



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Biorremediación de escorias mineras para obtención de mineral utilizable en siderurgia.

Alumno: Pedro Romero Bracero.

Jaén, Julio, 2019.



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Biorremediación de escorias mineras para obtención de mineral utilizable en siderurgia.

Alumno: Pedro Romero Bracero.

MEMORIA CIENTÍFICO-TÉCNICA
Convocatoria de subvenciones a «proyectos de I+D+i» universidades y entidades públicas de investigación (BOJA n.º 203, 18/10/2018)



Universidad	Jaén
Persona investigadora principal	Pedro Romero Bracero
Denominación del proyecto	Biorremediación de escorias mineras para la obtención de mineral utilizable en siderurgia.
Modalidad del proyecto	Proyecto de Investigación de Excelencia

Se incluirá junto con la solicitud una memoria científico-técnica, que deberá contener, entre otros los siguientes epígrafes :(apartado Octavo a) de la convocatoria)

1. Resumen de la propuesta y Abstract.
2. Antecedentes del proyecto.
3. Objetivos del proyecto.
4. Metodología y plan de trabajo. Tareas a realizar por los componentes del equipo de investigación. Cronograma.
5. Referencias.
6. Descripción, en su caso, del carácter multidisciplinar y transversal del proyecto. Patentabilidad.
7. Oportunidad del problema planteado para la economía andaluza, grado de innovación de la propuesta y justificación del potencial impacto científico y/o tecnológico del proyecto.



MEMORIA CIENTÍFICO-TÉCNICA

Convocatoria de subvenciones a «proyectos de I+D+i» universidades y entidades públicas de investigación (BOJA n.º 203, 18/10/2018)

8. Resultados esperados. Plan de difusión y explotación, en su caso.
9. Perfil profesional o formativo del personal solicitado para contratar con cargo al proyecto en cualquier modalidad (doctor, investigador predoctoral o técnicos de apoyo), con indicación de las tareas a realizar en el proyecto y priorización del mismo.
10. En el caso de que se prevea la subcontratación con terceros deberá indicarse importe a subcontratar, perfil de las empresas y tareas de investigación a realizar por las mismas.
11. Presupuesto detallado del proyecto y justificación del mismo*.
12. En el caso de proyectos en colaboración con empresas se deberá incluir en la memoria científico-técnica del proyecto un apartado en el que se establezca la empresa o empresas colaboradoras, el objeto de la colaboración, las condiciones generales de la misma, un presupuesto estimativo y los compromisos adquiridos por cada una de las partes.
13. Memoria específica sobre el impacto internacional del proyecto.

*El presupuesto detallado deberá coincidir con el presupuesto solicitado incluido en el formulario de solicitud). El presupuesto detallado deberá especificar equipos, material específico de investigación, gastos concretos de desplazamientos, asistencia a congresos relacionados con la difusión del proyecto, contrataciones a realizar, etc.

* Esta memoria no podrá ser modificada ni corregida una vez presentada la solicitud. Sólo se podrá subsanar aquellos aspectos que se requieran desde el órgano instructor.



INDICE.

1. RESUMEN DE LA PROPUESTA.....	5
1.1 Abstract.....	6
2. ANTECEDENTES DEL PROYECTO.....	7
3. OBJETIVOS DEL PROYECTO.....	11
3.1. Objetivo general.....	11
3.2. Objetivos particulares.....	11
4. METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO. TAREAS A REALIZAR POR LOS COMPONENTES DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN.....	12
4.1. Metodología.....	12
4.1.1 Muestras.....	12
4.1.2 Medios de aislamiento y enriquecimiento para <i>A. ferrooxidans</i>	12
4.1.3 Determinación de la concentración de Fe (III).....	13
4.1.4 Variables a analizar.....	13
4.2 Plan de trabajo y tareas a realizar por los componentes del equipo de investigación.....	15
4.3 Cronograma y tiempos totales acumulados.....	17
5.REFERENCIAS.....	18
6. DESCRIPCIÓN, EN SU CASO, DEL CARÁCTER MULTIDISCIPLINAR Y TRANSVERSAL DEL PROYECTO. PATENTABILIDAD.....	20
7. OPORTUNIDAD DEL PROBLEMA PLANTEADO PARA LA ECONOMÍA ANDALUZA, GRADO DE INNOVACIÓN DE LA PROPUESTA Y JUSTIFICACIÓN DEL POTENCIAL IMPACTO CIENTÍFICO Y/O TECNOLÓGICO DEL PROYECTO.....	22

8. RESULTADOS ESPERADOS. PLAN DE DIFUSIÓN Y EXPLOTACIÓN, EN SU CASO.....	23
9. PERFIL PROFESIONAL O FORMATIVO DEL PERSONAL SOLICITADO PARA CONTRATAR CON CARGO AL PROYECTO EN CUALQUIER MODALIDAD (DOCTOR, INVESTIGADOR PREDOCTORAL O TÉCNICOS DE APOYO), CON INDICACIÓN DE LAS TAREAS A REALIZAR EN EL PROYECTO Y PRIORIZACIÓN DEL MISMO.....	24
10. EN EL CASO DE QUE SE PREVEA LA SUBCONTRATACIÓN CON TERCEROS DEBERÁ INDICARSE IMPORTE A SUBCONTRATAR, PERFIL DE LAS EMPRESAS Y TAREAS DE INVESTIGACIÓN A REALIZAR POR LAS MISMAS.....	24
11. PRESUPUESTO DETALLADO DEL PROYECTO Y JUSTIFICACIÓN DEL MISMO*.....	25
12. EN EL CASO DE PROYECTOS EN COLABORACIÓN CON EMPRESAS SE DEBERÁ INCLUIR EN LA MEMORIA CIENTÍFICO-TÉCNICA DEL PROYECTO UN APARTADO EN EL QUE SE ESTABLEZCA LA EMPRESA O EMPRESAS COLABORADORAS, EL OBJETO DE LA COLABORACIÓN, LAS CONDICIONES GENERALES DE LA MISMA, UN PRESUPUESTO ESTIMATIVO Y LOS COMPROMISOS ADQUIRIDOS POR CADA UNA DE LAS PARTES.....	28
13. MEMORIA ESPECÍFICA SOBRE EL IMPACTO INTERNACIONAL DEL PROYECTO.....	28

1. RESUMEN DE LA PROPUESTA.

Las escorias de las explotaciones mineras representan un verdadero problema medioambiental y han sido objeto de diferentes investigaciones (Cravotta, 1998; Romero et al., 2007). Los depósitos a cielo abierto de las escorias mineras producen la contaminación por metales pesados (Cu; Pb; Cd; Hg; etc.) y metaloides (As) de los suelos, además de un acumulo de sulfuros, que, por oxidación, dan lugar a una acidificación de los suelos y provoca la aparición del drenaje ácido de las minas, así como la incorporación al mismo de sales, fundamentalmente sulfatos. En muchas ocasiones este drenaje ácido de las minas llega a las aguas subterráneas apareciendo en ellas metales y metaloides en suspensión y una importante modificación del pH del agua, principalmente una fuerte bajada del mismo hasta valores de 2 – 3. Finalmente, esta peligrosa contaminación llega a las aguas superficiales lo que provoca que se extienda la contaminación a productos agrícolas regados con estas aguas e incluso pueden contaminar los depósitos de agua destinados a su consumo humano. Además, la presencia de sulfatos en agua favorece la solubilización de metales pesados (Pb; Zn; Cu; Cd; etc.) con el evidente peligro para el desarrollo de la vida de esas aguas.

Acidithiobacillus ferrooxidans utiliza como fuente de carbono el CO₂ mientras que a partir de la oxidación del hierro y azufre obtiene la energía necesaria para sus procesos metabólicos. La capacidad de esta bacteria para oxidar compuestos ferrosos a compuestos férricos puede ser utilizada para la obtención de minerales férricos, que son los más útiles en la industria siderúrgica. Además de este beneficioso efecto en la economía, la conversión de gangas mineras en materia prima para la obtención de hierro, eliminaría un volumen considerable de escorias mineras, que se traduciría en un efecto para el medio ambiente.

El objetivo fundamental de este proyecto es la biotransformación por acción bacteriana de residuos mineros sin valor y con un alto peligro de contaminación medioambiental, en compuestos útiles en la industria siderúrgica, y, por tanto, eliminación del medio ambiente de compuestos con alta capacidad contaminante.

Para lograr este objetivo, aislaremos a partir del “drenaje ácido minero”, *A. ferrooxidans*, que posee una demostrada capacidad oxidante del ion Fe^{2+} a ion Fe^{3+} y analizaremos algunos de los factores que puedan optimizar este proceso de oxidación, como temperatura, pH y concentración salina del medio.

Palabras clave: Biorremediación, biolixiviación, escorias ferrosas, *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

1.1 Abstract.

Mining slag is a real environmental problem and has been under consideration by considerable research (Cravotta, 1998; Romero et al., 2007). The open-pit deposits of mining slag produce pollution by heavy metals (Cu; Pb; Cd; Hg; etc.) and metalloids (As) in the soil, as well as an accumulation of sulphides, which, through oxidation, results in acidification of the soil and cause the appearance of acid drainage from the mines, as well as the incorporation of salts, mainly sulphates. This acid drainage of the mines reaches often the underground waters appearing in them metals and metalloids in suspension and an important modification of the pH of the water, mostly a strong decrease of the same one up to values of 2 - 3. Finally, this dangerous pollution reaches the surface waters which causes the pollution of agricultural products irrigated with these waters and may even contaminate water tanks aimed to human consumption. In addition, the presence of sulphates in water favours the solubilisation of heavy metals (Pb; Zn; Cu; Cd; etc) with the evident danger for the development of the life of these waters. *Acidithiobacillus ferrooxidans* uses CO_2 as a carbon source while it obtains the energy necessary for its metabolic processes from the oxidation of iron and sulphur. The ability of this bacterium to oxidize ferrous compounds to ferric compounds can be used to obtain ferric minerals, which are the most useful in the iron and steel industry. Furthermore, this beneficial effect on the economy, the conversion of mining gangs into raw material for obtaining iron, would eliminate a considerable volume of mining slag, which would translate into an effect on the environment.

The foremost aim of this project is the biotransformation by bacterial action of mining waste without value and with a high risk of environmental pollution, into

useful compounds in the steel industry, and therefore, the elimination from the environment of polluting compounds.

Keywords: Bioremediation, biolixiviation, ferrous slag, *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

2. ANTECEDENTES DEL PROYECTO.

De acuerdo con lo establecido en la página web oficial del Ministerio para la Transición Ecológica del gobierno de España: los “residuos de las industrias extractivas”, denominados en la normativa española “residuos mineros” son aquellos residuos sólidos, acuosos o en pasta que quedan tras la investigación y aprovechamiento de un recurso geológico, como son los estériles de mina, gangas del todo uno, rechazos, y las colas de proceso e incluso la tierra vegetal y cobertura en determinadas condiciones, siempre que constituyan residuos tal y como se definen en la Ley 22/2011, de Residuos y Suelos Contaminados. La gestión de estos residuos, por sus características, se regula por el Real Decreto 975/2009, de 12 de junio, sobre gestión de los residuos de las industrias extractivas y de protección y rehabilitación del espacio afectado por actividades mineras.

Aunque el concepto de “escorias” metalúrgicas, en sentido estricto, suele estar referido a las impurezas y los subproductos que normalmente flotan en el interior de los crisoles donde tiene lugar la fundición de los minerales en el proceso de metalurgia, actualmente también se utiliza para definir los depósitos de materiales que contienen los compuestos “inútiles” de un determinado mineral (gangas) que quedan tras su explotación minera. En el ámbito de la ingeniería minera a estas escorias se les denomina: escombreras. Además de escorias, estos materiales sobrantes de la minería también se denominan escorrentías si se originan a partir de los drenajes líquidos de estos residuos.

Las escorias de las explotaciones mineras representan un verdadero problema medioambiental y han sido objeto de diferentes investigaciones (*Cravotta, 1998; Romero et al., 2007*). Los depósitos a cielo abierto de las escorias mineras producen la contaminación por metales pesados (Cu; Pb;

Cd; Hg; etc.) y metaloides (As) de los suelos, además de un acumulo de sulfuros, que, por oxidación, dan lugar a una acidificación de los suelos y provoca la aparición del drenaje ácido de las minas, así como la incorporación al mismo de sales, fundamentalmente sulfatos. En muchas ocasiones este drenaje ácido de las minas llega a las aguas subterráneas apareciendo en ellas metales y metaloides en suspensión y una importante modificación del pH del agua, principalmente una fuerte bajada del mismo hasta valores de 2 – 3. Finalmente, esta peligrosa contaminación llega a las aguas superficiales lo que provoca que se extienda la contaminación a productos agrícolas regados con estas aguas e incluso pueden contaminar los depósitos de agua destinados a su consumo humano. Además, la presencia de sulfatos en agua favorece la solubilización de metales pesados (Pb; Zn; Cu; Cd; etc) con el evidente peligro para el desarrollo de la vida de esas aguas.

Se conoce con el nombre de remediación a un conjunto de metodologías encaminadas para conseguir la degradación primero y después la descontaminación de compuestos químicos presentes en los residuos, urbanos o industriales. Cuando en las tecnologías aplicadas para este fin, los microorganismos, fundamentalmente las bacterias, juegan un papel predominante, podemos establecer el concepto de Biorremediación. Este tipo de tecnología está mostrando ser muy beneficiosos en el tratamiento de suelos y aguas con presencia de agentes contaminantes especialmente resistentes a los tratamientos convencionales de limpieza (*Madigan et al., 2015*). En la actualidad, y asociado al proceso de biorremediación, se encuentra el concepto de Biolixiviación, por el que se produce el tratamiento con microorganismos, de minerales que contienen concentraciones de metales, no económicamente rentable su extracción, y que tras un proceso con soluciones ácidas, se consigue su solubilización, favoreciendo y abaratando así su posterior extracción y de esta manera eliminar de la naturaleza residuos potencialmente contaminante y transformarlos en materia útil para su aprovechamiento siderúrgico-metalúrgico.

Desde la más remota antigüedad la minería ha sido una de las principales fuentes de riqueza de la península ibérica, lo que motivó la temprana llegada de civilizaciones más desarrolladas que la indígena como fueron, fenicios, griegos, cartagineses, romanos etc., atraídas por esta importante riqueza. Andalucía fue y continúa siendo, una zona de gran riqueza minera, especialmente son

abundantes los recursos en minerales metálicos en la provincia de Jaén (distrito Linares – La Carolina) donde existen mineralizaciones de galena, blenda, sulfuros de hierro y cobre (*Romero, 2006, y Soria, J. 2003*). Esta importante actividad minera ha generado un importante volumen de escorias que sin embargo presentan concentraciones variables de diferentes materiales. Recientemente se ha descrito que en zonas semiáridas como el Sur de la Península Ibérica se han caracterizado depósitos de escorias que muestran unos contenidos muy elevados en Ag (5-180 ppm), As (87-750 ppm), Ba (0.8-19.0 %), Cu (45-183 ppm), Fe (8.5-29.8%), Pb (511-2153 ppm), Sb (22-620 ppm), y Zn (639-8600 ppm), que han provocado la contaminación de las aguas subterráneas, materializada por la presencia de cantidades elevadas de Cu, Fe, Mn, Pb y Zn, así como por presentar cantidades significativas de As, entre otros contaminantes (*Navarro et al., 2008*).

En la actualidad un número importante de esos recursos mineros se encuentran agotados o bien la extracción mediante los procedimientos tradicionales, de los metales presentes en las menas de los minerales no es rentable desde el punto de vista económico y además los residuos generados por esta extracción constituyen un verdadero problema medioambiental (*Jambor et al., 2003*). Sin embargo la presencia de metales en los residuos mineros sí que pueden ser extraíbles a precios razonables con la ayuda de los modernos métodos en los que el empleo de bacterias, como son los agrupados en los denominados procesos de Biolixiviación y Biorremediación.

Desde los siglos X y XI, el yacimiento minero de Alquife (Granada) constituyó el potencial de hierro más importante de Europa y en menor proporción de cobre y plata, (*Romero, E. 2006*). Recientemente, septiembre de 2017, se ha aprobado el proyecto para la reapertura de este complejo minero. Esta actividad minera ha generado una gran cantidad de escorias mineras en las que siempre quedan cantidades importantes, aunque económicamente no rentables de hierro.

Desde el punto de vista siderúrgico, los minerales más utilizables para la obtención de hierro son aquellos que contienen compuestos (óxidos, hidróxidos y sulfatos) del Fe (III).

Aunque en las escorias mineras existen grandes cantidades de compuestos del Fe (II), no especialmente útiles para la siderurgia, existen bacterias

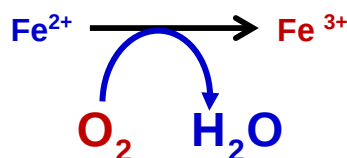
quimiolitotrofas capaces de obtener energía utilizando compuestos reducidos de Fe (II) como donantes de electrones y oxidarlos a Fe (III)

Acidithiobacillus ferrooxidans (Fam. *Acidithiobacillaceae*, Orden *Acidithiobacillales*, Clase *Gammaproteobacteria*, Filum *Proteobacteria*, Dominio *Bacteria*) es un bacilo Gram (-) acidófilo (pH óptimo 1.5 – 2.5) y quimiolitotrofo, que suele encontrarse en residuos o en el drenaje ácido de las minas (Merson, J. 1992) que utiliza como fuente de carbono el CO₂ mientras que a partir de la oxidación del hierro y azufre obtiene la energía necesaria para sus procesos metabólicos.

El esquema general del metabolismo energético de esta bacteria es:

Donante de electrones

Aceptor de electrones



Además *A. ferrooxidans*, puede fijar nitrógeno atmosférico para la síntesis de amonio (NH₄) esencial para la síntesis de nucleótidos y aminoácidos (Mackintosh, M. E. 1978).

Nuestra Hipótesis de trabajo es: dado que como hemos descrito con anterioridad, el punto de vista siderúrgico, los minerales más utilizables para la obtención de hierro son aquellos que contienen de Fe (III), la oxidación bacteriana de compuestos ferrosos, presentes en las escorias mineras hasta compuestos de Fe (III) puede ser muy ventajoso en la industria siderúrgica, siendo este bioproceso de relativa economía y eliminando de la naturaleza productos potencialmente contaminantes. *A. ferrooxidans* sin duda alguna y a nuestro juicio, puede ser el agente biológico más interesante para lograr este proceso de oxidación.

Para demostrar nuestra hipótesis, nos hemos planteado los siguientes objetivos:

3. OBJETIVOS DEL PROYECTO.

3.1. Objetivo general:

Incrementar los niveles de oxidación en gangas minerales ricas en compuestos ferrosos para la obtención de compuestos férricos, útiles en la industria siderúrgica, utilizando cepas de *A. ferrooxidans* aisladas en los drenajes ácidos procedentes de escorias mineras.

3.2. Objetivos particulares:

- 1.- Aislamiento de cepas nativas de *A. ferrooxidans* a partir de diferentes drenajes ácidos procedentes de escorias mineras.
- 2.- Determinación de los factores (Tamaño del inóculo, temperatura, y tiempo de incubación del cultivo bacteriano), que puedan incrementar la cinética oxidativa de *A. ferrooxidans*.

4. METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO. TAREAS A REALIZAR POR LOS COMPONENTES DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN. CRONOGRAMA.

4.1. Metodología.

4.1.1 Muestras.

Se utilizarán para este estudio muestras procedentes de los drenajes ácidos de los depósitos de escorias mineras existentes en el municipio granadino de Alquife procedentes de las explotaciones mineras de la zona, obtenidas en las cuatro estaciones climáticas anuales. Para los estudios comparativos se utilizará como control la cepa axénica de *Acidithiobacillus ferrooxidans* de la American Type Culture Collection (ATCC) 23270), conservada a 4°C. El drenaje ácido de la mina se filtrará utilizando papel Whatman N°42, para eliminar impurezas groseras. El filtrado se pasará a través de un filtro de membrana (Sartorius-Membrane Filter) de 0.22 micras de tamaño de poro, en el cual deben quedar retenidas las bacterias a ensayar.

4.1.2 Medios de aislamiento y enriquecimiento para *A. ferrooxidans*.

Para el aislamiento de *A. ferrooxidans*, a partir de las muestras procedentes de los drenajes ácidos mineros, se utilizará en medio de cultivo clásico para este tipo de bacteria, el medio 9K descrito ya en 1959 (*Silverman y Lundgren, 1959*). La composición de este medio es la siguiente:

(NH ₄) ₂ SO ₄	3.00 g
K Cl	0.10 g
K ₂ H PO ₄	0.50 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.50 g
Ca (NO ₃) ₂	0.01 g
H ₂ SO ₄ 10N	1.0 ml
FeSO ₄ 7H ₂ O	44.8 g como fuente de Fe (II)
Agar	5.0 g
Agua destilada	hasta 1 L

Como medio para el crecimiento de *A. ferrooxidans* en el laboratorio se utilizará el mismo medio 9K en estado líquido, es decir, sin utilizar el agar como agente gelificante. Los cultivos bacterianos obtenidos a partir de las colonias aisladas, se mantendrán en frascos Erlenmeyer, conteniendo 100ml de medio 9K líquido en agitación constante (shaker, 150-180 rpm) a las temperaturas de incubación a ensayar.

4.1.3 Determinación de la concentración de Fe (III).

La determinación de las concentraciones de Fe (III) en los medios de cultivo es difícil de realizar ya que, aunque las sales de Fe (II) son solubles en soluciones acuosas, las de Fe (III) son insolubles y por tanto precipitan depositándose en el fondo el frasco. Para soslayar este inconveniente lo que haremos será determinar la concentración de Fe (II) en el tiempo 0, es decir, antes de poner la suspensión bacteriana en el medio de cultivo, y volver a hacer la misma determinación transcurrido el tiempo de incubación bacteriana en el medio. La diferencia en las concentraciones de Fe (II) en los tiempos $t = 0$ y $t = t$, nos dará la idea de la oxidación de Fe (II) a Fe (III).

Las medidas de las concentraciones a distintos tiempos, se realizarán aprovechando la amplia experiencia en este tipo de determinaciones, del área de Química Analítica de la UJA, mediante la técnica de análisis por inyección de flujo (FIA) y detalladamente descrita por *Molina García, L (2012)*.

4.1.4 Variables a analizar.

Las variables que va a hacer objeto de nuestro estudio, con objeto de optimizar la cinética oxidativa de *A. ferrooxidans* sobre los compuestos ferrosos presentes en los drenajes ácidos de minas de hierro, serán:

Tamaño del inóculo. No existe en la bibliografía consultada, referencias al papel que pudiera representar el tamaño del inóculo en la capacidad oxidativa *in vitro* de *A. ferrooxidans*. Para analizar el posible efecto, los cultivos se inocularán con (1; 10 y 100) x 10⁶ bacterias / mililitro.

Temperatura de incubación. Aunque *A. ferrooxidans* es una bacteria medioambiental, las condiciones ambientales de la zona minera de donde se obtendrán las muestras a ensayar (Alquife, Granada) presenta una enorme

variedad climática a lo largo del año, desde temperaturas bajo cero en invierno hasta temperaturas que pueden rondar los 40°C en los meses de canícula. Por eso hemos creído conveniente analizar el efecto sobre la cinética de oxidación de *A. ferrooxidans* y de esta manera obtener información de la temperatura óptima para lograr la máxima capacidad en la obtención de compuestos ricos en Fe (III). Las temperaturas a las que se incubarán los medios de cultivo inoculados con *A. ferrooxidans* serán: 4; 20 y 35°C.

Tiempo de incubación. Al igual que con las otras variables, no existen datos que nos indiquen en que momento del cultivo se logra alcanzar la mayor velocidad de oxidación de *A. ferrooxidans* para pasar de Fe (II) a Fe (III). Creemos que este factor es de gran importancia el rendimiento económico de los procesos encaminados a incrementar los bioprocesos como éste encaminados al aprovechamiento de residuos mineros contaminantes del medio ambiente. Los diferentes tiempos de incubación de los medios de cultivo con *A. ferrooxidans* serán: 5; 10; 20 y 40 días.

4.2 Plan de trabajo y tareas a realizar por los componentes del equipo de investigación.

El tiempo total para completar el estudio objeto de este proyecto de investigación, es de 36 meses. Las tareas y los equipos del grupo de investigación encargados de la realización de las mismas, es el siguiente:

- **(1)** Puesta a punto de la metodología y preparación de medios de cultivo para el aislamiento de *A. ferrooxidans* utilizando la cepa ATCC 23270.

Tiempo: 3 meses en total, repartidos a lo largo de los 24 meses primeros del desarrollo del proyecto.

Personal: investigadores del área de Microbiología de la Universidad de Jaén.

- **(2)** Establecer las circunstancias óptimas para el crecimiento de *A. ferrooxidans* en nuestro laboratorio (temperatura y tamaño del inóculo).

Tiempo: 3 meses primeros del desarrollo del proyecto.

Personal: investigadores del área de Microbiología de la Universidad de Jaén.

- **(3)** Puesta a punto de las metodologías de análisis por inyección de flujo, encaminadas a poner de manifiesto la capacidad oxidativa de [Fe (II) a Fe (III)] de *A. ferrooxidans* ATCC 23270. Básicamente consistirán en la determinación de las concentraciones de Fe (II) en los medios de cultivo en el tiempo 0 (medio de cultivo sin inóculo bacteriano y el tiempo final de incubación del cultivo (6 meses).

Tiempo: 6 meses, a partir del primer mes de inicio del desarrollo del proyecto de investigación.

Personal: investigadores del área de Química Analítica de la Universidad de Jaén.

- **(4)** Preparación de medios de cultivo para el aislamiento, crecimiento y obtención de masa de *A. ferrooxidans*.

Tiempo: 2 meses, a partir de la finalización de la tarea (2).

Personal: investigadores del área de Microbiología de la Universidad de Jaén.

- **(5)** La recogida de muestras se realizará en las diferentes estaciones climáticas anuales.

Tiempo: 4 meses en total, repartidos en 4 grupos de 1 mes en cada inicio de la estación.

Personal:

- **(6)** Aislamiento de *A. ferrooxidans* en la muestras obtenidas y crecimiento en medio líquido de las cepas aisladas.

Tiempo: 8 meses, repartidos en 4 grupos de 2 meses, tras cada recogida de muestras.

Personal: investigadores del área de Microbiología de la Universidad de Jaén.

- **(7)** Determinación de las concentraciones de Fe (II) al inicio y al final del cultivo de *A. ferrooxidans* por parte de investigadores del área de Química Analítica de la UJA. (6 meses).

Tiempo: 8 meses en total repartidos en 4 grupos de dos meses cada uno, tras el crecimiento en el medio que contiene el compuesto de Fe (II) cuya oxidación a Fe (III), por parte de las cepas aisladas de *A. ferrooxidans* en las muestras utilizadas.

Personal: investigadores del área de Química Analítica de la Universidad de Jaén.

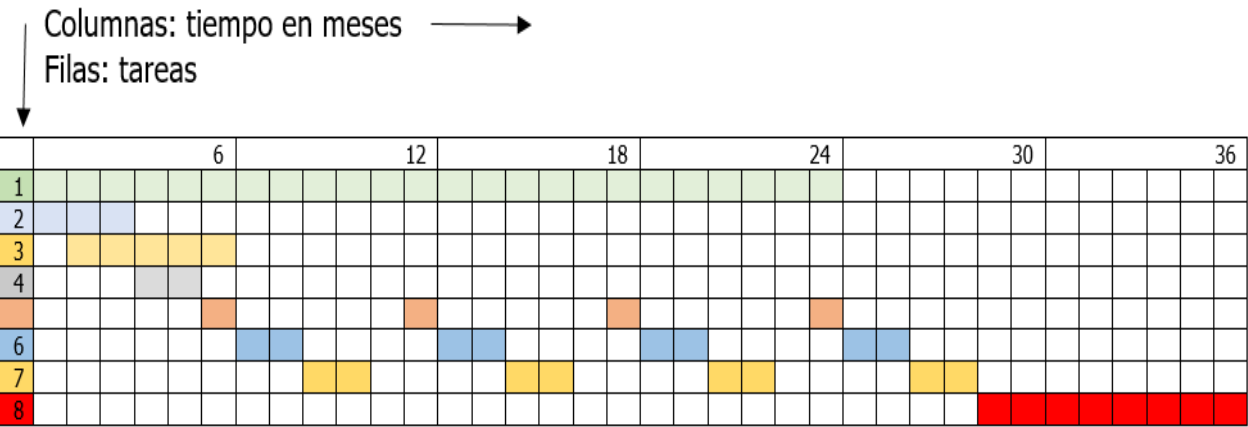
- **(8)** Análisis de los resultados y redacción de las ponencias y publicaciones de los resultados obtenidos en el desarrollo del proyecto de investigación. (6 meses)

Tiempo: 6 meses finales del periodo del desarrollo del proyecto de investigación.

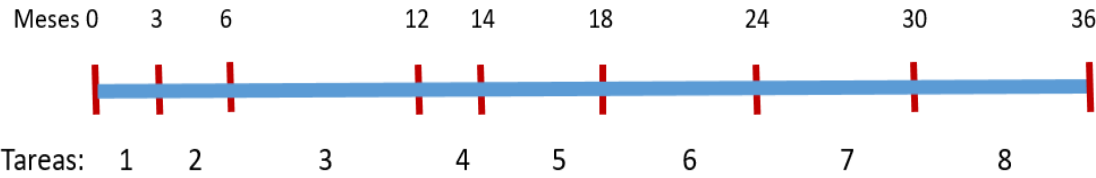
Personal: investigadores del área de Microbiología de la Universidad de Jaén.

4.3 Cronograma y tiempos totales acumulados.

Cronograma



Tiempos totales acumulados.



5. REFERENCIAS

Cravotta, C.A., 1998. Effect of sewage sludge on formation of acidic ground water at a reclaimed coal mine. *Ground Water*. 35: 9 - 19.

Jambor, J.L.; Blowes, D.W. y Ritchie, A.I.M. 2003. Environmental Aspects of Mine Wastes. Mineralogical Association of Canada, Short Course Series, vol. 31, 430 pp.

Laguna, C., González, F., García-Balboa, C., Ballester, A., Blázquez, M.L., Muñoz, J.A. 2011. Bioreduction of iron compounds as a possible clean environmental alternative for metal recovery. *Minerals Engineering* 24: 10 – 18.

Lloyd, J.R., Lovley, D.R., Macaskie, L.E., 2003. Biotechnological application of metalreducing microorganisms. *Adv. Appl. Microbiol.* 53:85 – 92.

Luu, Y.S., Ramsay, J.A., 2003. Review: microbial mechanism of accessing insoluble Fe(III) as an energy source. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 19, 215 – 225.

Mackintosh, M. E. 1978. Nitrogen fixation by *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Gen. Microbiol.* 105:215 - 218.

Madigan, T., Martinko, J.M., Bender, K.S., Buckley, D.H. y Stahl, D.A. 2015. Brock biología de los microorganismos. P. 12. 14ª edición. Pearson Educación, S.A., Madrid.

Merson, J. 1992. Mining with microbes. *New Scientif*, 133:17-19.

Molina García, L. 2012. Análisis de principios y constituyentes naturales o contaminantes de alimentos mediante sensores luminiscentes de flujo. Tesis Doctoral. Universidad de Jaén.

Navarro, A., Cardellach, E., Mendoza, J.L., Corbella, M. y Domènech, J.L. 2008. Metal mobilization from base-metal smelting slag dumps in Sierra Almagrera (Almería, Spain). *Applied Geochemistry* 23:895 - 913.

Romero, E. (2006). Recursos Mineros. pp 33 – 34. Universidad de Huelva. Huelva.

Romero, F.M.; Armienta, M.A. y González-Hernández, G. 2007. Solid-phase control on the mobility of potentially toxic elements in an abandoned lead-zinc mine tailings impoundment, Taxco, Mexico. *Applied Geochemistry*, 22: 109 - 127.

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

Soria Carreras, Juan. 2003. Los residuos mineros. En *Los residuos urbanos y asimilables*. Pp 461 – 492. Junta de Andalucía. Sevilla.

6. DESCRIPCIÓN, EN SU CASO, DEL CARÁCTER MULTIDISCIPLINAR Y TRANSVERSAL DEL PROYECTO. PATENTABILIDAD.

Este Proyecto de Investigación, a nuestro juicio es un adecuado ejemplo del carácter multidisciplinar que la investigación de hoy día requiere para el logro de resultados de la misma de interés social, que aunque se va a desarrollar en un importante porcentaje del mismo, en el laboratorio del área de Microbiología de la UJA, debemos destacar que los resultados que nos darán idea de la eficacia de la biotransformación de productos procedentes de los residuos mineros, con nulo valor económico y un importante efecto contaminante, en un producto muy interesante desde el punto de vista de la industria sidero-metalúrgica, además de retirar del medio ambiente compuestos gran importancia contaminante, deben ser obtenidos en el laboratorio del área de Química Analítica de nuestra Universidad, sin esta colaboración sería totalmente imposible el correcto desarrollo de este Proyecto de Investigación.

Sin duda alguna éste, es un buen ejemplo de la colaboración entre áreas del conocimiento, en principio, muy distintas entre sí, pero cuya colaboración es imprescindible en la obtención de una posible solución para la resolución, por una parte, de un problema medioambiental y por otra parte, colaborar en el desarrollo socio-económico de zonas de nuestra comunidad deprimidas en este ámbito.

No cabe duda que la presencia de residuos procedentes de la extracción minera, posee un importante impacto medioambiental. Un adecuado proceso de biotransformación, como el diseñado en este Proyecto de Investigación, supone la eliminación de dicho impacto y el desarrollo de industria de la zona afectada por dicho impacto. Por tanto, la demostración experimental de la actividad oxidante de bacterias de los compuestos ferrosos presentes en escorias mineras en compuestos férricos de mayor interés económico, supondría una más que excelente alternativa en el desarrollo de las zonas mineras, muy deprimidas en la actualidad.

Sí que es importante destacar, que de las cepas de *A. ferrooxidans* aisladas a partir de las escorias mineras utilizadas la que, de acuerdo con los resultados de

nuestro Proyecto de Investigación, muestren una mayor capacidad para la transformación de compuestos ferrosos en férricos, serían muy buenas candidatas para ser objeto de patente para su explotación comercial.

Los objetivos propuestos, los ensayos a realizar y la metodología aplicada se incluyen en las distintas áreas de conocimiento que se indican:

Microbiología:

- Aislamiento y posterior cultivo de cepas de *A. ferrooxidans* a partir de las muestras obtenidas en las escorias mineras procedentes de las minas de Alquife en la provincia de Granada.

Crecimiento en condiciones óptimas de las cepas seleccionadas de *A. ferrooxidans* para el proceso de biotransformación de Fe (II) → Fe (III) en las distintas variables objeto del presente Proyecto de Investigación.

Química Analítica:

Determinación de las concentraciones en los sobrenadantes de los medios de cultivo utilizados, de Fe (II) y Fe (III).

7. OPORTUNIDAD DEL PROBLEMA PLANTEADO PARA LA ECONOMÍA ANDALUZA, GRADO DE INNOVACIÓN DE LA PROPUESTA Y JUSTIFICACIÓN DEL POTENCIAL IMPACTO CIENTÍFICO Y/O TECNOLÓGICO DEL PROYECTO.

No cabe duda que Andalucía ha representado un importante papel en el sector minero de España. En la actualidad, este predominante papel ha disminuido en gran medida en general, pero en el caso de la minería del hierro, ha desaparecido totalmente. Tan solo tiene una cierta actividad la minería de los óxidos de hierro (ocres) destinados a su utilización en la obtención de colorantes y en la producción de cemento. Sin embargo, en nuestra comunidad autónoma persisten importantes depósitos de residuos procedentes de las minas, sobre todo en Peñarroya (Córdoba) y Alquife (Granada), antaño utilizadas para la extracción de minerales de hierro destinados a la industria siderúrgica. Estos residuos no sólo no representan aporte económico alguno a la sociedad, sino que representa un importante problema medioambiental. Un efectivo proceso de biotransformación de los óxidos ferrosos, no útiles a la industria, en compuestos férricos, mucho más rentables desde el punto de vista siderúrgico, sin duda alguna podría contribuir al incremento de la riqueza de estas zonas, hoy día muy deprimidas, y produciría además una demanda importante en mano de obra, mucha de la cual de media y alta cualificación.

Además, permitiría el desarrollo científico en una de las áreas de mayor futuro a nivel mundial, la biotecnología aplicada a la transformación de compuestos de alto impacto medioambiental en otros que generan riqueza socio-económica en zonas actualmente deprimida. Además, permitiría la potenciación de grupos de investigación dedicados a las aplicaciones biotecnológicas para la solución de potenciales problemas de contaminación. Ello permitiría realizar una llamada para atraer no sólo a investigadores, sino también a inversiones de capitales para uno de los ámbitos de mayor proyección de cara al futuro, la preservación del medio ambiente natural. Convertir Andalucía en un importante foco de desarrollo de la biotecnología ambiental y de obtención de metales industriales, puede ser a nuestro juicio, una importante aportación de este Proyecto de Investigación.

8. RESULTADOS ESPERADOS. PLAN DE DIFUSIÓN Y EXPLOTACIÓN, EN SU CASO.

De acuerdo con lo que ocurre de forma natural, la transformación que ocurre de forma lenta pero continua por la que los óxidos ferrosos presentes en las escorias de las explotaciones mineras, son oxidados hasta óxidos férricos, tal como demuestra la existencia de los llamados “drenajes ácidos de la minas” y de lo recogido en la bibliografía científica que trata este tema, en estos acúmulos de residuos mineros existe una microbiota, entre la que destaca la presencia de bacteria oxidantes del hierro, responsable de realizar estas oxidaciones (*Laguna et al., 2011*). Además de las propias condiciones climáticas como temperatura, grado de humedad, existen también condiciones bióticas, como la competencia con otras comunidades microbianas por los nutrientes, la producción de bacteriocinas que inhiben el crecimiento de otras comunidades bacteriana, que inhiben en gran medida la capacidad oxidativa de bacterias como *A. ferrooxidans* que *in vitro* han manifestado una intensa actividad oxidativa de los compuestos ferrosos (*Luu, Y.S., Ramsay, J.A., 2003*).

El desarrollo de este Proyecto de Investigación permitirá encontrar las condiciones óptimas para que *A. ferrooxidans* realice este proceso oxidativo, optimizando la cinética de este proceso, del que no existe duda alguna ya ocurre, aunque forma mucho más lenta, en la naturaleza (*Madigan et al 2015*).

Los resultados y el estudio de los mismos, serán objeto de las correspondientes comunicaciones y envío para su publicación en congresos y revistas científicas tanto nacionales como internacionales de mayor índice de impacto.

Además, tanto la cepa de *A. ferrooxidans* aislada en nuestro Proyecto de investigación con mayor capacidad para la oxidación bacteriana de compuestos ferrosos, será propuesta, de acuerdo con la normativa de la Universidad de Jaén, para su patente y posterior explotación en caso de que existiera por parte de la industria, interés por la misma.

9. PERFIL PROFESIONAL O FORMATIVO DEL PERSONAL SOLICITADO PARA CONTRATAR CON CARGO AL PROYECTO EN CUALQUIER MODALIDAD (DOCTOR, INVESTIGADOR PREDOCTORAL O TÉCNICOS DE APOYO), CON INDICACIÓN DE LAS TAREAS A REALIZAR EN EL PROYECTO Y PRIORIZACIÓN DEL MISMO.

En este Proyecto de Investigación no se prevé la contratación de personal con cargo al mismo.

10. EN EL CASO DE QUE SE PREVEA LA SUBCONTRATACIÓN CON TERCEROS DEBERÁ INDICARSE IMPORTE A SUBCONTRATAR, PERFIL DE LAS EMPRESAS Y TAREAS DE INVESTIGACIÓN A REALIZAR POR LAS MISMAS.

En este Proyecto de Investigación no se prevé la subcontratación con terceros.

11. PRESUPUESTO DETALLADO DEL PROYECTO Y JUSTIFICACIÓN DEL MISMO.

A nuestro juicio el presupuesto que presentamos es más que ajustado a la investigación que nos proponemos realizar, es imprescindible la dedicación en exclusiva al proyecto de al menos, dos personas, al menos una de las cuales debe tener la formación suficiente y necesaria para actuar como coordinadora de las tareas investigadoras, es decir se requiere de una persona doctora y con experiencia demostrada en las investigaciones de este ámbito. Sin embargo, creemos que, con la actual plantilla de investigadores de las áreas de Microbiología y Química Analítica, es suficiente para desarrollar las tareas investigadoras que requiere este Proyecto de Investigación, por lo que no se requiere de la contratación de ningún investigador a cargo del Proyecto.

En cuanto al capítulo de gastos de ejecución, si bien en principio pudiera resultar alta, el alto coste de medios de cultivo por un lado y los complejos instrumentos y reactivos que se van a utilizar en la determinación de las concentraciones de iones ferroso y férrico, requieren de un importante aporte económico. Este apartado de gastos de ejecución se completará con la adquisición de material informático de uso imprescindible en equipos de investigación tan amplios como el nuestro.

Debemos hacer constar que en el capítulo de gastos complementarios se incluye los gastos de publicación de los resultados de la investigación y de asistencia a los diferentes Congresos para dar a conocer a la comunidad científica dichos resultados.

Gastos elegibles (art. 12.2 Orden 11-12-2007)	Coste actividad	Otros incentivos concedidos	Incentivo solicitado CICE
Gastos de personal	0,00		0.00
Gastos de contratación de personal investigador.			
Gastos de traslado del investigador de reconocido prestigio (en su caso).			
Gastos de ejecución	60000,00		60000,00
Costes de adquisición o reparación de instrumental o material	60000,00		60000,00
Costes de edificios utilizados durante el período de ejecución del proyecto.			
Costes de investigación contractual, conocimientos técnicos y patentes.			
Costes asociados a la obtención y validación de patentes y otros derechos.			
Costes de consultoría y servicios equivalentes.			
Gastos complementarios	10000,00		10000,00
Gastos de desplazamiento, viajes, estancias y dietas (derivados del proyecto).	3000,00		3000,00
Gastos de material de promoción, catálogos, folletos, cartelería ,etc.			
Gastos externos de comunicación y documentación			

(proyectos de difusión, sensibilización, etc)			
Servicios externos de formación.			
Gastos de inscripción en congresos y seminarios relacionados con la actividad.	4000,00		4000.00
Otros gastos de funcionamiento derivados de la actividad de investigación.	3000,00		3000,00
TOTAL	70000,00		70000,00

12. En el caso de proyectos en colaboración con empresas se deberá incluir en la memoria científico-técnica del proyecto un apartado en el que se establezca la empresa o empresas colaboradoras, el objeto de la colaboración, las condiciones generales de la misma, un presupuesto estimativo y los compromisos adquiridos por cada una de las partes.

Éste, no es un proyecto en colaboración con empresas.

13. MEMORIA ESPECÍFICA SOBRE EL IMPACTO INTERNACIONAL DEL PROYECTO.

La producción minera de hierro en el año 2018, a nivel mundial, está liderada por Australia, con una producción 774 millones de toneladas métricas, seguida muy de lejos por Brasil que produjo en ese mismo año 411 millones de toneladas métricas. El primer país europeo que aparece en este ranking es Rusia con 102 de toneladas métricas y a continuación está Ucrania con 58 de toneladas métricas y Suecia con 37 de toneladas métricas de este mineral. Este último país está considerado como líder europeo en el sector minero y en la actualidad está haciendo importantes esfuerzos para lograr una actividad minera sostenible teniendo en cuenta tres aspectos: el ecológico, el natural y el cultural. Además, otros países nórdicos, como Finlandia y Noruega están retornando a la vuelta a poner en explotación de su potencial minero, haciéndolo atractivo para las inversiones de los grandes capitales financieros. Entre los nuevos proyectos mineros objeto de atención debemos destacar sin duda el de Kaunisvaara, perteneciente a la empresa sueca Northland Resources, que empezó a producir en 2013. En la actualidad el sector minero sueco da trabajo de forma directa a 10 000 trabajadores y de forma indirecta a 35 000. Hoy día tiene una gran importancia la creación y desarrollo de los parques tecnológicos, en este sentido debemos resaltar el creado en el distrito norteño de Skellefteå Västerbotten que es un importante centro de desarrollo e innovación, siendo sede de importantes centros de excelencia en investigación e innovación, universidades y entidades gubernamentales ligadas a la minería. Además, de acuerdo con la asociación

minera sueca (*SveMin*), en la actualidad esta actividad posee un volumen de negocio de 7 000 millones de dólares que esperan triplicar hacia el año 2025.

En 2008 la Unión Europea (UE) realizó un estudio en el que se analizaron qué minerales son los más indispensables para que las industrias no dejen de funcionar, y se puso de manifiesto que muchos de los países ricos en esos recursos mineros padecen de una situación política y social peligrosamente inestable, por lo que planteaba la posibilidad de establecer algún tipo de almacenaje de estos minerales que evitara cualquier tipo de escasez.

En el resto de Europa la situación es mucho peor, las principales cuencas mineral en general y las de mineral de hierro o están agotadas o su producción mediante metodologías clásicas no es ni económica ni ecológicamente, rentable. Ante esta situación, la biotecnología minera puede representar una verdadera opción para hacer rentable la vuelta a la producción de minerales de hierro, tanto de nuevos yacimientos, como, y, sobre todo, hacer rentables la actividad minera de antiguos y agotados recursos.

La capacidad oxidativa de algunas bacterias, entre las que destaca *A. ferrooxidans*, produce la oxidación de sales ferrosas, poco útiles desde el punto de vista metalúrgico, a sales férricas mucho más rentables desde el punto de vista minero-industrial y por tanto también desde el socio-económico.

Este proyecto de investigación pretende maximizar la capacidad oxidativa de esta bacteria, aislada a partir de su hábitat natural, para su posible utilización en la recuperación de compuestos ferrosos presentes en las escorias de minas de hierro para la obtención de material útil en la industria minero-siderúrgica. Para ello modificaremos las variables: tamaño del inóculo, temperatura y tiempo de incubación hasta obtener las condiciones óptimas para la oxidación de los minerales de hierro

Si logramos aislar primero y mantener en las adecuadas condiciones de cultivo y capacidad de bio-oxidación una cepa de *A. ferrooxidans* se podría pensar en su utilización para la reactivación de numerosas zonas mineras europeas, actualmente cerradas, lo que ha provocado una importante recesión socioeconómica -en ellas, y hacerlo de forma sostenible desde el punto de vista

de la eliminación de parte de los residuos minero que tanto afectan al medio ambiente.