datos de las pruebas de experimentación

CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

4.1 Discusión

Los usos industriales futuros de los microbios en la biodegradación de óxidos metálicos probablemente dependerán del uso de procesos redox enzimáticos en los que el elemento deseado se disuelve o enriquece en virtud del óxido que se acopla a las vías generadoras de energía. El ejemplo dado anteriormente, para la disolución de manganeso, demuestra una tasa de lixiviación (por ejemplo, 3 g Mn^{2+} / L/d o 20 g Mn^{2+} / Kg/d) que puede ser comercialmente factible. Sobre la base de los costos de los nutrientes o reactivos, el sistema microbiano para la lixiviación humana tenía un costo considerablemente menor que la reducción química de baja intensidad. Las mejores oportunidades para la biolixiviación de manganeso probablemente se encuentran en procesos que están relacionados con la formación subsiguiente de un valioso derivado del ion manganeso disuelto. En este trabajo de investigación a nivel de laboratorio se ha intentado vincular el proceso de lixiviación con un proceso microbiano para formar óxido de manganeso de alto grado.

Según los resultados obtenidos, el crecimiento de las colonias de bacterias se logró con medio de sacarosa/levadura solidificada con agar (1.0% p/v). Las colonias individuales, que crecieron en medios sólidos dentro de las 48 horas a 30 ° C, se seleccionaron sobre la base del color, la forma y el tamaño. Estas colonias se purificaron mediante una única franja de colonias y luego cada organismo se volvió a sembrar en un medio sólido impregnado con MnO_2 estéril submicrométrico (especies *Enterobacter*). El pH en el momento de la inoculación fue de $5,9 \pm 0,25$. Se utilizó melaza de caña de azúcar al 10% (p / v) excepto donde se indique como la

principal fuente nutricional en cultivos líquidos. Lo cual nos permite apoyar lo señalado por Estrada (2019), quien en su trabajo de investigación señaló que las condiciones óptimas de crecimiento de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* se sabe que es capaz de crecer en el rango de temperaturas de 25 a 45°C, estando su temperatura óptima probablemente alrededor de los 32 a 35°C. En cuanto a pH el *Thiobacillus ferrooxidans* crece en el amplio rango de 1 a 5, estando el óptimo alrededor de 2 a 4. Aparte del pH y temperatura, influyen grandemente en su cinética de crecimiento la composición de sales del medio, la concentración o presión parcial de CO₂, el tamaño de la partícula del mineral, la presencia de ciertos iones metálicos inhibidores y los surfactantes, también son factores influyentes en el proceso.

Según Midence y García (2013), la efectividad de la biolixiviación depende esencialmente de la eficiencia de los microorganismos y de la composición química del sólido. El máximo rendimiento de extracción de metal puede lograrse solamente cuando las condiciones de lixiviación corresponden con las condiciones óptimas de crecimiento de los microorganismos. Para ello, es necesario complementar el medio de cultivo con sales de amonio, fosfatos y magnesio. Un adecuado suministro de oxígeno es un requisito para el buen crecimiento y la mayor actividad lixivante de las bacterias. En el laboratorio esto puede lograrse por aireación o por agitación. También el ajuste del valor de pH correcto es una condición necesaria para el crecimiento de la cepa y para la solubilización de los metales. El pH en el proceso de biolixiviación depende de la capacidad tampón. La capacidad tampón es lentamente disminuida por la producción continua de ácido a partir de la oxidación de compuestos del azufre.

Utilizando cultivos estáticos a 30 ° C, se alcanzaron tasas promedio de 0.8 g Mn²⁺ / L/d. Los cultivos que crecían con sacarosa más extracto de levadura tenían cuatro microbios de lixiviación, pero hasta 16 tipos de colonias diferentes que no se lixivaban. Se encontraron dos bacterias, *Enterobacter cloacae* y *E. agglomerans*, que eran capaces de crecer en condiciones microaeróbicas a altas concentraciones de manganeso. Lo cual nos permite apoyar lo señalado por Unda (2020) en su trabajo de investigación titulado “: Aislamiento e identificación de bacterias nativas biodegradadoras de Cianuro y Arsénico presente en relaves mineros de oro”, el objetivo de esta investigación fue aislar e identificar bacterias nativas de los relaves mineros de oro de la Planta de Beneficio Virgen de la Nube” del cantón Portovelo y determinar la concentración de inóculo bacteriano requerido para degradar Cianuro y Arsénico. Se aislaron un total 32 colonias de bacterias, 15 cepas bacterianas resultaron degradadoras de Cianuro, de las cuales fueron identificadas 3 especies: *Burkholderia pseudomallei*, *Bacillus spp.*, *Bacillus sphaericus*; y, 17 cepas resultaron biodegradadoras de Arsénico de las cuales se identificaron 6 especies: *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas putida*, *Enterobacter agglomerans*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus coagulans*. Se determinó que las especies *Bacillus sphaericus* y *Burkholderia cepacia* presentaron la mayor capacidad de biodegradar Cianuro y Arsénico, respectivamente.

Se han realizado tanto la oxidación como la fase reductora. Sin embargo, quedan por resolver algunos problemas técnicos. En particular, el óxido, aunque puro con respecto al tipo de óxido, está contaminado con el adsorbente de algas y todavía no se ha encontrado un medio no destructivo para eliminar el residuo orgánico.

4.2 Conclusiones

Se caracterizó el mineral de manganeso y los microorganismos para la biolixiviación, siendo la composición de este mineral de baja ley: Mn total 17% al 31%, SiO₂ 28%, Al₂O₃ 22%, Fe 8% con cantidades menores de Ti, B, K, Mg y Ca. El mineral contiene una amplia variedad de óxidos de manganeso esencialmente tetravalentes (14 óxidos registrados, por ejemplo, pirolusita, criptomelanc, todorokita, romanequita); y las especies de *Enterobacter* fueron los microbios ejecutivos a 30 ° C.

Se determinó los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas sin agitación a 30° C, los cultivos de enriquecimiento crudo tuvieron tasas de aproximadamente tres veces estos valores, se obtuvieron mejores tasas en condiciones microaeróbicas utilizando melaza de cultivos estáticos a 30 ° C, se alcanzaron tasas promedio de 0.8 g Mn²⁺ / L/d.

Se determinó los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas con agitación continua, alrededor del 71% de Mn²⁺ se lixivió en la fase estacionaria del cultivo, donde solo se utilizó el 8% de la melaza. En otras palabras, la lixiviación fue principalmente independiente del crecimiento y muy probablemente el resultado de la fermentación anaeróbica donde el óxido de manganeso actuaba como sumidero de electrones

Se determinó los efectos de la biolixiviación en prueba de botellas, en la mineralogía de las muestras y recuperación de manganeso, lo cual indicó que hubo una tendencia hacia tasas de lixiviación bacteriana más lentas en óxidos con estructuras más ordenadas o cristalinas como la pirolusita, los óxidos de manganeso que contienen

relativamente más pirolusita que criptomelano, fueron menos susceptibles al ataque bacteriano que aquellos con menos.

La reciente demostración de una reducción termofílica del dióxido de manganeso tiene importantes implicaciones para el futuro procesamiento bacteriano del mineral, el trabajo realizado se concentró en el uso de especies de Enterobacter que predominan a 30 ° C.

La eficiencia del sistema de lixiviación propuesto depende de las condiciones estáticas con una mezcla mecánica mínima, una de las dificultades técnicas a superar a temperaturas más bajas es la formación de lodos extracelulares que reducen rápidamente la permeabilidad en un reactor estático.

La operación a una temperatura más alta debería ayudar a superar este problema, la evidencia de una actividad viable a 70 ° C fomenta más estudios, particularmente en términos de manipulación de nutrientes. Un ejemplo del tipo de mejoras que podrían esperarse de una mejor nutrición proviene de la demostración de una mejora cuádruple con biotina añadida.

La ventaja de este tipo de lixiviación heterotrófica de óxidos radica en la capacidad de acelerar la biodegradación aumentando el suministro de carbono soluble y fuente de energía; la necesidad de aireación mínima y la consiguiente posibilidad de uso de condiciones termofílicas.

REFERENCIAS

- Alvarez, J. (2017). “*Evaluación de la Biooxidación de Concentrado Arsenopíritico Aurífero por Pretratamiento con Bacterias Quimiolitotrofas Acidófilas que Mejoren la Recuperación del oro por Cianuración en la Empresa Minera Eminsol S.A Bolivia – 2015*”. (tesis pre grado). Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú.
- Deng, X., Chai, L., Yang, Z., Tang, C., Wang, Y., & Shi, Y. (2012). “*Bioleaching mechanism of heavy metals in the mixture of contaminated soil and slag by using indigenous Penicillium chrysogenum strain F1*”. Journal of Hazardous Materials.
- Estrada, J. (2019). “*Evaluación de la lixiviación bacteriana de minerales mixtos de la mina Utcush para la recuperación de cobre – Huánuco – 2018*”. (tesis pre grado). Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión. Cerro de Pasco, Perú.
- Gadd, G. M. (2004). “*Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation*”. Geoderma. 109-119.
- Lugo, H. (2017). “*Lixiviación Acida de Pirolusita (MnO₂); Usando Ácido Nítrico (HNO₃) como Agente Oxidante*”. (tesis pre grado). Instituto Politécnico Nacional. México.
- Midence, R. y García, J. (2013). “*Evaluación del potencial de bio-lixiviación fungal autóctona e inoculada de metales en suelos sedimentos contaminados en la región*”

minera de Santo Domingo-Chontales”. (tesis pre grado). Universidad Centroamericana. Managua, Nicaragua.

Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería, Osinerming. (2016). *“Tecnología de la lixiviación bacteriana de minerales”*. Lima, Perú.

Palella, S. & Martins, F. (2012). *“Metodología de la investigación cuantitativa, Florencia, Venezuela”*. Recuperado de <https://www.docsity.com/es/disenio-tipo-nivel-y-modalidad-de-palella-y-martins/2733947/>

Pérez, M. & Mota, M. (2006). *“Morfología y Estructura Bacteriana”*. En: O. d. I. FEFMUR, ed. *Temas de Bacteriología y Virología Médica*. Montevideo: Universidad de la República, Departamento de Bacterología y Virología, pp. 23-42.

Rodríguez, Y (2012). *“Lixiviación ácida de escombros lateríticos a presión atmosférica”*. (tesis pre grado). Instituto superior minero metalúrgico DR. Antonio Núñez Jiménez. Moa, Cuba.

Silva, F. y Martínez, P. (2012). *“Complejo Enterobacter cloacae”*. Servicio de Laboratorio Clínico, Hospital Clínico Universidad de Chile.

Shinner, F., & Klauser, T. (2005). *“Feasibility Studies for Microbial Remediation of Metal-Contaminated Soil. En R. Margesin, & F. Shinner, Manual for Soil Analysis-Monitoring and Assessing Soil Bioremediation”*. (págs. 155-159).

Unda, N. (2020). *“Aislamiento e identificación de bacterias nativas biodegradadoras de Cianuro y Arsénico presente en relaves mineros de oro”*. (tesis pre grado).
Universidad Central de Ecuador. Quito, Ecuador.

Vargas, R. (2009). *“La Investigación aplicada: una forma de conocer las realidades con evidencia científica”*. Vol. (33), p.161.

ANEXOS

Anexo n° 01: Características de la pirolusita

Característica	Descripción	Fotografía
Nombre del Mineral	Pirolusita	
Formula Química	MnO ₂	
Color	Negro a gris oscuro.	
Brillo	Metálico	
Dureza	6-6.5	
Raya	Negro azulado	
Identificación	Soluble en ácido clorhídrico	
Habito	Dendrítico	
Transparencia	Opaco	
Sistema de Cristalización	Tetragonal	
Ambiente	Lacustres, depósitos marinos superficiales y zonas pantanosas, en la zona de oxidación de los yacimientos de manganeso o bien en depósitos formados por la circulación de agua de precipitaciones.	

Tabla donde se muestra las características generales de la pirolusita, la cual se encuentra presente en el depósito de bentonita de la concesión San Jorge de Chuchun.

Anexo n° 02: Características del manganeso

Característica	Descripción	Fotografía
Nombre del Mineral	Manganeso	
Formula Química	Mn	
Color	Gris plateado; los colores que presenta según el estado de oxidación: +2: rosa, +3: rojo, +4: marrón, +5: azul, +6: verde, +7: violeta	
Brillo	Metálico o metaloide	
Dureza	Para las variedades mullidas y terrosas: 2, para las cristalinas: dureza hasta 5 – 6.	
Raya	negra	
Sistema de Cristalización	Cubico	
Ambiente	Nunca se encuentra en la naturaleza en estado nativo. Debido a su gran afinidad por el oxígeno generalmente se presenta en forma de óxidos y también en la de silicatos y carbonatos.	

Anexo n° 03: Galería de fotos



Foto 1. Bentonita, arena, óxidos y manganeso. Este: 794356, Norte: 9206472 Cota: 2910 m.



Foto 2. Llegada al primer punto de muestreo de mineral. Este: 794356, Norte: 9206472 Cota: 2910 m.



Foto 3. Llegada al segundo punto de muestreo de mineral. Este: 794356, Norte: 9206472 Cota: 2910 m.



Foto 4. Llegada al tercer punto de muestreo de mineral. Este: 794356, Norte: 9206472 Cota: 2910 m.



Foto 5. Homogenizado y cuarteo de la muestra de mineral



Foto 6. Muestras para molienda



Foto 7. Molienda del mineral



Foto 8. Cargado de botellas con mineral



Foto 9. Prueba de lixiviación en botellas agitadas



Foto 10. Prueba de lixiviación en botella estática



Foto 11. Medición del pH



Foto 12. Monitoreo de muestra líquida

Anexo n° 04: Flujo de proceso de Biolixiviación

