

**“BIOLIXIVIACIÓN DE URANIO EN PILAS
A PARTIR DE COLAS DE MINERAL”**

***CARRERA DE ESPECIALIZACIÓN EN RADIOQUÍMICA Y
APLICACIONES NUCLEARES***

Alumna: Farm. Daniela Edhit Camporotondi

Directora: Ing. María Jimena Arias

Agosto 2018



UNSAM
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE
SAN MARTÍN

Índice

Agradecimientos.....	3
Resumen	4
Introducción	6
Antecedentes.....	20
Objetivos.....	27
Materiales y métodos.....	28
Resultados y discusión.....	33
Conclusión	50
Referencias bibliográficas.....	51
Anexos	55

*“Es preciso tener un caos dentro de sí
para poder dar luz a una estrella”*

Friedrich Nietzsche

Agradecimientos

Ante todo, quisiera agradecer a mi directora de trabajo, María Jimena Arias, por la dedicación, tiempo y apoyo que me ha brindado para poder realizar este trabajo. A mis directores de beca, Mauricio Chocrón y Patricia Silva Paulo, por el aporte a la realización de todas las tareas necesarias.

Quisiera agradecer especialmente a Rubén Mazzei, mi primer director en el área de investigación, quien siempre me ha apoyado y orientado en mi formación científica.

A mis compañeros Alejandro Kinbaum, Valeria Díaz, y demás integrantes de la División Procesos Químicos e Ingeniería (Gerencia Química – CAC) y del Departamento Procesos por Radiación (GATER – CAE).

Por último, muchas gracias a Edgardo Donati, director del Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI, CONICET - Universidad Nacional de La Plata), por las cepas bacterianas cedidas para poder realizar el presente trabajo.

Resumen

El ciclo de combustible nuclear refiere a todas las operaciones involucradas en la obtención de un combustible destinado a ser utilizado en una central nuclear. El mismo comienza con la extracción del mineral uranífero desde las minas, la concentración, conversión, enriquecimiento y fabricación de los elementos nucleares que luego fisiónan en el reactor; y finaliza con el almacenamiento temporal, reprocesamiento y almacenamiento definitivo de los residuos generados.

Dentro de este ciclo, la lixiviación es la etapa en la cual el uranio es solubilizado mediante el uso de ácidos y agentes oxidantes que lo llevan a su estado de oxidación (VI). El resultado de esta etapa es, por un lado, la obtención de un lixiviado que contiene el metal de interés y, por otro lado, un resto de mineral o “cola” que contiene normalmente entre un 10 y 20% de U remanente. Estas colas deben ser gestionadas y remediadas antes de su disposición final.

Para ello, pueden utilizarse técnicas biotecnológicas que nos ofrecen la posibilidad de recuperar metales aún contenidos en las colas, sin generar costos elevados. Así, podemos mencionar la biolixiviación, la cual consiste en la solubilización de un determinado metal bajo la acción directa o indirecta de microorganismos a partir de un mineral. Entre sus características podemos mencionar: mejor eficiencia de extracción en minerales de baja ley, disminución en el costo de producción, y disminución del uso de grandes cantidades de ácido. Al momento, se han realizado estudios a escala laboratorio (frascos de erlenmeyer 100-250mL), con resultados alentadores, de biolixiviación de uranio y molibdeno para la recuperación del remanente en colas de mineral, previamente tratado bajo extracción convencional. Los microorganismos involucrados son bacterias del género *Acidithiobacillus*, organismos quimiosintéticos, autotróficos y acidófilos, con habilidad de oxidar minerales con producción de ácido sulfúrico y especies oxidantes, permitiendo la liberación de los valores metálicos contenidos en ellos.

El plan de trabajo consiste en realizar ensayos de biolixiviación de colas en un modelo de pilas a escala laboratorio. Para ellos, se inocularon las especies *Acidithiobacillus ferrooxidans* DSM 11477 y *Acidithiobacillus thiooxidans* DSM 11478, previamente adaptados a la presencia de metales, en una concentración inicial de 10^7 células/mL, sobre 600g de mineral de un yacimiento argentino que contiene U y Mo remanentes. Se evaluaron dos alternativas: por un lado, utilizar como solución lixiviantes agua destilada ajustada a pH=2, y por otro utilizar agua

remanente del lixiviado agotado proveniente de la etapa de purificación por extracción con solventes (obtenido de ensayos previos). El ensayo se desarrolló a temperatura ambiente durante 90 días, tomando muestras a diferentes tiempos para determinar: pH, ORP, concentración de hierro (II) (UV-Visible) concentración de uranio, molibdeno y hierro (ICP-OES), y recuentos celulares (microscopía óptica de contraste de fases).

De esta forma, se logró extraer tanto uranio como molibdeno en los sistemas evaluados, demostrando además que es posible reutilizar las corrientes acuosas provenientes de otros procesos, reduciendo el consumo de agua y de flujo de efluentes del proceso hidrometalúrgico general.

Introducción

Ciclo del Combustible Nuclear

El ciclo del combustible nuclear abarca un conjunto de operaciones necesarias para la fabricación y tratamiento de los elementos combustibles utilizados en las centrales nucleares (figura 1). Comprende todas las operaciones desde:

- ✿ exploración, prospección y extracción del mineral uranífero (blenda) en las minas,
- ✿ la concentración del uranio y la obtención de la “yellow cake” (U_3O_8),
- ✿ los procesos químicos de conversión a UF_6 y UO_2 con un dado enriquecimiento en el isótopo físil (^{235}U),
- ✿ la fabricación de los elementos combustibles nucleares que alimentan un reactor de potencia para generar energía eléctrica,
- ✿ almacenamiento de los elementos combustibles quemados de manera transitoria y su posterior reprocesamiento,
- ✿ disposición final de los productos de fisión como residuos de alta actividad.

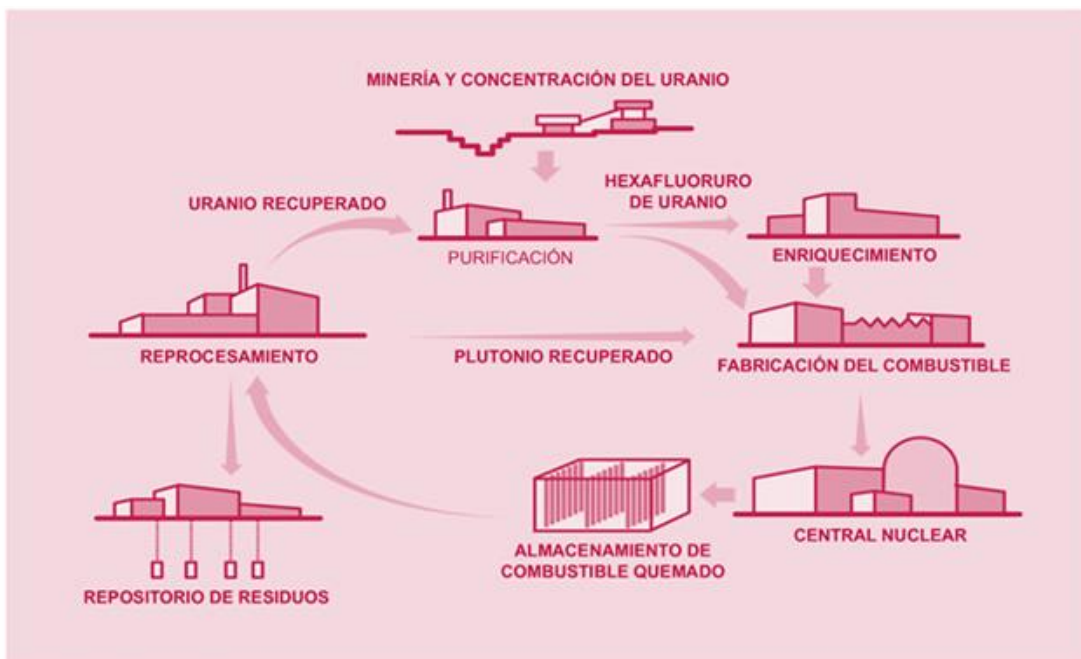


Figura 1. Esquema de las etapas del Ciclo de combustible nuclear [1].

Dentro del proceso hidrometalúrgico del uranio, se incluyen las tareas desde la extracción hasta la obtención del óxido de uranio concentrado. El mineral procedente de las minas

contiene entre 0,1 y 0,2% de U_3O_8 , mientras que el concentrado de uranio tiene entre 75 y 85%. La obtención de este concentrado abarca:

- ✿ Clasificación
- ✿ Trituración
- ✿ Almacenamiento
- ✿ Molienda
- ✿ Lixiviación
- ✿ Separación sólido-líquido
- ✿ Purificación
- ✿ Precipitación
- ✿ Secado / calcinación
- ✿ Concentrado de uranio

La clasificación del mineral consiste en evaluar el contenido de uranio a los fines de decidir si es apto para ingresar al proceso de extracción. El mineral aceptado es homogeneizado y triturado hasta la granulometría deseada para disminuir el volumen de trabajo. Luego se almacena hasta ingresar al proceso de molienda, donde es mezclado con agua y el tamaño de partícula disminuye hasta 0,84 y 0,07mm, dependiendo de los requerimientos en la etapa de lixiviación.

Así se llega a la etapa de lixiviación, donde se extrae el uranio, normalmente por tratamientos químicos convencionales, tanto por vía ácida como vía alcalina. La lixiviación alcalina utiliza una solución de carbonato/bicarbonato de sodio y se emplea generalmente cuando el mineral contiene un alto porcentaje de carbonatos. La lixiviación ácida utiliza en general una solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) como lixivante, ya que el ácido nítrico (HNO_3) forma compuestos incompatibles y su costo es más elevado, en tanto que el ácido clorhídrico (HCl) es más costoso y corrosivo.

La lixiviación en medio ácido es la más empleada debido a su mayor efectividad de extracción en la mayoría de los minerales y que no requiere una molienda fina como la lixiviación alcalina. Para mantener las condiciones requeridas, se emplean oxidantes como dióxido de manganeso (MnO_2), clorato de sodio, permanganato de potasio o cloro gaseoso.

La lixiviación puede realizarse in situ, en pilas, por percolación o lixiviación convencional. En la lixiviación in situ la solución lixivante se inyecta en las capas de minerales del yacimiento, para recolectar el producto en galerías subterráneas y luego enviarlo a la planta de tratamiento. En

este caso, el yacimiento debe ser permeable a la solución y debe estar naturalmente impermeabilizado a los fines de evitar la contaminación de napas subterráneas.

La lixiviación en pilas consiste en colocar mineral triturado en capas de varios metros de altura sobre una base impermeable para evitar contaminación al medio ambiente. La pila se riega con solución lixivante y se recircula hasta obtener una concentración de uranio aceptable. En esta técnica el riego de la pila debe ser homogéneo, puede ser por aspersión o distribución de goteo.

En la lixiviación por percolación se emplea un recipiente que contiene un lecho filtrante donde se contacta el mineral y la solución acuosa. Este método no se emplea con minerales arcillosos de granulometría fina debido a que se dificulta la lixiviación.

La lixiviación convencional consiste en la agitación de la pulpa formada por el mineral molido y la solución lixivante, hasta lograr la disolución del uranio. Se emplean tanques agitados por aire mediante el cual se suministra oxígeno elemental, tanques agitados mecánicamente, o una combinación de ambos.

Una vez finalizado este proceso, se procede a la separación sólido-líquido, donde por filtración se obtiene una solución limpia, clarificada por sedimentación, mediante la implementación de una serie de decantadores en contracorriente, y por otro lado el sólido es lavado y acumulado como pulpa residual o cola.

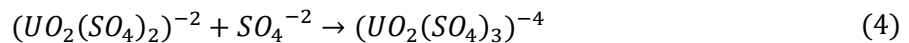
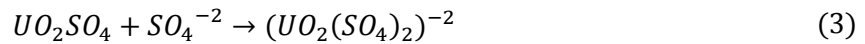
Posteriormente se concentra y purifica el lixiviado, mediante resinas de intercambio iónico, extracción por solvente o una combinación de ambas. Por precipitación, se recupera el uranio concentrado empleando reactivos tales como NaOH, NH_4OH , $\text{Mg}(\text{OH})_2$, H_2O_2 , o NH_3 gaseoso, y posterior filtración del mismo.

La pulpa que contiene el precipitado de uranio se concentra por centrifugación y se seca o calcina. Las condiciones de estas operaciones dependen del tipo de proceso del precipitado de uranio empleado. Finalmente se obtiene como producto el concentrado de uranio, denominado “yellow cake”, por su color amarillo característicos.

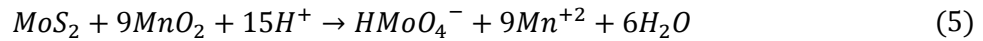
Origen de las colas de mineral

El mineral en estudio, contiene una alta proporción de molibdeno asociado al uranio. Su ley es aproximadamente del 0,2% de uranio y 0,1% de molibdeno con relación variable de Mo/U.

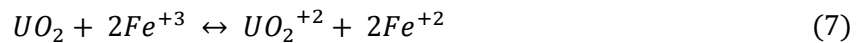
Durante el tratamiento de recibido, el mineral es lixiviado por vía ácida en tanque agitado utilizando como reactivos ácido sulfúrico y dióxido de manganeso. Las reacciones que ocurren en este paso son [2]:



El molibdeno en medio ácido se comporta de acuerdo a la ecuación (5):



Asimismo, el uranio puede oxidarse mediante intermediarios como el dióxido de manganeso, el cual oxida el hierro divalente contenido en el mineral a Fe^{+3} , y este último oxida el uranio de su estado tetravalente (insoluble) a hexavalente (soluble), mediante las reacciones (6) y (7):



Llegada la etapa de extracción, el proceso se realiza mediante de extracción por solventes en un mecanismo contracorriente, en cuatro etapas de agitación-decantación utilizando una amina terciaria como agente extractante, purificando y separando el uranio de todas las impurezas presentes en el lixiviado. Tanto el uranio como el molibdeno son extraídos a la fase orgánica, quedando una fase acuosa o "lixiviado agotado", que ingresa a la planta de tratamiento de aguas.

Dentro de este proceso, ya se han realizado estudios [3] sobre una propuesta de mejora, a los fines de contribuir a reducir el volumen de efluentes y residuos, y con el objetivo de incrementar el rendimiento de la producción de uranio (figura 2).

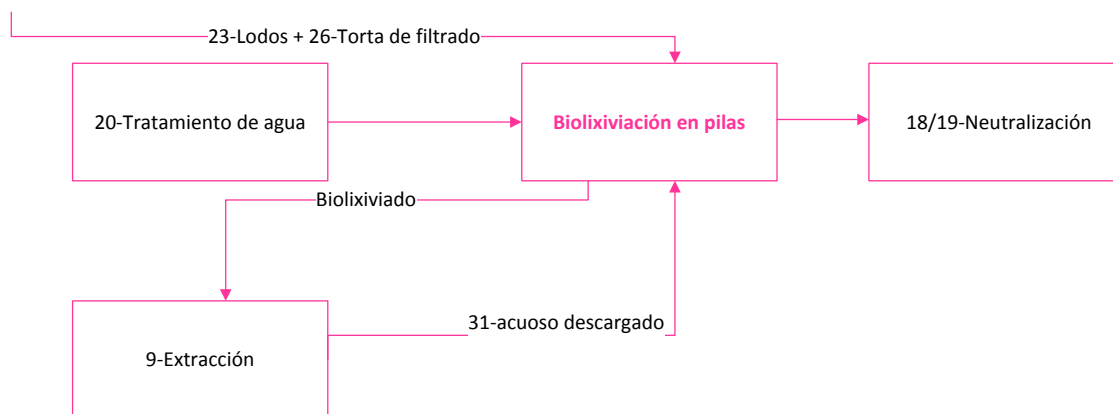


Figura 2. Propuesta de mejora para la recuperación de uranio residual y reutilización de corrientes acuosas del proceso de lixiviación convencional. Ver Anexo I.

Dentro del proceso hidrometalúrgico del uranio (Anexo I), la recuperación de este elemento se realiza mediante biolixiviación de colas de mineral (corrientes 23 + 26), que luego es mezclado con lixiviado convencional y ambos enviados a la etapa de purificación mediante extracción por solvente empleando una amina terciaria. Con esto se busca elevar el rendimiento de la producción de uranio. Asimismo, se evalúa la utilización del lixiviado agotado (corriente 31) para el proceso de biolixiviación, con el fin de reducir el volumen de efluentes del proceso y el consumo de agua.

Biolixiviación

La interacción de los microorganismos con algunos minerales ha resultado de gran interés para su aplicación en la recuperación de metales valiosos, dada su naturaleza robusta, simple, ambientalmente segura y poco costosa en comparación con los métodos tradicionales. Teniendo en cuenta estas ventajas, en los últimos 30 años se han realizado numerosos estudios en materia de biominería, en muchos casos con aplicación exitosa a escala industrial.

La biolixiviación ha sido utilizada en varios países dando como resultado una mejor eficiencia de extracción en minerales de baja ley, disminución en el costo de producción, y disminución del uso de grandes cantidades de ácido [4, 5], como así también un proceso industrial más limpio. Las bacterias con capacidad lixivante se encuentran en los filos Proteobacteria (*Acidithiobacillus*, *Acidiphilium*, *Acidiferrobacter*, *Ferrofum*), Nitrospirae (*Leptospirillum*), Firmicutes (*Alicyclobacillus*, *Sulfobacillus*), y Actinobacteria (*Ferrimicrobium*, *Acidimicrobium*, *Ferrithrix*)[6].

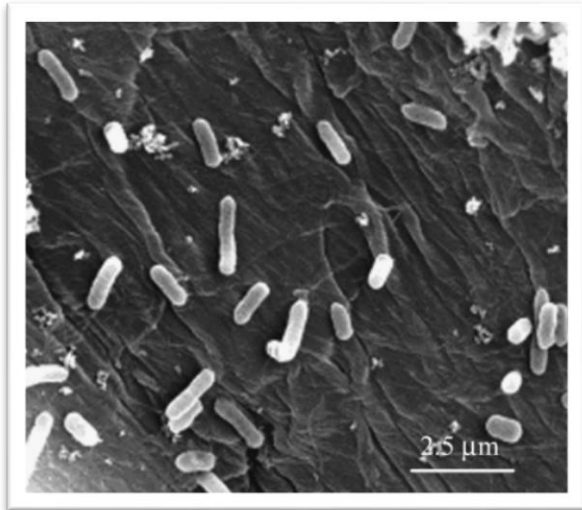
Existen plantas explotadas comercialmente a escala industrial de recuperación de oro y cobre por biolixiviación en Sudáfrica (Fairview), Brasil (Sao Bento), Australia (HarbourLights), Ghana (Sansu) y Chile (Lo Aguirre, Cerro Colorado, Quebrada Blanca, Ivan-Zar). Las mismas emplean el proceso BIOX®, en el cual se utilizan los microorganismos *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, entre otras.

En la década del 80, se realizaron en Canadá trabajos de investigación y desarrollo en esta materia con buenos resultados que fueron interrumpidos finalmente por el hallazgo de nuevos yacimientos con alto contenido de uranio [7].

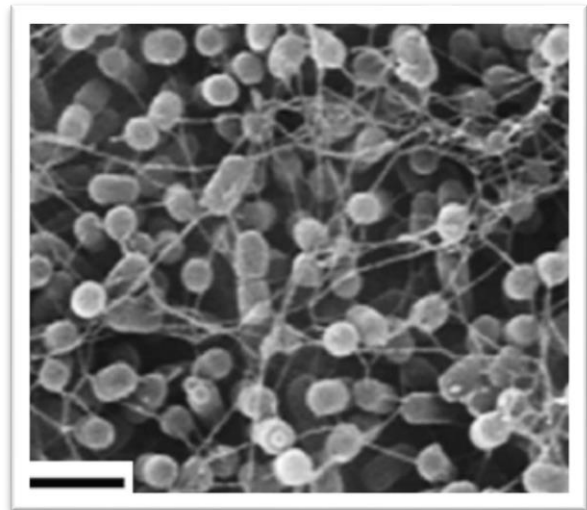
Las bacterias más utilizadas en biominería oxidan iones ferrosos, azufre elemental y otras formas reducidas del mismo para producir iones férricos y ácido sulfúrico que generan el entorno propicio para la oxidación y disolución del mineral. Se emplean especies bacterianas acidófilas que trabajan en rango de pH de 0,5 a 4, donde el rango más efectivo se encuentra entre 1,1 y 2,8 [2]. Estas bacterias pueden ser autotróficas o heterotróficas, dependiendo de la fuente de carbono utilizada: Si la fuente de carbono es inorgánica (dióxido de carbono - CO₂) son autotróficas, mientras que si es orgánica son heterotróficas [8].

Las especies involucradas en biolixiviación son autotróficas obligadas y acidófilas obligadas, es decir que sólo pueden utilizar fuentes de carbono inorgánico, sobreviven únicamente a pH ácidos, y la mayor parte de ellas son capaces de utilizar el ion ferroso y/o los compuestos de azufre reducido como fuentes de energía [9].

La más estudiada de todas es *Acidithiobacillus ferrooxidans*, la cual fue la primera en ser aislada con éxito. Se trata de bacilos gram negativos, con un tamaño 0,5 a 0,6µm de diámetro por 1,0 a 2,0µm de longitud, capaces de oxidar iones ferrosos y especies reducidas de azufre, incluso S⁰, en medio ácido, con un pH óptimo entre 1,8 y 2,5. Por su parte, *Acidithiobacillus thiooxidans* es morfo y fisiológicamente similar a *A. ferrooxidans* (figura 3). Utiliza compuestos sulfurados como fuente de energía, como ser CuS, PbS y ZnS, no así FeS₂, sin embargo, no es capaz de oxidar iones Fe⁺². Tolerancia pH entre 0,5 y 5,5, y es comúnmente encontrada en entornos ricos en azufre. Por último, se destaca asimismo la especie *Leptospirillum ferrooxidans*, la cual tiene mayor afinidad por los iones ferrosos para su oxidación, es menos sensible a la inhibición por Fe⁺³, y es más propensa a la adhesión a la superficie de los minerales.



(a)



(b)

Figura 3. Micrografías SEM de *A.ferrooxidans* (izquierda) [10] y biofilm de *A.thiooxidans* (derecha) [11]. La barra en (b) representa 2 μ m.

Las bacterias heterotróficas emplean como fuente de carbono materia orgánica presente en el medio, como azúcares simples, alcoholes de bajo peso molecular, ácido cítrico y/o glicerol, entre otros. Toleran pH entre 1,9 y 6,1, y sufren inhibición en presencia de ácido acético. Este tipo de microorganismos se encuentran normalmente presente en el mineral, y entre ellos podemos mencionar las especies *Adiciphillum acidophilum*, *Thiobacillus acidophilus*, *Thiobacillus cuprinus* (figura 4).

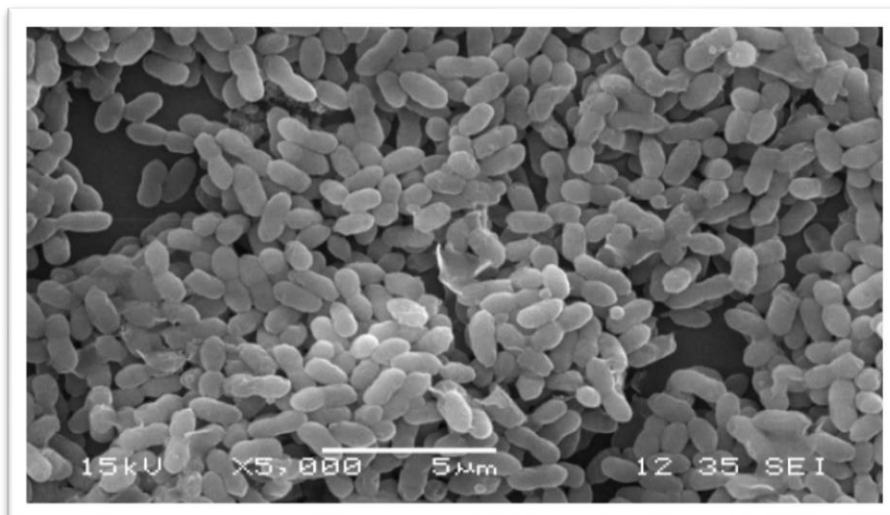


Figura 4. Micrografía SEM de *Acidiphilium* sp. [12]

Son de importancia en los casos en que hay altas concentraciones de materia orgánica, generando una interacción positiva (figura 5), dado que producen CO_2 que es utilizado por consorcios autotróficos [13].

Durante el proceso de biolixiviación, es fundamental controlar factores fisicoquímicos, como la temperatura de operación, pH, el potencial de oxidorreducción, la cantidad de oxígeno disuelto, requerimientos nutricionales, como así también efectos de diseño operacional (por ejemplo características de agitación y del recipiente), el tamaño de la partícula mineral y su composición, la cantidad de mineral a ser procesado, pudiendo causar efectos inhibitorios de encontrarse fuera de rango óptimo [14].

Para su aplicación en la minería del uranio y metales relacionados, se utilizan los mismos microorganismos que obtienen energía oxidando el hierro y el azufre presentes en los concentrados. Resulta principalmente de la acción de bacterias del género *Acidithiobacillus*, organismos quimiosintéticos y autotróficos con habilidad de oxidar minerales con producción de ácido sulfúrico y especies oxidantes, permitiendo la liberación de los valores metálicos contenidos en ellos.

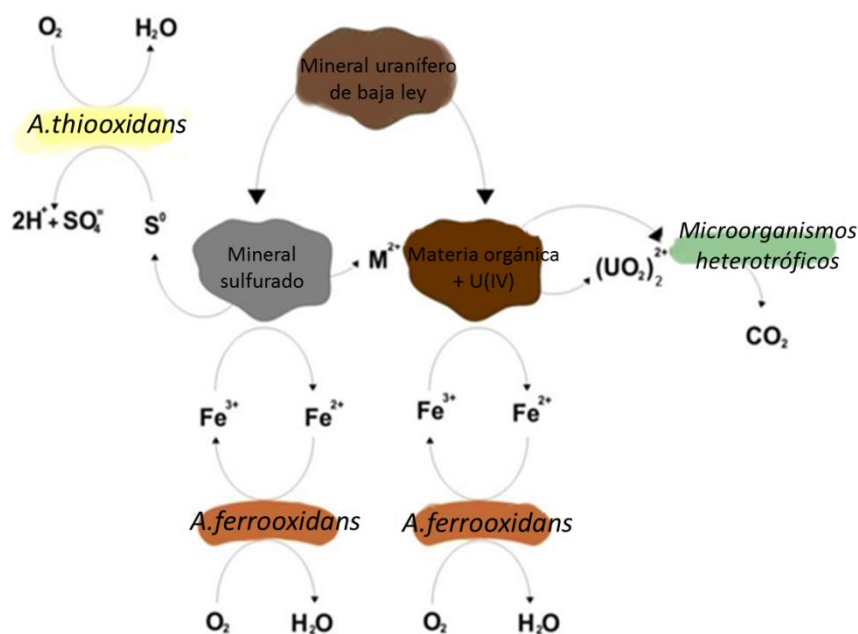


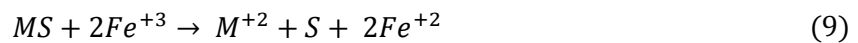
Figura 5. Rol de los microorganismos en la biolixiviación de uranio (Adaptación [8]).

La biolixiviación puede ocurrir, teóricamente, mediante dos mecanismos generales: directo o indirecto [15, 16], aunque se cree que para el caso del uranio, sólo este último está presente

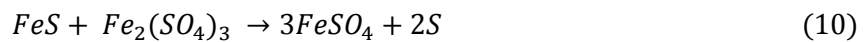
[6]. El mecanismo directo implica una transferencia directa de electrones desde el metal sulfurado (MS) hacia las células adheridas a la superficie del mineral. Este mecanismo se representa por la reacción 8:



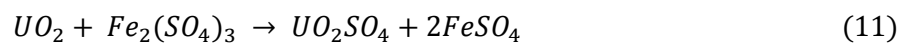
El mecanismo indirecto no necesariamente requiere la adherencia de las células al sulfuro metálico. Este proceso ocurre por acción de los iones férricos y especies sulfuradas oxidantes, generados biológicamente por acción de las bacterias planctónicas o adheridas. Los iones férricos disuelven metales sulfurados, reduciéndose a Fe^{+2} para ser empleados nuevamente por las bacterias. Las reacciones involucradas se representan de la siguiente manera:



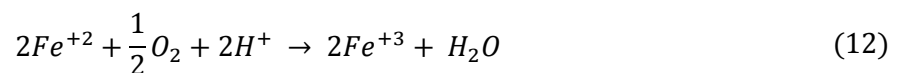
Oxidación del sulfuro ferroso:



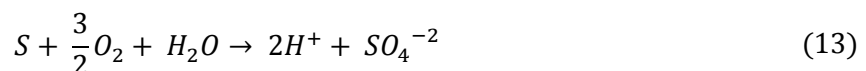
Oxidación del uranio:



Acidithiobacillus ferrooxidans:



Acidithiobacillus thiooxidans:



Las condiciones óptimas de oxidación se obtienen de la inoculación de bacterias junto con el mineral, agitado en un tanque aireado a temperaturas de entre 15 y 40 °C en un rango de pH de 0,8 a 3,0. La oxidación biológica juega un rol activo en la lixiviación en pilas de minerales de uranio [17].

La ecuación (13) aplica a las especies del uranio que requieren disolución ácida (valencia VI), mientras que la ecuación (11), a las especies que requieren oxidación (valencia IV).

Este mecanismo ha despertado creciente interés tanto para los investigadores que estudian problemas de naturaleza biológica, como así también por su aplicación en la recuperación industrial de minerales de baja ley, cuyo procesamiento empleando métodos metalúrgicos tradicionales no resulta rentable.

Esta nueva metodología requiere baja inversión de capital, ya que las bacterias pueden ser aisladas a partir de aguas ácidas de minas, presenta bajo costo en las operaciones hidrometalúrgicas en comparación con los procesos convencionales y no genera contaminación ambiental durante el proceso.

Técnicas de biolixiviación a nivel industrial

La biolixiviación a escala industrial puede llevarse a cabo: *in situ*, en botaderos (dump), en pilas (heap), o en tanques agitados (tank) [18, 19]. Los tres primeros son similares en cuanto a su operación, y en estos casos es importante contar con la presencia de sulfuros, a los fines de evitar la incorporación exógena y aumentar el costo del proceso.

Lixiviación in situ

Se utiliza en minerales de baja ley, en minas abandonadas con zonas fracturadas o bien, yacimientos profundos menores a los 300 metros, con o sin necesidad de drenaje. La solución fértil es colectada por debajo de la mena, y llevada para purificación. Se esquematiza en la figura 6. La lixiviación *in situ* es ambientalmente más atractiva, permite aumentar la recuperación de metales de interés, y debido a su aplicación a yacimientos profundos, es económicamente más rentable que los procesos de minería convencionales.

Entre sus desventajas podemos mencionar la limitación respecto a las condiciones naturales específicas que se deben dar para poder implementar esta técnica (alta permeabilidad de la mena con baja permeabilidad del suelo circundante), y los recaudos que deben tomarse a los fines de evitar contaminaciones en el agua subterránea.

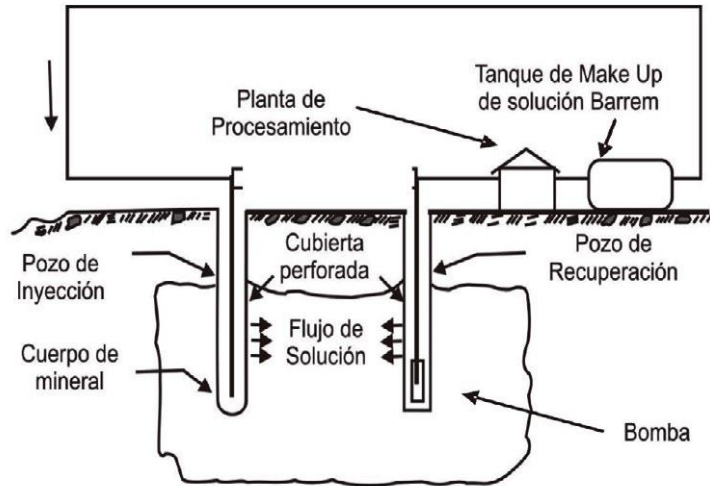


Figura 6. Diseño de un sistema de biolixiviación in situ.

Lixiviación en botadero

También utilizado en minerales de baja ley, constituyen sobrecargas de las operaciones de minado, donde el botadero es construido sobre el declive natural del terreno, la base debe ser impermeable (figura 7). En general se utiliza para mineral sin tratar, sin moler, o en pilas de minerales consideradas residuos. La solución lixivante se aplica desde la superficie, y percola naturalmente a través de las rocas.

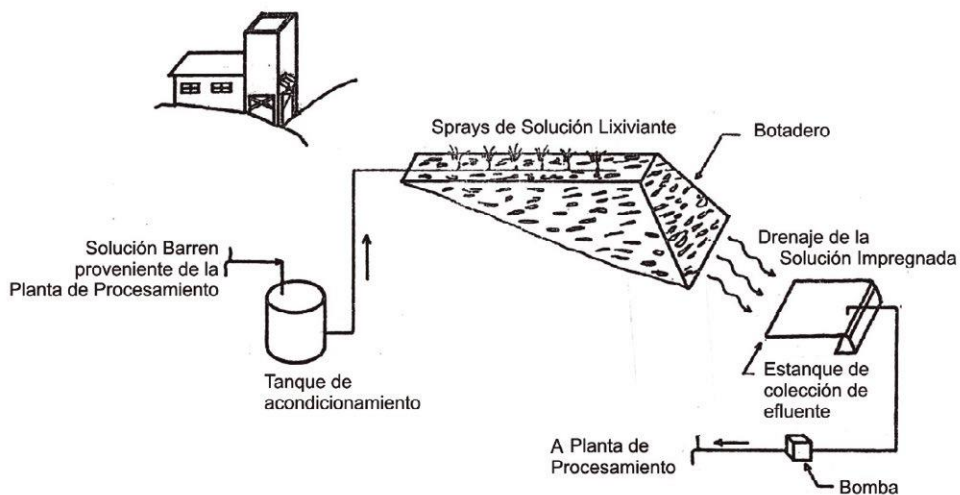


Figura 7. Diseño de un sistema de biolixiviación en botadero.

En estos sistemas, puede emplearse el método de inundación, donde una parte de botadero es cubierto totalmente con la solución lixivante hasta que el contenido del metal en la solución resultante obtenga un valor determinado. Es posible que ocurra la formación de canales y

cortos circuitos de la solución, la velocidad de flujo en los sistemas de inundación es enteramente dependiente de la permeabilidad.

Lixiviación en pila

Similar a la lixiviación en botaderos, constituye una técnica con mayor control sobre el proceso. El mineral extraído de la mena, generalmente oxidado y de baja ley, es triturado y dispuesto sobre una superficie impermeabilizada (figura 8). El volumen de las pilas varía de 100,000 a 500,000 toneladas, con un espesor de 3 a 7 metros, con tamaños de mineral que varían de 5 a 30cm. La solución lixivante inoculada con bacterias con capacidad biolixivante es irrigada en la cima de estas pilas, y colectada para su posterior extracción. Asimismo, un sistema de aireación debe ser implementado en la base de la pila, para favorecer el desarrollo microbiano en todo el volumen.

Por otro lado, el tiempo de lixiviación se da en meses a diferencia de años que se da para los botaderos.

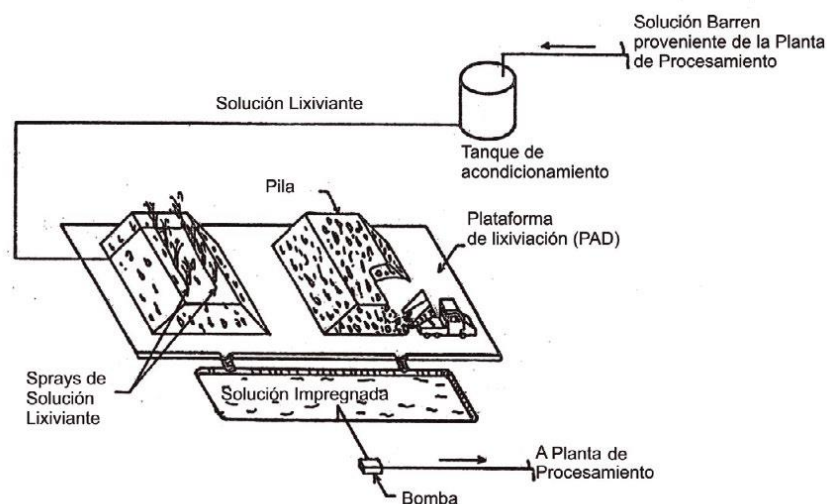


Figura 8. Diseño de un sistema de biolixiviación en pila.

Lixiviación en tanques agitados

Es la técnica de elección para minerales de ley elevada, dada su rapidez y alto costo. El mineral debe ser molido a un tamaño de partícula muy pequeño para su ingreso a este tipo de proceso, entre 150 a 38 μ m, y los tiempos de contacto en agitación y aireación no superan las 15 horas. Además, deben tenerse en cuenta la densidad de pulpa (40-70%), acidez final y temperatura. La agitación se puede lograr con aire (reactores Air-lift), por agitación mecánica,

o una combinación de ambos. Es de elección para el tratamiento de menores volúmenes, donde sea requerido un mayor grado de control durante el proceso.

Tanque agitado vs. Pila de lixiviación

A continuación, se detalla un cuadro comparativo [8] entre el proceso de biolixiviación en tanques agitados y en pilas (tabla 1). En la elección del proceso, debe considerarse la calidad del agua a utilizar, que de contener altas concentraciones de cloruros o cationes, puede impactar en la actividad microbiana, así como la presencia de residuos orgánicos provenientes de la recirculación de corrientes acuosas desde otras etapas.

Tabla 1. Comparación de las características que impactan en el crecimiento y actividad microbiana en un modelo de tanque agitado y uno de pilas.

	Tanque agitado para el procesamiento de concentrados	Pilas para el procesamiento de la mena completa
Fuente de energía	Sustrato abundantemente suministrado, disminuyendo significativamente en reactores secundarios y terciarios.	Escaso suministro de sustratos, no todo se encuentra expuesto.
Humedad	Sistema saturado.	Sistema no saturado. Distribución ineficiente de la solución; posible formación de canales, con zonas secas o inundadas.
pH - Acidez	pH controlado en el seno de la solución; posibles variaciones localizadas si el mezclado resulta insuficiente.	Gradientes de pH a través de la pila, especialmente al inicio.
Temperatura	Temperatura controlada a la cual la población microbiana se adapta.	La variación de temperatura depende de la mineralogía de la mena, pre-tratamientos, reacciones y operación.
Oxígeno y dióxido de carbono	En general es un sistema homogéneo, aireado vigorosamente. Puede ser suplementado con oxígeno y dióxido de carbono. Las densidades de pulpa pueden afectar la transferencia de masa de estos gases.	Sistema heterogéneo. Hay gradientes de dióxido de carbono y oxígeno a lo largo de la pila, y posibilidad de existencia de zonas anóxicas.
Agitación	Alta densidad de pulpa. Impacto físico sobre las células por elevadas intensidades de agitación y aireación.	Sin agitación. Flujos de aire y solución, posible colapso de partículas durante la lixiviación. Bajo impacto físico sobre las células.
Distribución del tamaño de partícula	Distribución homogénea, usualmente del orden de los micrones, volviéndose más pequeñas durante la lixiviación y aumentando de tamaño por productos de reacciones secundarias.	Distribución heterogénea, que varía desde micrones a milímetros: las partículas se disgregan en el tiempo generando finos.
Inóculo	Inóculo inicial mezclado con medio de cultivo; no se toman precauciones para evitar colonización por otros microorganismos. Provisión y monitoreo requeridos para los niveles de fósforo, nitrógeno, magnesio y potasio.	Se inocula durante el acondicionamiento ácido o luego del armado de la pila, vía soluciones recicladas. La colonización natural puede ser promovida por adición de fertilizantes a las soluciones de reserva. Grandes volúmenes de inóculos pueden ser requeridos para alcanzar condiciones especiales.
Composición de la solución	Dependiendo del concentrado de mineral y las condiciones de procesamiento, las concentraciones de elementos en los lixiviados llegan a: Zn 65g/L, Fe 60g/L, Cu 35g/L, Ni 25g/L, As 20g/L, Co 5g/L, Mg <1g/L, y sulfato 145g/L. La fuerza iónica toma valores de hasta 8,2, influenciada especialmente por las concentraciones de Fe(III) y sulfatos. Estos valores varían entre los reactores primario, secundario y terciario.	Dependiendo de la mineralogía de la mena y las condiciones de procesamiento, las concentraciones de elementos en los lixiviados llegan a: Al 25 g/L, Fe 25g/L, Zn 23g/L, Mg 10g/L, Cu 6g/L, Ni 5g/L, As 8g/L, Co <1g/L, y sulfato 130g/L. La fuerza iónica toma valores de hasta 7,6, influenciada especialmente por las concentraciones de Fe(III), As(III) y sulfatos. Estos valores varían en los refinados y soluciones intermedias utilizadas para irrigar las pilas.
Productos de reacciones secundarios	Óxidos, hidróxidos e hidroxisulfatos de hierro (III), azufre elemental. Formación de depósitos sobre las partículas, generación de precipitados y sulfuros.	Óxidos, hidróxidos e hidroxisulfatos de hierro (III), azufre elemental, yeso; precipitados secundarios y modificados de silicatos. Formación de depósitos sobre las partículas, generación de precipitados y sulfuros.
Reactivos orgánicos	Reactivos de flotación, extracción por solventes; restos celulares provenientes de la muerte microbiana.	Reactivos de extracción por solventes, materia orgánica proveniente de las menas, restos celulares provenientes de la muerte microbiana.

Antecedentes

Previo al desarrollo de este trabajo, se han realizado diferentes ensayos en el laboratorio para evaluar el proceso en condiciones ideales de transferencia de masa (agitación, tamaño de partícula) y temperatura.

Inóculo de bacterias heterotróficas

Para ello, en una primera etapa se utilizó mineral lixiviado con concentraciones de Uranio de 180 mg/kg, 10677 mg/kg de Hierro y 85,8 mg/kg de Molibdeno, y un tamaño de partícula menor a 0,149mm.

Para los ensayos de biolixiviación se utilizó medio de cultivo 9K modificado con la siguiente composición: 3,0g (NH₄)₂SO₄; 0,1g KCl; 0,5g KH₂PO₄; 0,5g MgSO₄·7H₂O; 0,144g Ca(NO₃)₂, 44,2g FeSO₄·7H₂O, 10g S°, agua destilada c.s.p. 1000mL, pH=2.

Los cultivos se realizaron en frascos Erlenmeyer de 1L, al 10% de densidad de pulpa, en agitación constante 150rpm a una temperatura de 30°C.

Las concentraciones de U, Mo y Fe total fueron determinadas a distintos tiempos mediante un equipo ICP-OES Perkin Elmer Optima 5100 DV.

Se tomaron micrografías en microscopio electrónico de barrido del mineral antes y luego del tratamiento, utilizando un equipo Phillips 515 con unidad de microanálisis EDAX, previa liofilización de las muestras.

Se ensayaron dos condiciones: mineral previamente lixiviado, sin ningún tratamiento adicional previo a estos ensayos; y mineral adicionado de un inóculo inicial, de forma tal de obtener una concentración de 10⁴ células/mL de *Acidiphilium acidophilum* DSM700, microorganismos mesófilos, acidófilos, heterotróficos y sulfooxidantes, previamente cultivados y en fase de crecimiento exponencial.

Los resultados obtenidos respecto a la extracción de U y Mo pueden observarse en la figura 9 [20, 21]. Se detecta una diferencia significativa de lixiviación en la condición inoculada, la cual se correlaciona con el aumento de la población microbiana (*Anexo II*).

Por su lado, el mineral sin tratar presentó un menor porcentaje de extracción y crecimiento bacteriano correspondiente a los microorganismos nativos presentes desde el yacimiento.

Se cuantificó un porcentaje de recuperación del 99,1% de U y 19,0% de Mo en presencia de *Acidiphilium acidophilum*, mientras que en ausencia de inóculo se recuperaron aproximadamente un 80,0% de U y < 0,5% de Mo.

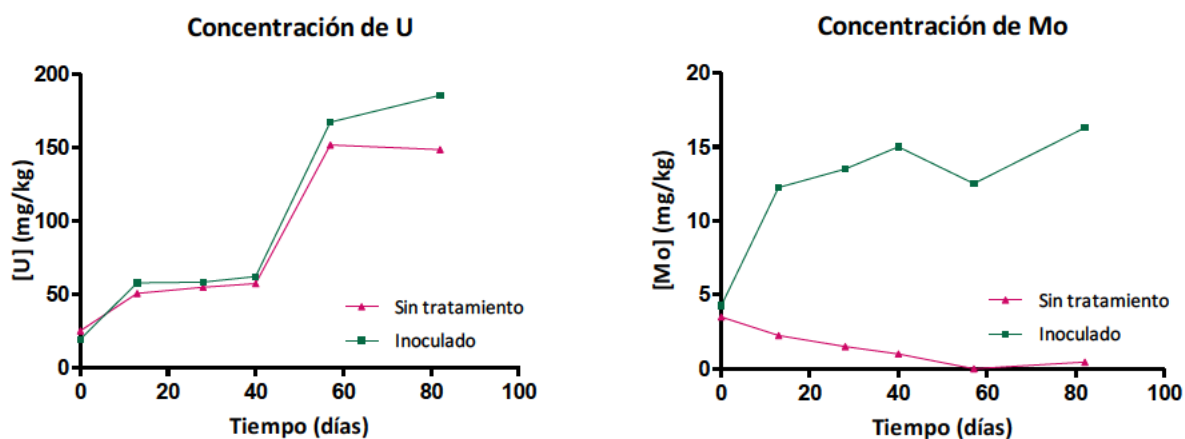


Figura 9. Concentración de uranio (izquierda) y molibdeno (derecha) en función del tiempo para las dos condiciones de estudio.

Por último, en la figura 10 se observa la matriz del mineral antes (inicial) y luego de la biolixiviación (día 70) para la situación inoculada.

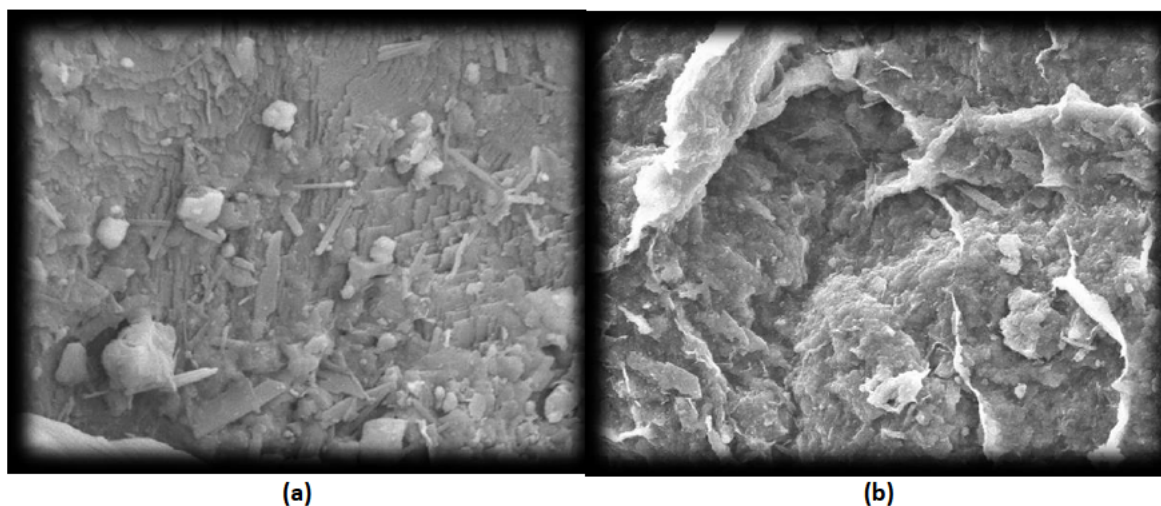


Figura 10. Micrografías SEM de las colas de mineral de la condición inoculada. A la izquierda (a), mineral previo al tratamiento (día 0), magnificación 5500x. A la derecha (b), mineral luego del biolixiviado (día 70), magnificación 1200x.

A la izquierda, se puede ver la estructura cristalina típica, sin alteraciones, mientras que a la derecha, luego de 70 días de tratamiento, se aprecia cómo esta estructura ya no está

conservada y además la presencia de biofilms sobre la superficie del mismo (regiones más claras en la imagen) [22], formados por las mismas bacterias. El porcentaje de carbono calculado por EDS resulta mayor para este segundo caso que para el primero.

Inóculo de bacterias ferrooxidantes, azufreoxidantes y consorcios

Utilizando el mismo mineral y medio de cultivo que en el ensayo anterior, se evaluaron en esta ocasión tres condiciones, incorporando microorganismos autotróficos ferrooxidantes (*A.ferrooxidans*, ATF), azufreoxidantes (*A.thiooxidans*, ATT) y un co-cultivo de ambos junto con las bacterias heterotróficas previamente estudiadas (*A.acidophilum*). Los cultivos se realizaron en frascos Erlenmeyer de 500mL, al 10% de densidad de pulpa, en agitación constante 150rpm a una temperatura de 30°C durante 90 días, con recuentos iniciales de 10^4 células por mL.

Los resultados se muestran en la figura 11. Se puede observar extracción de uranio en las tres condiciones, resultado mayor en presencia de las 3 cepas, probablemente por la asociación favorable entre las distintas especies, que les permite beneficiarse de la actividad de los demás. En particular, los microorganismos autotróficos pueden presentar inhibición enzimática en presencia de materia orgánica, por lo que la incorporación de *A.acidophilum* les resulta favorable por su metabolismo heterotrófico que elimina del medio las sustancias que les resultan tóxicas.

Por otro lado, se puede concluir que la disolución de molibdeno se ve favorecida al disminuir el pH por la actividad de *A.thiooxidans*, que catalizan su lixiviación tanto en cultivo puro como en consorcios. Dicha disolución resultó nula en presencia únicamente de microorganismos ferrooxidantes.

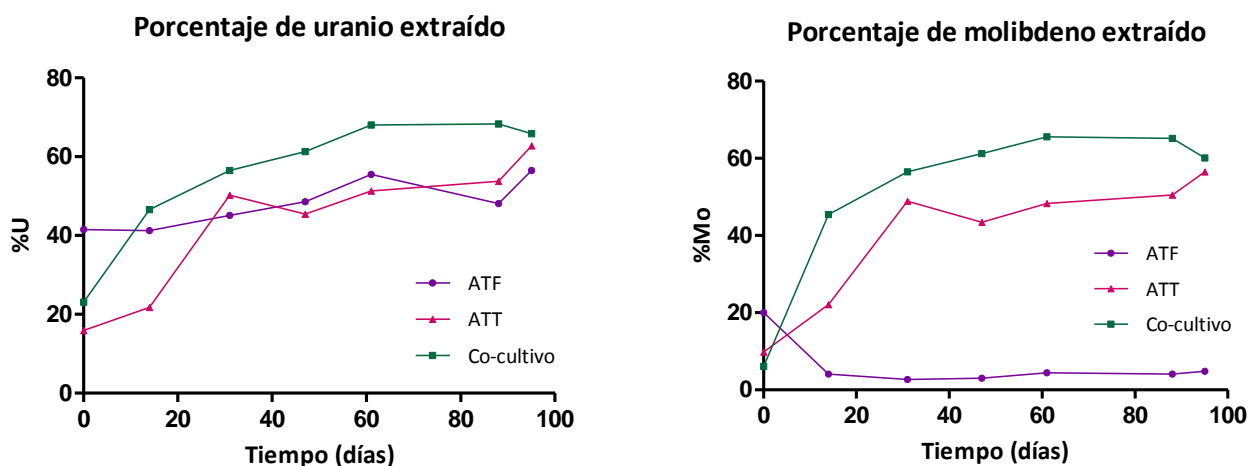


Figura 11. Porcentaje de uranio (izquierda) y molibdeno (derecha) en función del tiempo para las tres condiciones de estudio.

Soluciones lixiviantes alternativas

Se llevaron a cabo una serie de ensayos estudiando la factibilidad de la recuperación de uranio en las colas de mineral empleando diferentes soluciones biolixiviantes [23]: medio de cultivo, agua acidificada, y lixiviado agotado proveniente de la fase acuosa del proceso de extracción por solventes [3, 24, 25].

Se empleó el mismo mineral previamente lixiviado que en los ensayos previos. Los cultivos se prepararon en frascos erlenmeyer de 250mL, al 10% de densidad de pulpa, en agitación constante 100RPM a una temperatura de 30°C durante 57 días. Se emplearon inóculos de bacterias *Acidithiobacillus ferrooxidans* DSM11477 y *Acidithiobacillus thiooxidans* DSM11478, en una concentración inicial de 10^6 células/mL. La concentración de células viables se determinó mediante microscopía óptica de contraste de fases, modelo Leica DM1000, con cámara de Neubauer “improved”.

La condición de ensayo A contenía medio de cultivo (DSMZ 271 *Acidithiobacillus ferrooxidans* (APH) medium, composición en sección “Materiales y métodos”) sin inóculo. La condición B contenía medio de cultivo e inóculo. La condición C, agua esterilizada a pH 2,31 con solución de H_2SO_4 al 40 % e inóculo de bacterias. La condición D se preparó con lixiviado convencional agotado (composición en sección “Materiales y métodos”) e inóculo.

El seguimiento de la concentración de bacterias en el tiempo se presenta en la figura 12. En la condición A (muestra control), sin inocular, el crecimiento observado está dado por los

microorganismos indígenas del mineral. En las condiciones B y C, la concentración de bacterias inoculadas se incrementa en el tiempo de forma similar. Si bien es esperable que en B se tenga mayor velocidad de crecimiento de bacterias porque los microorganismos se encuentran en medio de cultivo con todos los nutrientes que propician su desarrollo, no se observaron diferencias significativas entre ambos, destacando que los microorganismos inoculados fueron capaces de desarrollarse en agua.

En el sistema D, la concentración de células disminuye a lo largo del tiempo, pudiendo deberse a la falta de nutrientes para seguir en fase exponencial o a la presencia de restos de la fase orgánica que actúen como inhibidores del metabolismo bacteriano. Los compuestos orgánicos pueden resultar tóxicos para los microorganismos, para la supervivencia de los mismos es probable que se requiera un periodo de adaptación cuyo tiempo supera el contemplado en el presente trabajo, justificado por el ligero incremento observado al día 57. Está demostrado que los microorganismos de biolixiviación se adaptan a la contaminación por compuestos orgánicos de flotación y extracción por solvente en biorreactores.

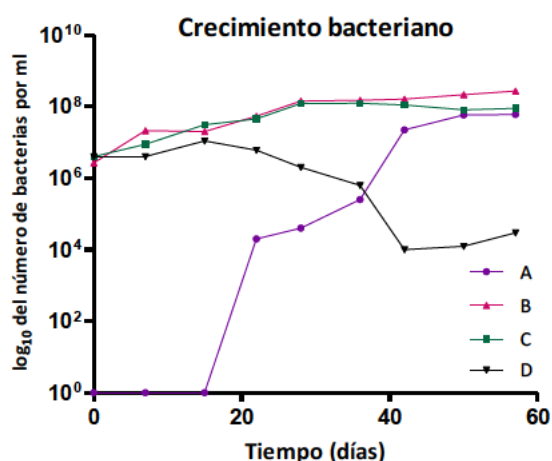


Figura 12. Gráfico de crecimiento microbiano en función del tiempo para todas las condiciones.

El seguimiento de las concentraciones de U y Mo en el tiempo se muestra en la figura 13. En la condición A, debido a que en los primeros días no se observa crecimiento de microorganismos, se considera que el proceso predominante es la lixiviación química.

Para la condición B, podría considerarse que la biolixiviación ocurre desde el tiempo inicial debido probablemente a la inoculación de bacterias *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans*. Las concentraciones de uranio y molibdeno se incrementan con el tiempo alcanzando un máximo cercano al día 15 (alrededor de 50% de extracción). Luego la concentración de los metales disminuye probablemente por precipitación.

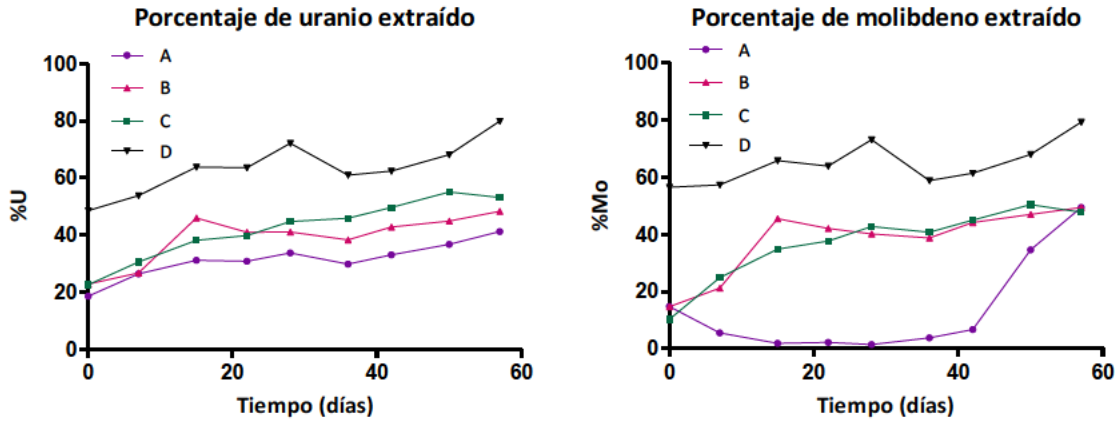


Figura 13. Porcentajes de extracción de uranio (a) y molibdeno (b) en función del tiempo para todas las condiciones. Valores calculados respecto al metal total disponible.

En la condición C, la concentración de uranio y molibdeno se incrementan con el tiempo, alcanzando porcentajes de extracción cercanos a 60 %. De los resultados de concentraciones de hierro y iones ferroso (*Anexo II*), se observa que el hierro trivalente aumenta a expensas de la oxidación del ion ferroso, lo cual podría atribuirse a la acción de bacterias ferrooxidantes inoculadas (*A. ferrooxidans*), con un comportamiento creciente que acompaña a la disolución de uranio.

En la condición D, la concentración de uranio y molibdeno se incrementa con el tiempo. De acuerdo a estos resultados, se debe tener en cuenta que si bien las condiciones del medio no favorecen el crecimiento de las bacterias, igualmente se observa biolixiviación de uranio y molibdeno.

Las condiciones en las que se inoculan bacterias (B, C, y D), los porcentajes de uranio extraído presentan un comportamiento similar al hierro. Esto podría ser debido a que la velocidad de biolixiviación se basa en una reacción química superficial donde los iones Fe^{+3} adsorbidos en la superficie del mineral determinan la velocidad de la reacción. Además cabe destacar que en las condiciones donde hubo inóculo bacteriano, la extracción de molibdeno resultó exitosa, en comparación con la condición control, como ya se discutió anteriormente.

De acuerdo a los resultados, en las cuatro condiciones propuestas es posible llevar a cabo el proceso de biolixiviación. Los sistemas en los que se observa comportamiento similar B y C, presentan porcentajes similares de extracción de uranio y molibdeno.

Las mejores condiciones para la biolixiviación resultan C y D. En la muestra C, la disolución de uranio y molibdeno aumenta, manteniéndose la concentración de bacterias en el tiempo. Este comportamiento es similar al observado en la condición B donde los microorganismos obtienen sus nutrientes del medio de cultivo provisto. Por lo tanto, se produciría además la reducción de costos y la disminución de problemas (disminución de crud) en la extracción por solvente que ocurren en presencia de un medio de cultivo.

En el caso D se logran los mayores porcentajes de extracción tanto de uranio como de molibdeno (cercaos al 80%), en presencia de lixiviado agotado puro, donde si bien ocurre disminución en el número de bacterias, lo mismo sucede de manera gradual y no pareciera afectar el rendimiento del proceso. Asimismo, es la condición donde los porcentajes de metales extraídos resultan más significativos respecto a la condición control.

Objetivos

El objetivo general del presente trabajo es el desarrollo de pilas de biolixiviación para la recuperación del uranio residual en minerales de un yacimiento del sur de Argentina, previamente tratados con ácido sulfúrico bajo un proceso de lixiviación convencional (tanque agitado) o en pilas.

Los objetivos particulares son:

- ✿ Evaluar el proceso de biolixiviación en pilas inundadas.
- ✿ Evaluar el proceso de biolixiviación en pilas por goteo.
- ✿ Implementar soluciones lixiviantes alternativas al uso de medio de cultivo: agua acidificada y lixiviado agotado proveniente del proceso de extracción por solventes.
- ✿ Selección de la mejor condición para la recuperación de uranio remanente en las colas de mineral previamente lixiviado.

Materiales y métodos

Origen de las muestras – Lixiviación ácida

El mineral utilizado proviene de un yacimiento del sur de Argentina, donde los niveles mineralizados se distribuyen en las areniscas y conglomerados fluviales cretácicos, y yacen a una profundidad de entre 50 y 130 m. La ley es alta para el tipo arenisca (0,3 a 0,5 % U en promedio dependiendo del tenor de corte seleccionado), y es importante destacar la presencia de molibdeno. Los minerales de uranio son asociaciones uranio-materia orgánica, uraninita y cofinita, y el molibdeno está presente como jordisita e ilsemanita, en presencia de materia orgánica.

El mineral fue previamente lixiviado por la vía ácida, de acuerdo a dos procedimientos. Para las condiciones de ensayo A y B, la lixiviación se hizo en medio de H_2SO_4 con MnO_2 como oxidante durante 6 horas a 40°C. El proceso fue de forma batch en un tanque agitado. Posteriormente, se filtró la torta y se lavó con 4 porciones de solución de H_2SO_4 a pH = 1,0. Luego se secó en estufa, se molió para homogeneizar a un tamaño de partícula menor a 0,149mm, utilizando un molino Fritsch Modelo Pulverisette 6. Para la cuantificación de U y Mo residuales, se realizó una digestión con solución disgregante de composición 9.5:0,5 de HNO_3 65% p/p y HF 50 % p/p, en un equipo digestor por microondas modelo Milestone ETHOS 1. Su composición luego del proceso fue: 8315,6mg/kg Fe, 172,9mg/kg U y 65,4mg/kg Mo.

Para las condiciones de ensayo C y D, el mineral fue triturado mediante una trituradora mandíbula. La lixiviación se llevó a cabo en un modelo en pila [26] con circulación de la solución lixivante mediante bomba dosificadora peristáltica, para la extracción conjunta de uranio y molibdeno. El diseño consiste un tubo de vidrio, colocado dentro de un embudo büchner conteniendo un papel de filtro para retener los finos del mineral, sobre soporte metálico y una bomba peristáltica como sistema dosificador de la solución lixivante (Figura 14). Las dimensiones de las columnas se muestran en la Tabla 2. Ambas columnas cumplen con la regla general en el diseño, la cual estipula que el diámetro de la columna debe ser como mínimo entre 5 – 8 veces mayor que el diámetro de mayor tamaño del mineral para evitar el efecto pared.

Cabe destacar que por razones propias del ensayo de lixiviación previa al tratamiento biológico, la condición C fue sometida a concentraciones más elevadas de ácido sulfúrico

respecto de la condición D. El riego se realizó por goteo, la posición de los goteros fueron cambiando en cada ciclo para lograr un riego homogéneo en las columnas y evitar la formación de canales preferenciales. La composición del mineral luego del proceso fue: 159,7mg/kg U y 3,0mg/kg Mo (C), y 104,6mg/kg U y 3,0mg/kg Mo (D). Estas concentraciones fueron estimadas en función a las concentraciones iniciales y el total extraído en el proceso.

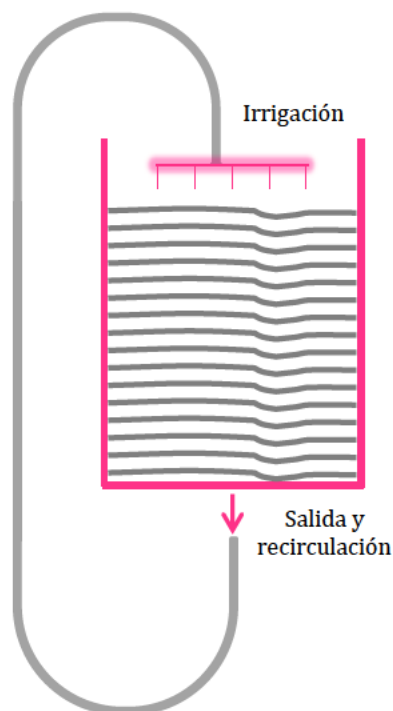


Figura 14. Esquema básico de una pila de lixiviación utilizada.

Partes estructurales	Dimensiones				Material de construcción
	Condición C		Condición D		
	Altura (cm)	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Diámetro (cm)	
Columna	19,4	7,6	19,4	7,0	Vidrio
Embudo Büchner	-	10,0	-	8,7	Cerámica
Papel de filtro	-	8,5	-	8,5	Celulosa

Tabla 2. Dimensiones de las pilas de lixiviación.

Cultivos bacterianos

Para los ensayos de biolixiviación, se emplearon inóculos de bacterias *Acidithiobacillus ferrooxidans* DSM11477 y *Acidithiobacillus thiooxidans* DSM11478, donadas por el Dr. Edgardo Donati, en una concentración inicial de 10^6 células/mL. Para ellos, se utilizaron cultivos previamente adaptados a la presencia de U y Mo, empleando concentraciones crecientes de

mineral sin tratar, desde 0,1 a 10,0%p/V, en medio de cultivo, incubando a 30°C hasta llegar a concentraciones de 10^7 células/mL antes de aumentar los porcentajes de mineral (Figura 15). Se mantuvo el pH entre 1,8 - 2,8. El medio de cultivo empleado fue "DSMZ 271 *Acidithiobacillus ferrooxidans* (APH) medium" (2,0g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,1g de KCl; 0,5g de KH_2PO_4 ; 0,5g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,01g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 8,0g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, agua destilada c.s.p. 1000mL, pH=2), modificado con 1,0% de S^0 .

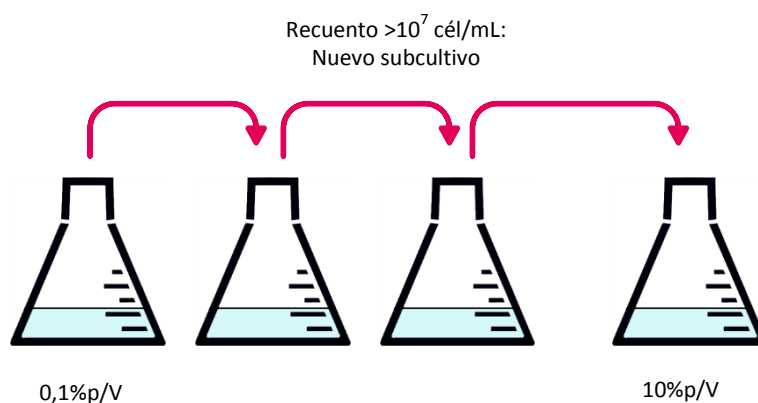


Figura 15. Esquema de trabajo para la adaptación de los microorganismos a las concentraciones deseadas de U y Mo.

Ensayos de biolixiviación

A los fines de extraer uranio residual, se aplicará un tratamiento biológico, manteniendo el diseño de pilas. Las condiciones temperatura ambiente y humedad relativa ambiente se mantuvieron entre 13 – 30°C y 37 – 85%HR.

Los ensayos se realizarán utilizando agua destilada ajustada a pH 2 para las condiciones A y C, y lixiviado agotado proveniente del proceso de extracción por solventes para las condiciones B y D, con composición que se detalla (Tabla 3). Además posee trazas de la fase orgánica utilizada en la extracción (30-Solvente: 0,1M Alamine 336, 5%v/v Isononanol, 90%v/v Kerosene ShellSol 2046) y un pH de 1.

Se inoculará con las cepas acidófilas *Acidithiobacillus ferrooxidans* DSM 11477 y *Acidithiobacillus thiooxidans* DSM 11478, en una concentración inicial de 10^6 células/mL, previamente adaptadas en presencia de 10%p/V de mineral.

Analito	Concentración (ppm)
U	10-15
Mo	10-50
Fe, Al	≈ 5000
Ca	≈600
Na, Mn	≈500
Mg, Si	≈100
Zn, Cu, Cr, Co, Ni, V, Cd, Ti	<25, en orden decreciente
Pd	<límite de detección

Tabla 3. Análisis multielemental del lixiviado agotado de referencia.

Para las condiciones A y B, se ensayará el diseño de pila inundada, de acuerdo a la figura 16, con las dimensiones detalladas en la tabla 4. A lo largo del ensayo, se mantuvo solución lixivante cubriendo la superficie total de las colas de mineral, durante 4 a 8 horas diarias, durante 99 días. Para su construcción se utilizó un embudo Büchner conteniendo un papel de filtro para retener los finos del mineral. Se utilizaron aproximadamente 200g de colas de mineral, y 500mL de solución biolixivante, la cual se recirculó utilizando una bomba peristáltica.

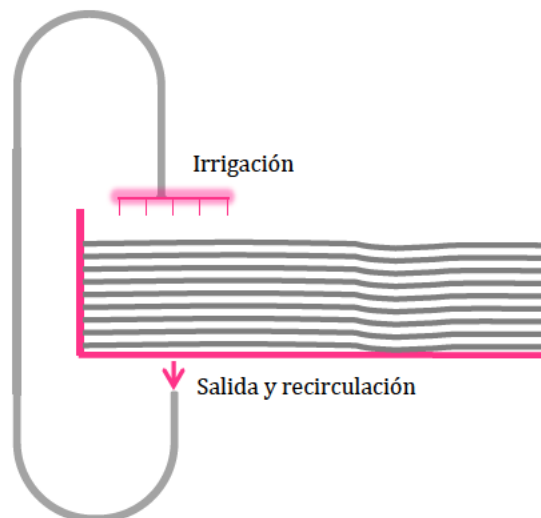


Figura 16. Esquema básico de una pila de lixiviación inundada.

Partes estructurales	Dimensiones				Material de construcción
	Condición A		Condición B		
	Altura (cm)	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Diámetro (cm)	
Embudo Büchner	-	10,0	-	8,7	Cerámica
Papel de filtro	-	8,5	-	8,5	Celulosa

Tabla 4. Dimensiones de las pilas de lixiviación inundadas.

Para las condiciones C y D, se ensayó el diseño de biolixiviación en pilas por goteo, manteniendo el esquema diseñado para su lixiviación previa (figura 14). Se utiliza alrededor de 600g de colas de mineral en cada caso, y la solución biolixivante se recirculó por goteo con ayuda de bombas peristálticas, durante 4 a 8 horas diarias, durante 94 días.

En todos los casos, se tomaron muestras a distintos tiempos para determinar los parámetros de estudio: pH, potencial de oxidorreducción (ORP), recuentos bacterianos y concentración de uranio, molibdeno, hierro y hierro divalente.

Las mediciones de pH se realizaron con un electrodo de membrana de vidrio modelo Jenway 2004JW924005. Las determinaciones de ORP se realizaron con un electrodo de platino, modelo Jenway 2004JW924003. La concentración de células viables se determinó mediante microscopía óptica de contraste de fases, modelo Olympus BX51, con cámara de Neubauer "improved".

La cuantificación de hierro divalente se basa en la reacción que emplea o-fenantrolina, con obtención de un complejo coloreado anaranjado-rojizo que absorbe a 510nm de longitud de onda. Las absorbancias se determinaron utilizando un espectrofotómetro UV-Visible, modelo Shimadzu UV-1800. Las concentraciones de U, Mo y Fe total a distintos tiempos se determinaron mediante un equipo ICP-OES Perkin Elmer Optima 5100 DV.

Resultados y discusión

Composición de las soluciones lixiviantes

De acuerdo a las mediciones de pH, ORP, hierro divalente y total, uranio y molibdeno, las soluciones empleadas para las condiciones A / C (agua acidificada) y B / D (lixiviado agotado) resultaron las siguientes (Tabla 5):

Tabla 5. Composición de las soluciones lixiviantes

	Agua acidificada A	Lixiviado agotado B	Agua acidificada C	Lixiviado agotado D
pH	1,75	1,15	1,37	1,09
ORP (mV)	716,1	734,4	693,6	737,9
U (ppm)	1,7	152,8	<límite de detección	33,6
Mo (ppm)	0,4	151,0	0,1	33,3
Fe total (ppm)	<límite de detección	15074	<límite de detección	3277
Fe ²⁺ (ppm)	<límite de detección	3297	<límite de detección	3525

Cultivos bacterianos

Los inóculos de las cepas bacterianas utilizadas (*Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans*), fueron previamente cultivados en concentraciones crecientes de las colas de mineral utilizadas, a los fines de adaptarlas a las condiciones de trabajo.

Si bien está demostrado que la mineralogía tiene baja influencia en las comunidades azufre y ferrooxidantes mientras los componentes tóxicos no estén presentes en concentraciones tóxicas para los microorganismos [27], los microorganismos adaptados presentaron mejor desempeño en la extracción de metales.

Los resultados demuestran que tanto las bacterias mesófilas como termófilas moderadas con capacidad biolixivante son capaces de adaptarse a altas concentraciones de metales [28].

A su vez, se ha reportado en bibliografía que la adaptación se evidencia con modificaciones en su morfología, como presentar tamaños celulares más cortos, cadenas de asociaciones de células más prolongadas, composición de ácidos grasos de membrana modificada, y estructura de membranas modificada [29].

Biolixiviación en pilas inundadas

La evaluación del proceso en un diseño de pila inundada se esquematiza en la figuras 16 y 17. Las soluciones correspondientes se recircularon de forma tal de mantener cubierta la superficie total de las colas de mineral, por 4 a 8 horas diarias de trabajo durante el tiempo de estudio.



Figura 17. Fotografía de las pilas inundadas de las condiciones A (izquierda) y B (derecha).

En este sistema, el tamaño de partícula fue menor a $150\mu\text{m}$, ya que el mineral se encontraba molido. El caudal de recirculación fue bastante pequeño ($<1,7\text{mL}/\text{min}$), sin embargo, al utilizar el método de inundación, el contacto entre la solución lixivante y la superficie de mineral fue adecuado, dado que los efectos de limitaciones por transferencia de masa estaban disminuidos.

Respecto de la viabilidad celular, se puede observar un comportamiento similar durante el primer tercio del tiempo de ensayo (figura 18), con un ligero aumento en la cantidad poblacional, esperable debido a que las bacterias estaban previamente adaptadas a las condiciones de ensayo, a la vez que provenían de un ritmo de crecimiento exponencial.

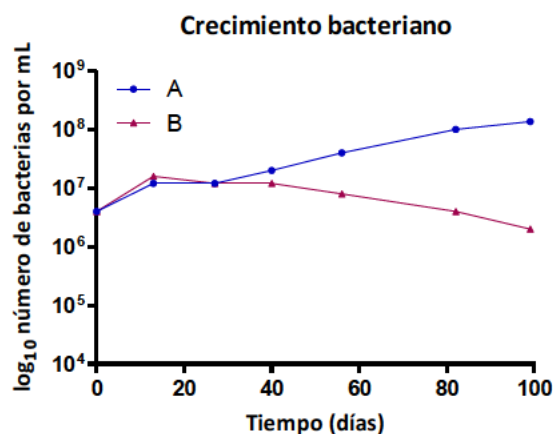


Figura 18. Crecimiento bacteriano en función del tiempo para las condiciones A y B.

En los días subsiguientes de ensayo, la condición A presentó un aumento lineal en su población, en concordancia con los estudios realizados previamente (*sección Antecedentes*). Sin embargo, para la condición B, en presencia de lixiviado agotado, los microorganismos disminuyeron su velocidad de crecimiento, probablemente por la acción inhibitoria de restos de solventes provenientes del proceso de extracción por solventes. De todas formas, el número de bacterias por mililitro se mantuvo por encima de 10^6 durante todo el tiempo de estudio, por lo que no sería un limitante en este caso, aunque sí debería considerarse este factor si se quisiera extender el período de evaluación.

En la figura 19 (izquierda), podemos observar la evolución del pH en función del tiempo. Cuando se utilizó agua acidificada, el pH decreció en conjunto con el crecimiento celular, por lo que tal comportamiento puede ser atribuido a la actividad de las bacterias azufreoxidantes, que aumentan la concentración de protones como producto de su actividad enzimática. Por su parte, al utilizar lixiviado agotado, con un pH inicial bastante inferior, éste se mantuvo casi constante durante todo el ensayo. Sin embargo, ambas condiciones se encuentran en el rango óptimo para que la oxidación biológica pueda proceder (0,8-3,0) [2]. Cabe mencionar que a pH inferiores a 1, la actividad microbiana se encuentra normalmente inhibida [8].

Para que la oxidación del U(IV) a U(VI) pueda ocurrir, otro factor a considerar es el potencial de óxido-reducción (ORP). De acuerdo a datos bibliográficos, el sistema debe mantenerse en valores entre 630 y 730mV [2]. Debido a que la evolución del potencial para ambas condiciones se encuentra dentro del rango deseado para lixiviación (figura 19, derecha), se espera que en estos sistemas se logre la extracción de uranio y molibdeno.

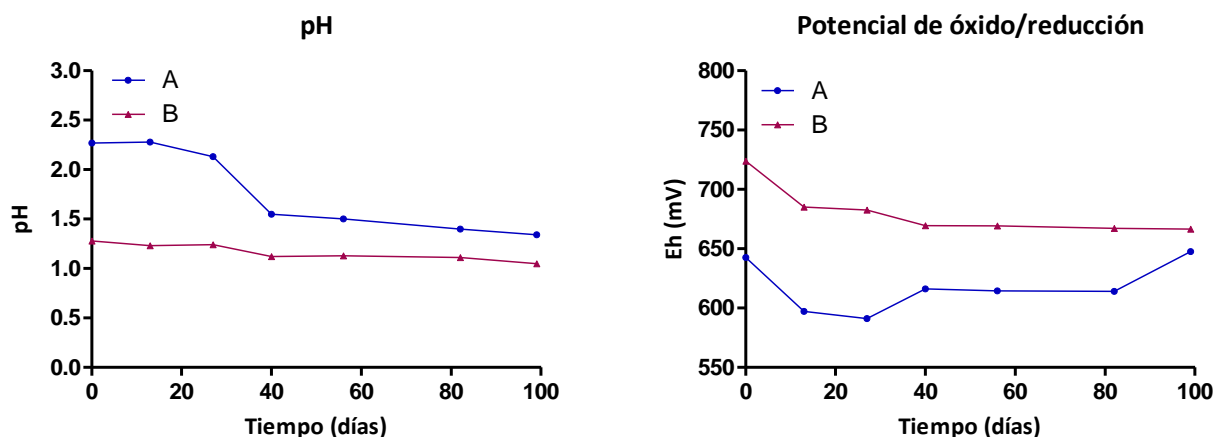


Figura 19. Evolución del pH (izquierda) y ORP (derecha) en función del tiempo para las condiciones A y B.

Las concentraciones de uranio y molibdeno en función del tiempo se grafican en la figura 20. Para la condición A, la concentración inicial de uranio puede deberse a un remanente absorbido en las colas de mineral, por insuficiente lavado luego del proceso de lixiviación convencional. Para la condición B, el valor inicial de U difiere de la concentración de dicho metal en la solución de lixiviado agotado probablemente por el hecho de que las colas se encontraban secas al inicio del tratamiento, y al ocurrir la humectación por absorción de agua, hayan quedado retenidos en la matriz el U y Mo provenientes desde la solución madre. Para ambas soluciones lixiviantes, la concentración tanto de U como de Mo creció a lo largo del tiempo, incrementando su pendiente a partir del día 40, momento en el cual las condiciones de pH, potencial oxidativo y recuento bacteriano resultaron óptimas para la extracción de metales. El leve descenso observado hasta el día 40 para la condición B puede ser atribuido a reacciones de precipitación.

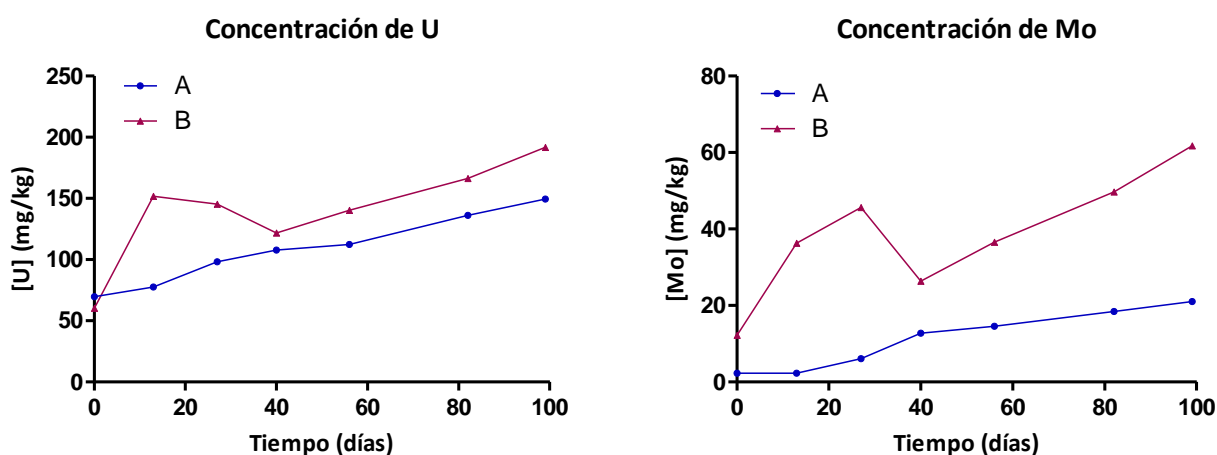


Figura 20. Concentraciones de uranio (izquierda) y molibdeno (derecha) en función del tiempo para las condiciones A y B.

La evolución de las especies del hierro solubles resultan claves en el proceso de biolixiviación de uranio. Esto se debe a que el mecanismo por el cual principalmente ocurre es indirecto, vía oxidación del hierro (II) a hierro (III), siendo esta última la responsable de reaccionar con el uranio tetravalente para pasarlo a su estado de oxidación soluble.

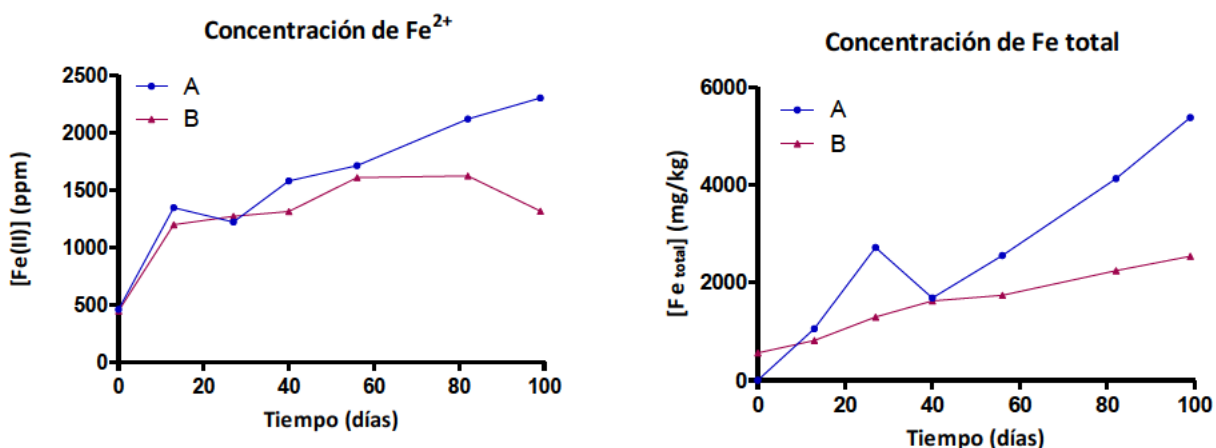


Figura 21. Concentraciones de hierro divalente (izquierda) y total (derecha) en función del tiempo para las condiciones A y B.

De los resultados de concentraciones de hierro (II) y total (figura 21), se deduce que el hierro trivalente aumenta a expensas de la oxidación del ion ferroso, lo cual podría atribuirse a la acción de bacterias ferrooxidantes inoculadas (*A. ferrooxidans*), con un comportamiento creciente que acompaña a la disolución de uranio. La disminución en las concentraciones de ambas especies en los días 30 y 99 (para el hierro divalente), y 40 (para hierro total) pueden deberse a reacciones de precipitación o combinación con aniones fosfatos o cloratos [2]. Las diferencias entre los valores iniciales de ambas especies pueden deberse a errores analíticos por la utilización de diferentes métodos para su cuantificación.

Biolixiviación en pilas por goteo

La evaluación del proceso en un diseño de pila por goteo se esquematiza en la figuras 14 y 22. En este caso se trabajó con caudales de recirculación de aproximadamente 6,0mL/min en forma discontinua, por 4 a 8 horas diarias de trabajo durante el tiempo de estudio. El riego se realizó por goteo, la posición de los goteros fueron cambiando en cada ciclo para lograr un riego homogéneo en las columnas y evitar la formación de canales preferenciales.

Asimismo, dado que las columnas provenían de una lixiviación previa, el mineral presentó hinchamiento y aumento en la cantidad de finos, debido al ataque ácido. Por lo tanto, si bien el

caudal de trabajo fue mayor que en el caso del método de inundación, el tamaño de partícula fue así también superior, y es de esperar que las reacciones de transferencia de masa no se vean óptimamente favorecidas.

La evolución del crecimiento bacteriano en función del tiempo se grafica en la figura 23. Durante la primera mitad del ensayo, las concentraciones de células aumentaron ligeramente manteniendo pendientes similares para ambas condiciones, manteniendo el ritmo de crecimiento con el cual fueron incorporadas al sistema, luego del proceso de adaptación.



Figura 22. Fotografía de las pilas por goteo de las condiciones C (izquierda) y D (derecha).

Posteriormente, el comportamiento fue similar al caso de las pilas inundadas, donde las bacterias en medio acuoso acidificado continuaron aumentando en cantidad, mientras que en lixiviado agotado, su número fue disminuyendo por efectos inhibitorios o carencia de algún sustrato enzimático o nutriente. Sin embargo, aquí también la biomasa se mantuvo por encima de 10^6 durante todo el tiempo de estudio, no debiendo significar una limitante durante el proceso.

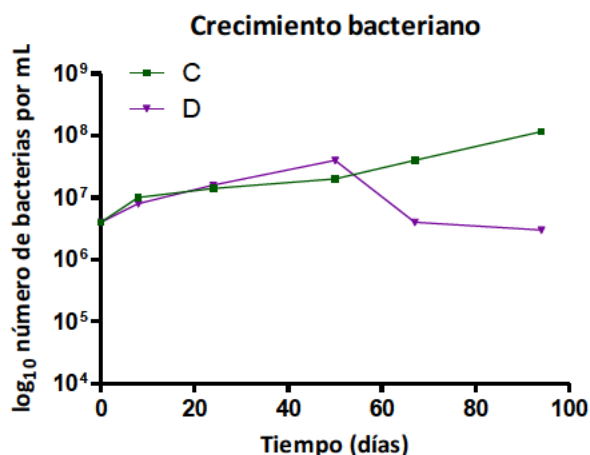


Figura 23. Crecimiento bacteriano en función del tiempo para las condiciones C y D.

Tanto el pH como el potencial de óxido-reducción esquematizados en la figura 24, se mantuvieron dentro de los valores de referencia para la extracción de uranio. Para ambas condiciones, el pH se mantuvo básicamente constante a lo largo de todo el ensayo, atribuyendo las pequeñas variaciones a fluctuaciones de medición a los diferentes tiempos. Cabe destacar que el potencial al final del ensayo llegó al mismo valor para ambas condiciones.

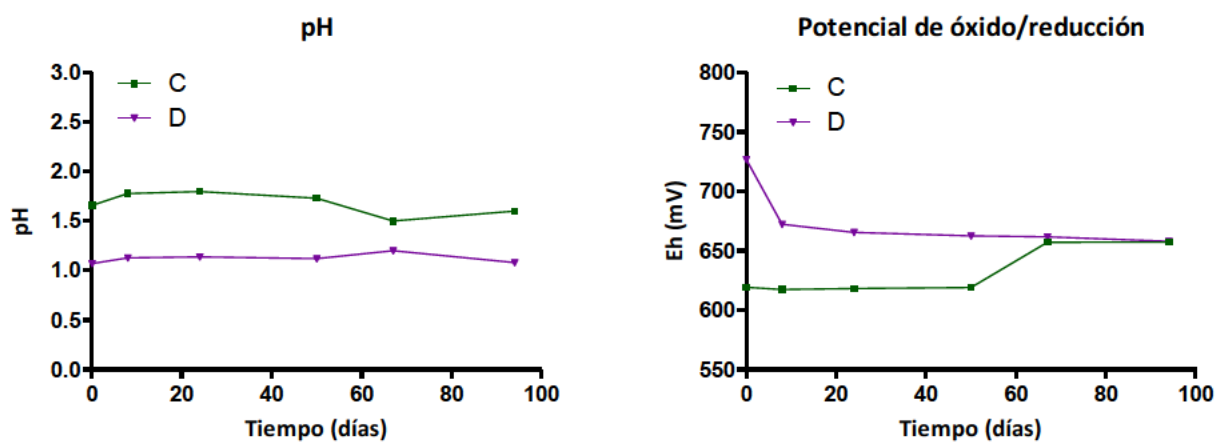


Figura 24. Evolución del pH (izquierda) y ORP (derecha) en función del tiempo para las condiciones C y D.

Respecto a la extracción de molibdeno (figura 25, derecha), resultó insignificante para ambas condiciones, debido a que fue previamente extraído casi en su totalidad durante el ensayo de lixiviación convencional. A la izquierda en la figura 25, observamos las concentraciones de uranio, pudiendo destacar que resultó muy baja cuando se utilizó agua acidificada, probablemente porque esta condición fue la menos favorable en cuanto a nutrientes, considerando que la transferencia de masa no estaba beneficiada, al menos durante los

tiempos de ensayo. La variación de las especies de hierro (figura 26) también fue escasa; esto puede explicarse por los mismos motivos ya mencionados.

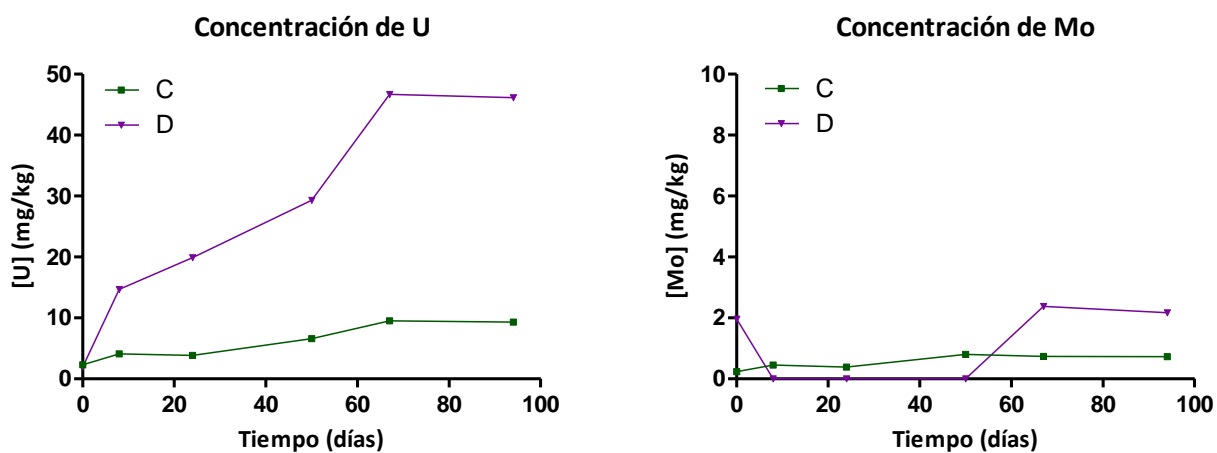


Figura 25. Concentraciones de uranio (izquierda) y molibdeno (derecha) en función del tiempo para las condiciones C y D.

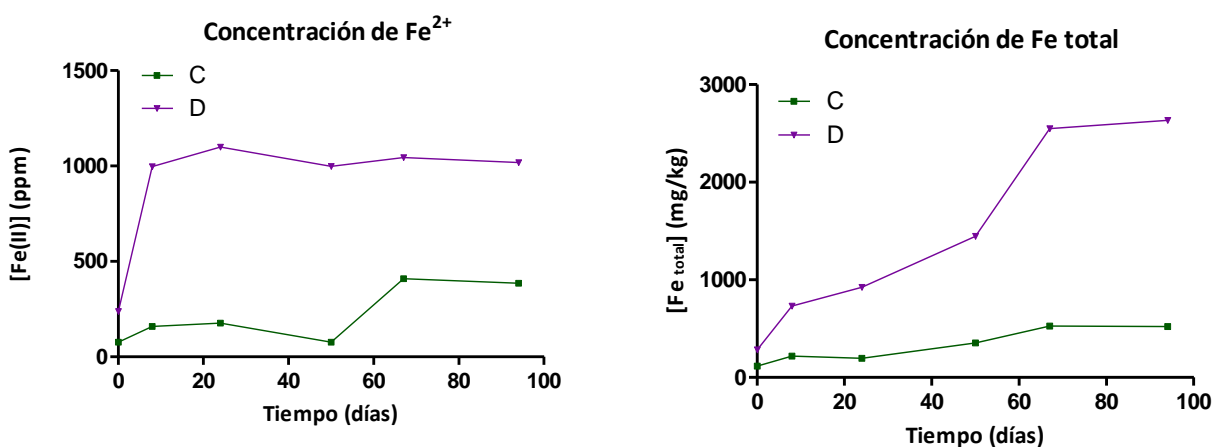


Figura 26. Concentraciones de hierro divalente (izquierda) y total (derecha) en función del tiempo para las condiciones C y D.

Para la condición con lixiviado agotado, la concentración de uranio aumento en concordancia con el aumento de la concentración de hierro divalente, pudiéndose haber debido por la actividad microbiana de oxidación de hierro y posterior oxidación química del uranio para su solubilización hacia la fase acuosa.

Evaluación de los diversos parámetros en el proceso de biolixiviación

Considerando el porcentaje de metal extraído en cada condición, se construyeron los gráficos de la figura 27 y la tabla 6. A la izquierda, podemos observar que las condiciones A, B Y D

llegaron a porcentajes de extracción similares, de entre un 32 a 46%, habiendo una fluctuación en los tiempos iniciales para la pila inundada con lixiviado agotado, comportamiento ya explicado anteriormente para la figura 20.

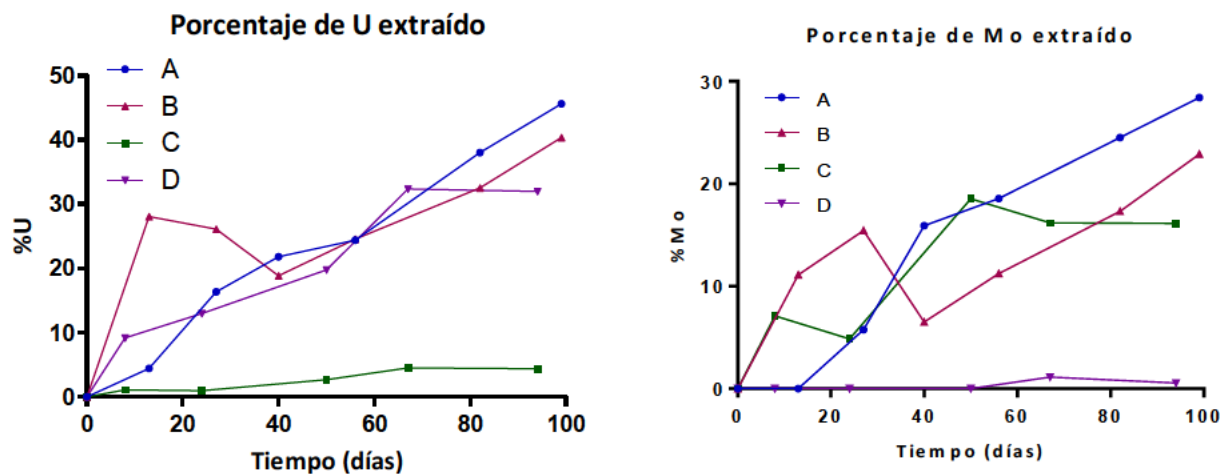


Figura 27. Porcentajes de uranio (izquierda) y molibdeno (derecha) netos extraídos en función del tiempo para todas las condiciones.

Por su lado, la condición C presentó un porcentaje de extracción muy bajo (<5%), quizás porque el sistema utilizado no resultó el mejor en cuestiones de transporte y difusión de reactivos entre las bacterias, el mineral y la solución.

Algo similar sucedió para la extracción de molibdeno, donde los mejores resultados se obtuvieron para los ensayos por el método de inundación, con porcentajes de extracción de entre 23-29% (figura 27, derecha). Sin embargo, cabe destacar que la cantidad de este metal remanente en las colas de mineral fue casi nula ($\approx 3\text{ppm}$), por lo tanto habría que evaluar este diseño utilizando colas que contengan un mayor contenido de molibdeno no extraído.

Asimismo, respecto a los dos sistemas estudiados, hay evidencia de que las comunidades bacterianas pueden responder al tipo de reactor en que se encuentren y a los diversos contenido de sólidos a los que se los someta [30]. En este trabajo, no se aplicó aireación adicional, que sí debe considerarse para el escalado del proceso, a los fines de no generar zonas anóxicas que disminuyan el rendimiento global del proceso. Está demostrado que los microorganismos pueden adaptarse a condiciones de baja aireación. Un estudio sobre la composición microbiana en las colas de un mineral que no fueron aireadas en un sistema de pilas puede adaptarse a cambios en el ambiente, tales como la profundidad, por deficiencias de oxígeno o dióxido de carbono, variaciones de temperatura y pH en diferentes zonas de la pila [30]. Se observó que en la parte superior las comunidades dominantes fueron azufre y

ferrooxidantes, mientras que a profundidades superiores a 3 metros, eran mayormente ferrooxidantes. Asimismo, a mayores temperaturas, las comunidades azufreoxidantes resultaron predominantes.

Tabla 6. Porcentajes de metales extraídos para cada condición.

Porcentaje de metal extraído (%)	Condición			
	A	B	C	D
Uranio	45,6	40,4	4,4	32,0
Molibdeno	28,49	22,9	16,1	0,6

Por otro lado, debemos considerar que al comparar el crecimiento bacteriano en todas las condiciones, los recuentos celulares estuvieron siempre en valores elevados (figura 28), no debiendo resultar un factor que influya negativamente en ninguna de las condiciones estudiadas. Está demostrado que la composición de las comunidades bacterianas varían en función al modelo de estudio elegido [31], ya sea tanque agitado, pilas o columnas de lixiviación.

Estos valores elevados en los recuentos celulares pueden deberse también al hecho de haber inoculado un cultivo mixto. Hay evidencia de que al utilizar cultivos conteniendo microorganismos azufre y hierro oxidantes, se llega a concentraciones más elevadas de células [32].

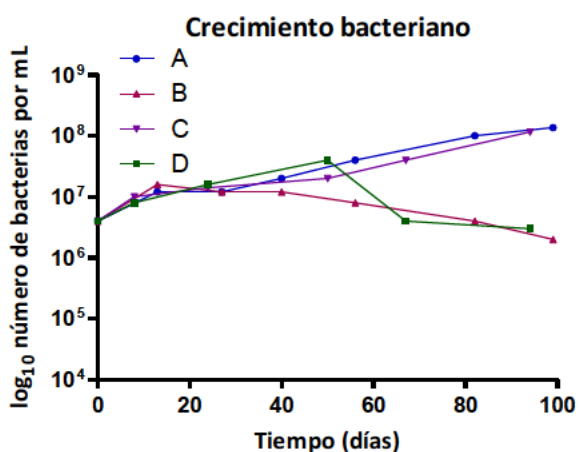


Figura 28. Crecimiento bacteriano en función del tiempo para todas las condiciones.

Asimismo, podemos observar que las bacterias en presencia de agua acidificada son capaces de mantener su crecimiento hasta valores de 10⁸, mientras que aquellas en suspensión con lixiviado agotado, disminuyen su pendiente de crecimiento llegando a recuentos inferiores en dos órdenes de magnitud. En este sentido, varias publicaciones se encuentran en bibliografía

respecto de la supervivencia microbiana en presencia de restos de solventes orgánicos provenientes tanto del proceso de extracción por solventes como de pretratamiento por flotación. Está demostrado que los microorganismos acidófilos con capacidad biolixivante se adaptan a la contaminación por compuestos orgánicos en biorreactores.

En líneas generales, algunos compuestos orgánicos pueden mejorar la biooxidación cuando estos están presentes en bajas concentraciones [33], sin embargo, a altas concentraciones, el metabolismo se ve inhibido en varios ordenes de magnitud. Una posible explicación a esto es el efecto de la tensión superficial. Se propuso que las moléculas orgánicas son capaces de disminuir la tensión superficial de la fase acuosa y la concentración de oxígeno saturado, por lo tanto, la actividad bacteriana se ve limitada [34]. Por otro lado, dada la evidencia de crecimiento de microorganismos en presencia de restos de solventes, se cree que o bien la concentración de ellos es muy baja y no influyen sobre su supervivencia, o bien durante largos periodos de tiempo son capaces de adaptarse.

De igual forma, hay varios estudios respecto de la toxicidad de los compuestos orgánicos [35]. Para restantes de reactivos de flotación, no todos los compuestos fueron igualmente tóxicos para todas las especies [36], y no todas las especies igualmente afectadas por los mismos reactivos [37, 38]. Incluso en algunos casos, las cepas de *A.ferrooxidans* se mostraron muy tolerantes a los reactivos del proceso de extracción por solventes en comparación con otras especies [38]. En particular para los procesos de biolixiviación en pilas, está demostrado que los microorganismos son capaces de adaptarse a bajas concentraciones de compuestos orgánicos provenientes del proceso de extracción. Si bien también se sabe que, en estos casos, el principal problema de supervivencia está asociado a la presencia de nitrato de sodio y potasio en menas y lixiviados, que participan en la degradación de solventes generando oximas [39], que resultan tóxicas para la mayoría de las bacterias.

Otro factor que afecta al crecimiento de los microorganismos a lo largo del tiempo es el contenido de azufre y especies sulfuradas. Se observó que a bajas concentraciones de azufre, las comunidades ferrooxidantes resultaron dominantes [40].

Debemos mencionar que los sistemas fueron evaluados parcialmente en paralelo, habiendo comenzado con anterioridad el diseño de pila inundada. Por lo tanto, también debemos considerar las variaciones de temperatura a las que se vieron sometidos los microorganismos (Anexo III). Las pilas inundadas no se encontraron nunca por debajo de los 20°C, mientras que el último tramo de las pilas irrigadas por goteo sufrieron temperaturas promediando los 15°C. Si bien los valores óptimos para las reacciones de oxidación biológica están reportados ser

entre 15 a 40°C, la velocidad de extracción es función de la temperatura, y va creciendo en un factor de 1,5 a 2,0 por cada 10°C de incremento [2].

De igual modo, las variaciones de temperatura también afecta a las comunidades, donde modificaciones de 10°C determinan importantes variaciones en las especies presentes, también pudiendo inhibir la actividad a bajas temperaturas [40]. Sin embargo, fue demostrado que luego de un stress térmico, la bioactividad puede recuperarse [41] y volver a sus valores normales.

Respecto del pH y la concentración de hierro divalente, las figuras 29 a 32 comparan los porcentajes de extracción obtenidos y la evolución del pH y la concentración de hierro (II) en cada condición. La química del hierro y la acidez están íntimamente relacionadas e influenciarán a las comunidades bacterianas. Variaciones de pH del orden de 0,3 son suficientes para modificar la composición de las comunidades bacterianas [30].

Para la pila inundada en presencia de agua acidificada (figura 29), podemos observar que la solubilización hacia la fase acuosa de ambos metales se vio promovida por la disminución de pH y el aumento en la concentración de Fe^{2+} . Este elemento es relevante dado que la oxidación del uranio está mediada por la reducción del hierro, donde los microorganismos acidófilos ferroxidantes median el paso del Fe^{2+} a Fe^{3+} , que es quien reacciona con el U^{4+} para oxidarlo a U^{6+} , y así obtener su forma soluble. El aumento en la concentración de hierro divalente está directamente relacionado con la reacción de lixiviación de los metales. La dependencia con la química del hierro podría deberse a que la velocidad de biolixiviación se basa en una reacción química superficial donde los iones Fe^{+3} adsorbidos en la superficie del mineral determinan la velocidad de la reacción [8].

Un comportamiento similar se observa para la pila inundada con lixiviado agotado (figura 30). Las curvas en este caso no son tan marcadas, la disminución del pH es muy poca a lo largo del ensayo, sin embargo, los porcentajes de extracción aumentaron al incrementarse la concentración de hierro (II) en solución.

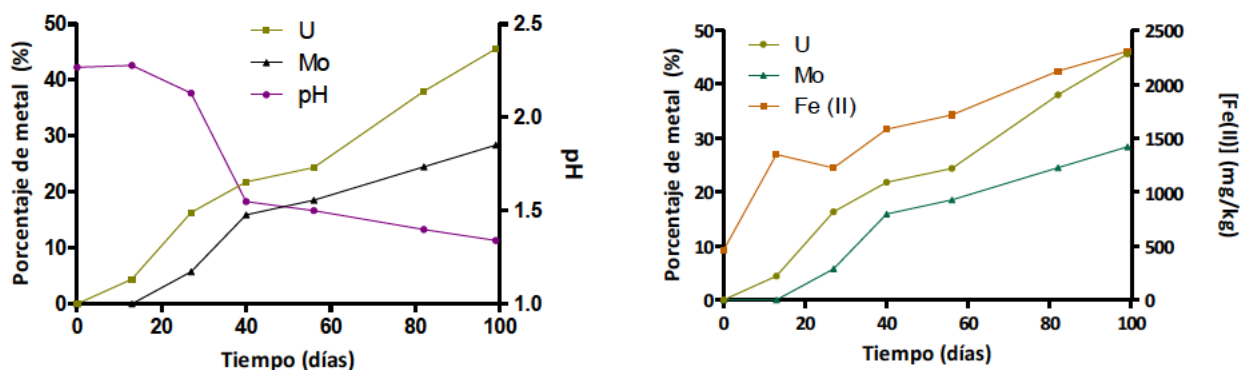


Figura 29. Porcentajes extraídos de uranio y molibdeno en función del tiempo, versus pH (izquierda) y concentración de hierro divalente (derecha) para la condición A.

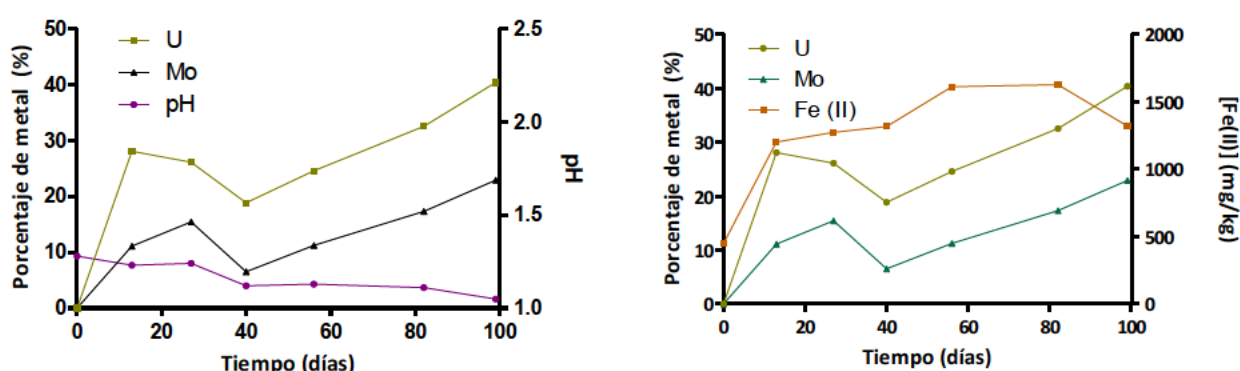


Figura 30. Porcentajes extraídos de uranio y molibdeno en función del tiempo, versus pH (izquierda) y concentración de hierro divalente (derecha) para la condición B.

Para las pilas irrigadas por goteo, en ambos sistemas se observan similares tendencias. La condición C (figura 31) resultó la menos favorecida, como ya se explicó anteriormente. Las variaciones en el pH y concentración de hierro divalente parecieran tener relación con la extracción de metales, aunque la lixiviación en este caso resultó muy baja como para poder sacar conclusiones directamente respecto de estos parámetros.

En la figura 32, observamos los valores para la condición con lixiviado agotado. Para este caso, la extracción de uranio parece estar relacionada con el aumento en la concentración de hierro (II). Cabe considerar que el pH y la acidez son parámetros que pueden modificarse durante el funcionamiento de las pilas, e impacta en la biooxidación en mayor medida en pilas que en tanques agitados. Asimismo, cambios en las comunidades afectaran la extracción de metales si se regenera o no el hierro trivalente [32].

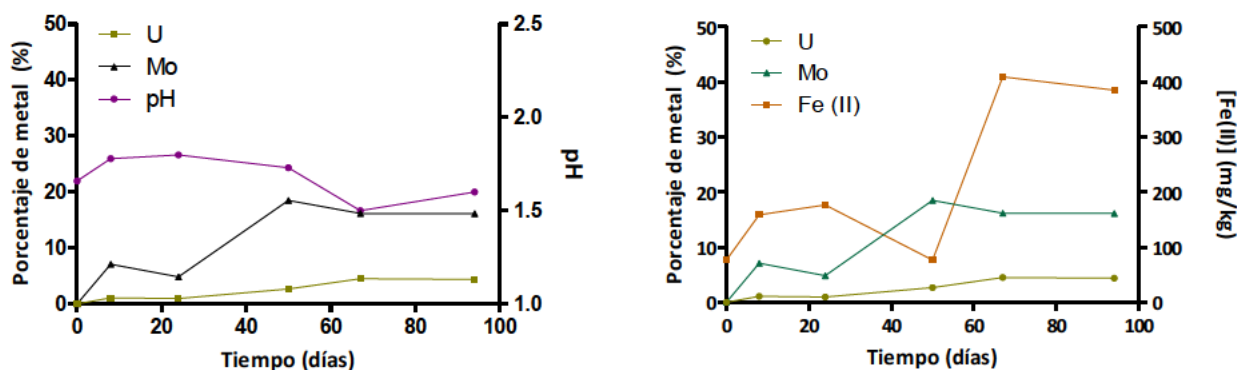


Figura 31. Porcentajes extraídos de uranio y molibdeno en función del tiempo, versus pH (izquierda) y concentración de hierro divalente (derecha) para la condición C.

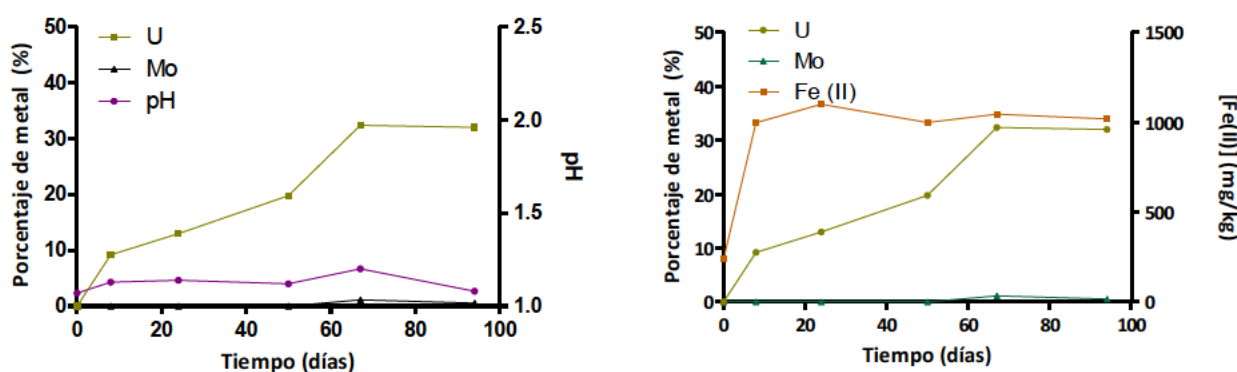


Figura 32. Porcentajes extraídos de uranio y molibdeno en función del tiempo, versus pH (izquierda) y concentración de hierro divalente (derecha) para la condición D.

Selección del mejor diseño y solución biolixivante

De acuerdo a los resultados, el uso de una corriente acuosa de lixiviado agotado resulta factible para el tratamiento por biolixiviación en ambos sistemas de irrigación evaluados. Sin embargo, la utilización de agua acidificada resultó insuficiente para el sistema por riego, al menos en las condiciones y tiempo de ensayos realizados.

Dado que el proceso desarrollado para la lixiviación química del uranio es un proceso en tanques agitados [42], las colas llegarían al proceso de biolixiviación en condiciones equivalentes a las evaluadas para A y B (molido, pila inundada). En tal caso, ambas soluciones biolixivantes resultaron exitosas para recuperar los valores remanentes.

Importancia en el tratamiento de residuos sólidos y efluentes

Los resultados obtenidos resultan relevantes para el tratamiento de las colas de mineral, dado que no sólo permite recuperar el uranio y molibdeno que pudieron haber quedado sin extraer, sino que a su vez disminuye la carga de valores que resultan contaminantes para el ambiente, y facilita el tratamiento hacia su disposición final. Por otro lado, permite reutilizar corrientes acuosas provenientes de otras etapas del proceso de hidrometalurgia del uranio.

A partir de datos obtenidos de tamaño de partícula del mineral pre y pos lixiviado, y densidad del mismos antes y luego de ser molido [43], así como de las estimaciones de consumo de uranio en una central nuclear tipo y las cantidades de mineral a las que equivaldrían, podemos calcular los parámetros del proceso, observados en las figuras 33 y 34.

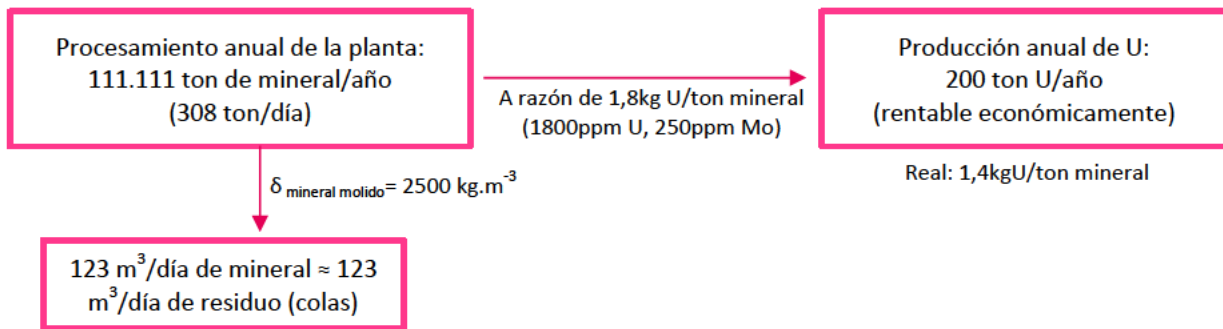


Figura 33. Cálculo de cantidad de colas de mineral generadas por día.

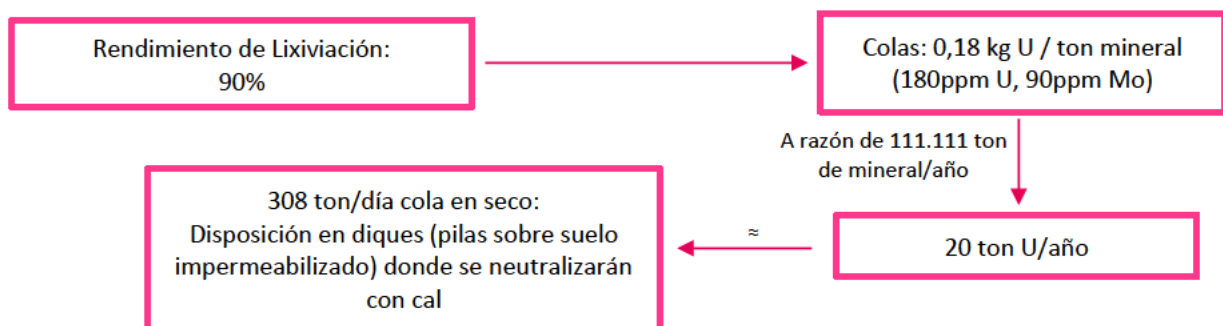


Figura 34. Cálculo de cantidad de colas de mineral generadas por día en seco.

En una planta con una capacidad de procesamiento de 308 toneladas diarias, a una razón de ley de uranio rentable, se obtendrían 200 toneladas de uranio anualmente, con la consecuente producción de 123m³ diarios de colas de mineral húmedas. Sobre la base de un rendimiento de lixiviación del 90%, el remanente de uranio en colas de mineral equivaldría a 20 toneladas

por año, donde considerando la densidad constituyen 308 toneladas diarias en seco que deberían disponerse para su neutralización con cal.

Teniendo en cuenta las posibilidades desarrolladas en este trabajo, se propone diseñar un sistema de pilas tal como el que muestra la figura 35.

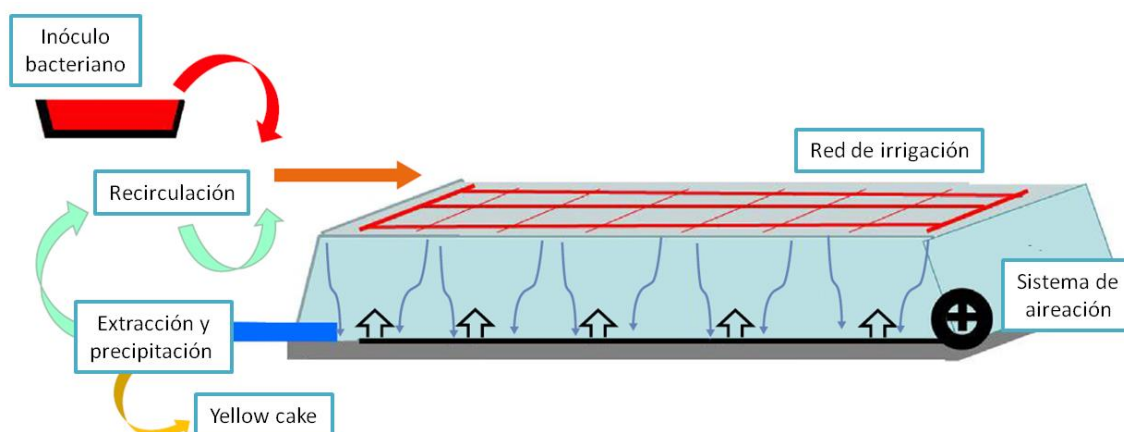


Figura 35. Diseño del escalado de la biolixiviación de uranio en las colas de mineral (Adaptación [44]).

Los sólidos húmedos (corriente 23 + 26 = colas) se dispondrían sobre suelo impermeabilizado, en pilas de 2 a 3 metros de altura, con un sistema de aireación subterráneo que permita la oxigenación homogénea.

Las pilas serían regularmente inoculadas con los microorganismos acidófilos con capacidad biolixivante que resulten apropiados, a los fines de mantener alta la concentración de bacterias en todo el sistema.

Luego del tratamiento, de duración aproximada de 180 días, se estima una recuperación de 45% de uranio, destacando la reutilización de las corrientes de agua, con lo cual no se necesitará agua subterránea cruda para este proceso.

El agua conteniendo uranio solubilizado recuperado se podría incorporar al proceso de Extracción, en función de la concentración de uranio obtenida en el biolixiviado. Asimismo, los sólidos restantes quedarían situados para su neutralización y disposición final [42, 45].

De esta forma, se recuperarían 9 toneladas anuales de uranio adicionales, con un proceso global que permitiría la extracción del 94,5%, sin necesidad de recurrir a corrientes de agua crudas (figura 36).

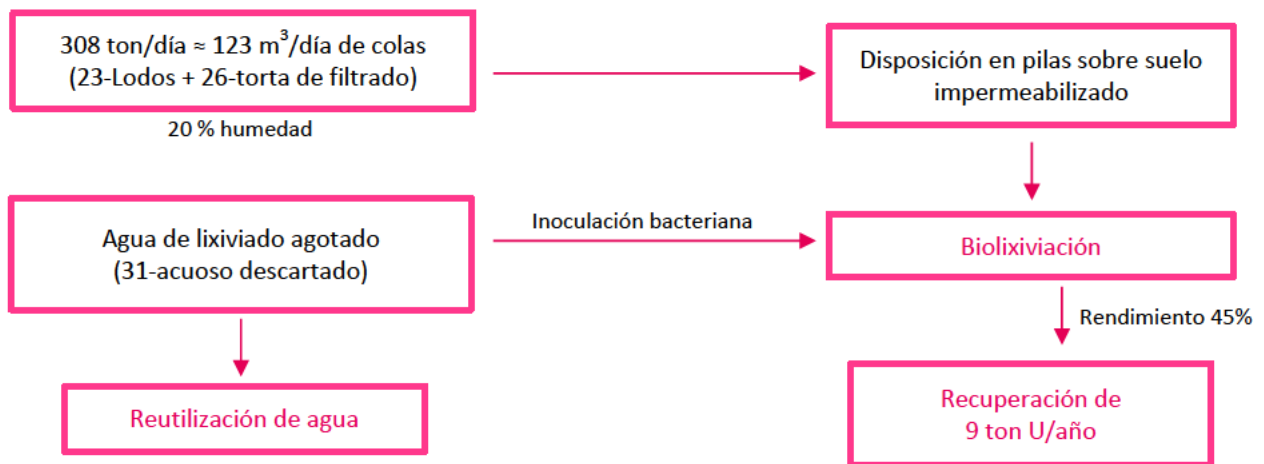


Figura 36. Cálculo de recuperación de uranio remanente por la implementación del proceso de biolixiviación.

Conclusión

Se logró cumplir con el objetivo general del trabajo, al haber desarrollado exitosamente cuatro condiciones de evaluación de pilas de biolixiviación para la recuperación del uranio residual en minerales de un yacimiento del sur de Argentina, previamente tratados con ácido sulfúrico bajo un proceso de lixiviación convencional (tanque agitado) o en pilas.

El mejor rendimiento de extracción se obtuvo en un sistema de pila con mineral finamente molido, bajo la modalidad de inundación. En estas condiciones, tanto la utilización de agua acidificada como solución biolixivante así como agua proveniente del proceso de extracción por solventes resultaron efectivas para extraer los metales remanentes en las colas de mineral.

En el sistema de pila con irrigación por goteo, el mejor rendimiento se obtuvo al utilizar el lixiviado agotado como solución extractante.

De esta manera, se destaca la implementación de la técnica de biolixiviación para la recuperación de uranio y molibdeno remanentes en colas de mineral. Además, se logró demostrar que es posible reutilizar las corrientes acuosas provenientes de otros procesos, reduciendo el consumo de agua y de flujo de efluentes del proceso hidrometalúrgico general.

Referencias bibliográficas

1. www.cnea.gob.ar/es/tecnologia-nuclear/ciclo-del-combustible-nuclear/.
2. Merrit, R., *The extractive metallurgy of uranium*. 1st Edition 1971: Colorado School of Mines Research Institute, United States Atomic Energy Commission, Estados Unidos.
3. Díaz, P., *Recuperación y purificación de uranio extraído mediante la técnica de biolixiviación a partir de colas de mineral*, 2017, Instituto Balseiro: Argentina.
4. Ballester, A. *Fundamentos y perspectivas de las tecnologías biomineras*. 2005, Chile.
5. Rawlings, D., *Biomining* 2002: Springer, Estados Unidos.
6. Vera, M., A. Schippers, and W. Sand, *Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation—part A*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013. **97**(17): p. 7529-7541.
7. Silver, M., *Distribution of iron-oxidizing bacteria in the nordic uranium tailings deposit, elliot lake, ontario, Canada*. Appl Environ Microbiol, 1987. **53**(4): p. 846-52.
8. Sobral, et al., *Biohydrometallurgical Processes: A Practical Approach* 2011: Centre for mineral technology, Ministry of science, technology and innovation, Brasil.
9. Rawlings, D., *Biomining* 2007: Springer - Verlag Berlin Heidelberg, Estados Unidos.
10. Li, Y., S. Zhao, and Y. Wang, *Microbial desulfurization of ground tire rubber by Thiobacillus ferrooxidans*. Polymer Degradation and Stability, 2011. **96**(9): p. 1662-1668.
11. Diaz, M., et al., *Biofilm Formation by the Acidophile Bacterium Acidithiobacillus thiooxidans Involves c-di-GMP Pathway and Pel exopolysaccharide*. Genes (Basel), 2018. **9**(2).
12. Zhang, Y.F., et al., *Isolation, Characterization and Phylogenetic Analysis of Acidiphilium-Like Bacteria from Acid Mine Drainage*. Advanced Materials Research, 2007. **20-21**: p. 473-476.
13. Ehrlich, H., *Geomicrobiology*. 4th edition 2002, New York: Marcel Dekker, Estados Unidos.
14. Misari, F., *Tecnología de la lixiviación biológica de minerales*. Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería 2016: Osinergmin, Perú.
15. Sand, W., et al., *Direct versus indirect bioleaching*, in *Process Metallurgy*, R. Amils and A. Ballester, Editors. 1999, Elsevier. p. 27-49.
16. Schippers, A. and W. Sand, *Bacterial Leaching of Metal Sulfides Proceeds by Two Indirect Mechanisms via Thiosulfate or via Polysulfides and Sulfur*. Applied and Environmental Microbiology, 1999. **65**(1): p. 319-321.

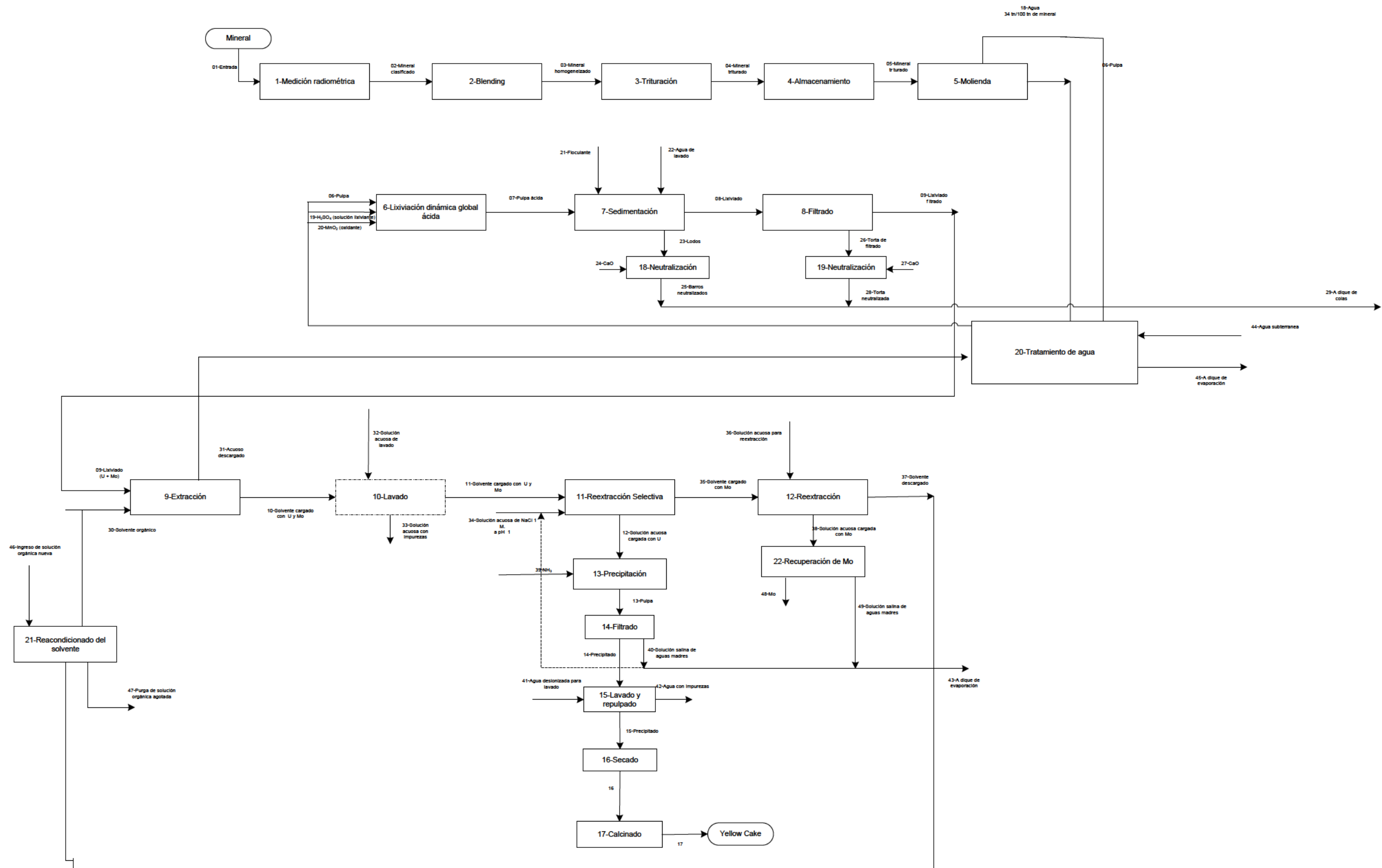
17. Abhilash and B.D. Pandey, *Microbially Assisted Leaching of Uranium—A Review*. Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review, 2013. **34**(2): p. 81-113.
18. Ogbonna, N., *Heap Bioleaching: Mathematical Modelling of Agglomerate Scale Phenomena*, 2009, University of Cape Town: VDM Verlag Dr. Müller, Sudáfrica.
19. Chuquipoma, M., *Biolixiviación: Tecnología de la Lixiviación Bacteriana de Minerales* 2016: Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería, Osinergmin 2016, Perú.
20. Camporotondi, D., *Biolixiviación de Uranio y Metales Derivados de los Yacimientos Uraníferos*, 2016, Comisión Nacional de Energía Atómica: Informe de beca.
21. Camporotondi, D., Arias, Silva Paulo, Chocrón, Venturini, *Biolixiviación de uranio y metales derivados de yacimientos uraníferos*, in *XLIII Reunión Anual de la Asociación Argentina de Tecnología Nuclear (AATN)* 2016: Buenos Aires, Argentina.
22. Liu, H.L., et al., *SEM and AFM Images of Pyrite Surfaces after Bioleaching by Indigenous Thiobacillus thiooxidans*. Vol. 62. 2003. 414-20.
23. *Informe técnico confidencial. IN-GQ_PQI-062*. División procesos químicos e ingeniería, Departamento de Química y Procesos en Instalaciones Nucleares, Gerencia Química – Centro Atómico Constituyentes.
24. *Informe técnico confidencial. IN-GQ_PQI-058*. División procesos químicos e ingeniería, Departamento de Química y Procesos en Instalaciones Nucleares, Gerencia Química – Centro Atómico Constituyentes.
25. *Memorando confidencial. MEM-GQ_DPQI-007-18*. División procesos químicos e ingeniería, Departamento de Química y Procesos en Instalaciones Nucleares, Gerencia Química – Centro Atómico Constituyentes.
26. *Informe técnico confidencial. IN-GQ_PQI-057*. División procesos químicos e ingeniería, Departamento de Química y Procesos en Instalaciones Nucleares, Gerencia Química – Centro Atómico Constituyentes.
27. Dopson, M. and E.B. Lindstrom, *Analysis of community composition during moderately thermophilic bioleaching of pyrite, arsenical pyrite, and chalcopyrite*. Microb Ecol, 2004. **48**(1): p. 19-28.
28. Dopson, M., et al., *Growth in sulfidic mineral environments: metal resistance mechanisms in acidophilic micro-organisms*. Microbiology, 2003. **149**(Pt 8): p. 1959-70.
29. Collinson, D., et al., *Habituation of Sulfolobus thermosulfidooxidans to 4-nonylphenol in ferrous ion growth medium*. Process biochemistry, 2011. **46**(1): p. 108-115.

30. Xingyu, L., et al., *Leptospirillum forms a minor portion of the population in Zijinshan commercial non-aeration copper bioleaching heap identified by 16S rRNA clone libraries and real-time PCR*. Vol. 104. 2010. 399-403.
31. Wakeman, K., H. Auvinen, and D.B. Johnson, *Microbiological and geochemical dynamics in simulated-heap leaching of a polymetallic sulfide ore*. Biotechnol Bioeng, 2008. **101**(4): p. 739-50.
32. Plumb, J.J., R. Muddle, and P.D. Franzmann, *Effect of pH on rates of iron and sulfur oxidation by bioleaching organisms*. Minerals Engineering, 2008. **21**(1): p. 76-82.
33. Zhang, C.-g., et al., *Comparative study on effects of Tween-80 and sodium isobutyl-xanthate on growth and sulfur-oxidizing activities of Acidithiobacillus albertensis BY-05*. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2008. **18**(4): p. 1003-1007.
34. Torma, A.E., et al., *Effects of surface active agents on the oxidation of chalcopyrite by thiobacillus ferrooxidans*. Hydrometallurgy, 1976. **1**(4): p. 301-309.
35. Torma, A.E. and I.J. Itzkovitch, *Influence of Organic Solvents on Chalcopyrite Oxidation Ability of Thiobacillus ferrooxidans*. Appl Environ Microbiol, 1976. **32**(1): p. 102-7.
36. Dopson, M., J.-E. Sundkvist, and E. Börje Lindström, *Toxicity of metal extraction and flotation chemicals to Sulfolobus metallicus and chalcopyrite bioleaching*. Vol. 81. 2006. 205-213.
37. Chen, B.-w., et al., *Influence of copper solvent extractant on microbial community structure of acidophilic microorganisms*. Journal of Central South University of Technology, 2010. **17**(6): p. 1196-1200.
38. Watling, H., et al., *Impact of the copper solvent extraction reagent LIX 984N on the growth and activity of selected acidophiles*. Hydrometallurgy, 2009. **95**(3-4): p. 302-307.
39. Hein, M.J.V.L.M.C., *Processes for the recovery of copper from aqueous solutions containing nitrate ions*, 2002. Patente US6702872B1, Estados Unidos.
40. Pivovarova, T., et al., *Species and strain composition of microbial associations oxidizing different types of gold-bearing concentrates*. Applied biochemistry and microbiology, 2010. **46**(5): p. 497-504.
41. Watlinga, H.R., E.L. Watkinb, and D.E. Ralphe, *The resilience and versatility of acidophiles that contribute to the bio-assisted extraction of metals from mineral sulphides*. Environ Technol, 2010. **31**(8-9): p. 915-33.
42. *Informe técnico confidencial. IN-GQ_PQI-041*. División procesos químicos e ingeniería, Departamento de Química y Procesos en Instalaciones Nucleares, Gerencia Química – Centro Atómico Constituyentes.

43. *Informe técnico confidencial. DD-GQ_PQI-031.* División procesos químicos e ingeniería, Departamento de Química y Procesos en Instalaciones Nucleares, Gerencia Química – Centro Atómico Constituyentes.
44. Johnson, D.B., *Biomining—biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials.* Current Opinion in Biotechnology, 2014. **30**: p. 24-31.
45. *Memorando confidencial. MEM-GAATEN_DA_350.300-001-16.* Departamento Aplicaciones Agropecuarias, Gerencia de Aplicaciones y Tecnología de las Radiaciones – Centro Atómico Ezeiza.

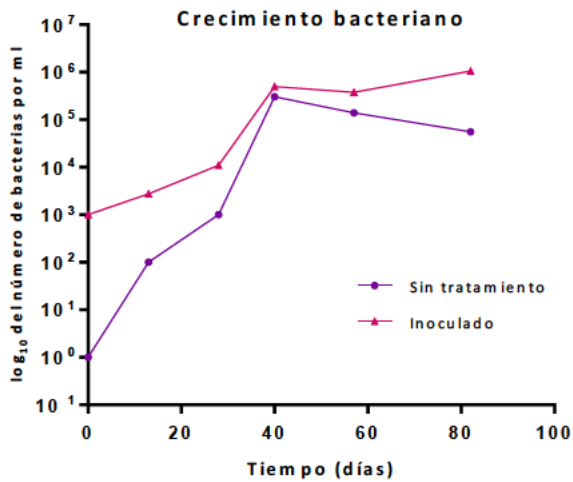
Anexo I

Operaciones involucradas en el procesamiento del mineral [42].



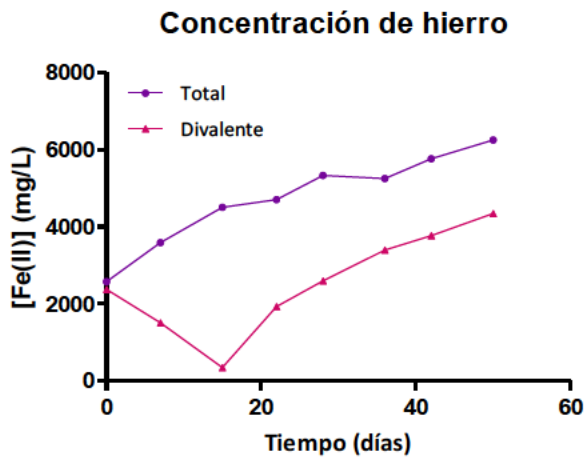
Anexo II

Gráfico y tabla de crecimiento bacteriano para el ensayo “Inóculo de bacterias heterotróficas”.



Recuentos bacterianos (número de células por mililitro)		
Tiempo (días)	Sin tratamiento	Inoculado
0	1,0E+00	1,0E+03
13	1,0E+02	2,8E+03
28	1,0E+03	1,1E+04
40	3,1E+05	5,0E+05
57	1,4E+05	3,8E+05
82	5,6E+04	1,1E+06

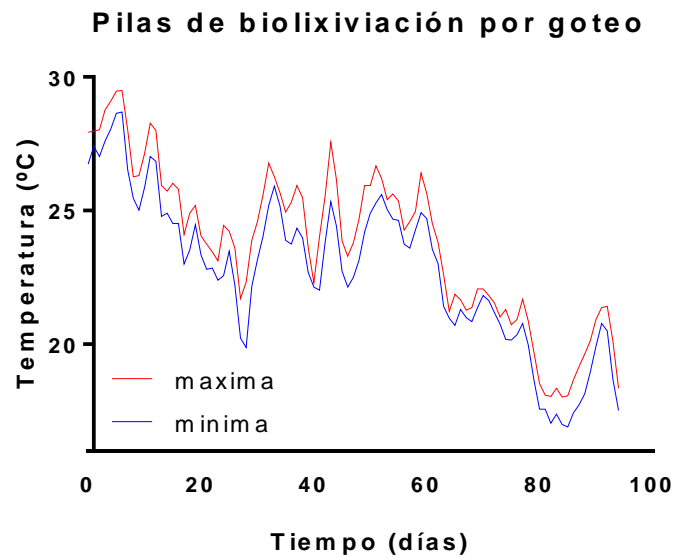
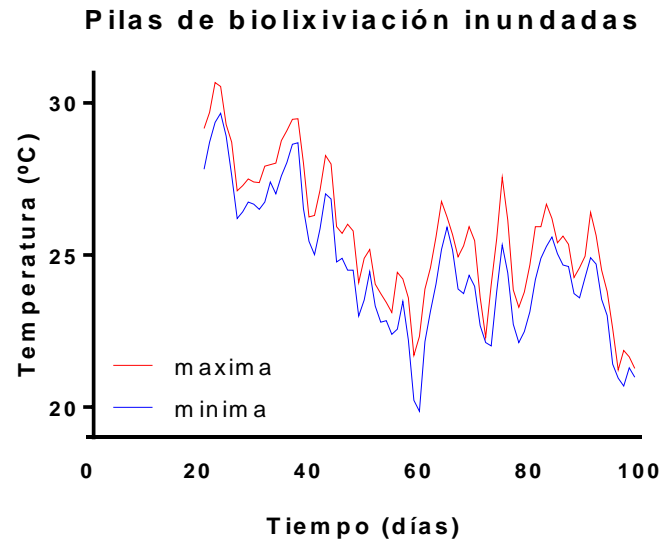
Gráfico y tabla de concentraciones de hierro total y divalente para la condición C del ensayo “Soluciones lixiviantes alternativas”.



Concentración de hierro (ppm)		
Tiempo (días)	Total	Divalente
0	2579	2378
7	3589	1511
15	4505	350
22	4705	1930
28	5327	2599
36	5250	3399
42	5763	3770
50	6251	4344

Anexo III

Gráficos de temperatura en función del día de ensayo para cada condición. Para las condiciones A y B (pilas inundadas), no se cuentan con datos de los primeros 20 días.



Anexo IV

Tablas de valores correspondientes a cada gráfico.

Tabla A. Figura 9. Concentración de uranio (izquierda) y molibdeno (derecha) en función del tiempo para las dos condiciones de estudio de “*Inóculo de bacterias heterotróficas*”.

Tiempo (días)	Concentración de U (ppm)		Concentración de Mo (ppm)	
	Sin tratamiento	Inoculado	Sin tratamiento	Inoculado
0	25,0	19,3	3,5	4,3
13	50,5	57,8	2,3	12,3
28	54,8	58,3	1,5	13,5
40	57,3	62,0	1,0	15,0
57	151,8	167,2	0,0	12,5
82	148,5	185,5	0,5	16,3

Tabla B. Figura 11. Porcentaje de uranio (izquierda) y molibdeno (derecha) en función del tiempo para las tres condiciones de estudio de “*Inóculo de bacterias ferrooxidantes, azufreoxidantes y consorcios*”.

Tiempo (días)	Porcentaje de U (%)			Porcentaje de Mo (%)		
	ATF	ATT	Co-cultivo	ATF	ATT	Co-cultivo
0	41,5	15,9	23,1	20,0	9,8	6,1
14	41,2	21,8	46,	4,1	22,1	45,4
31	45,1	50,2	56,5	2,7	48,9	56,5
47	48,6	45,4	61,3	3,0	43,4	61,2
61	55,5	51,3	68,0	4,4	48,3	65,6
88	48,1	53,8	68,3	4,1	50,5	65,2
95	56,5	62,8	65,8	4,8	56,5	60,1

Tabla C. Figura 12. Gráfico de crecimiento microbiano en función del tiempo para todas las condiciones de “*Soluciones lixiviantes alternativas*”.

Tiempo (días)	Recuentos bacterianos (número de células por mililitro)			
	A	B	C	D
0	1,0E+00	2,7E+06	4,0E+06	4,0E+06
7	1,0E+00	2,1E+07	8,8E+06	4,0E+06
15	1,0E+00	2,0E+07	3,1E+07	1,1E+07
22	2,0E+04	5,4E+07	4,5E+07	6,0E+06
28	4,0E+04	1,4E+08	1,2E+08	2,0E+06
36	2,5E+05	1,5E+08	1,2E+08	6,3E+05
42	2,2E+07	1,6E+08	1,1E+08	1,0E+04
50	5,8E+07	2,2E+08	8,0E+07	1,2E+04
57	6,0E+07	2,7E+08	8,8E+07	3,0E+04

Tabla D. Figura 13. Porcentajes de extracción de uranio (a) y molibdeno (b) en función del tiempo para todas las condiciones de “Soluciones lixiviantes alternativas”.

Tiempo (días)	Porcentaje de U (%)				Porcentaje de Mo (%)			
	A	B	C	D	A	B	C	D
0	18,5	22,8	22,6	48,6	14,8	14,7	10,3	56,6
7	26,4	26,7	30,6	53,8	5,5	21,2	24,9	57,3
15	31,1	46,0	38,2	63,8	1,9	45,5	34,9	65,8
22	30,8	41,0	39,8	63,5	2,2	42,2	37,7	64,0
28	33,7	41,0	44,7	72,1	1,5	40,2	42,8	73,2
36	29,8	38,3	45,9	60,9	3,8	38,8	40,8	58,9
42	33,0	42,8	49,6	62,4	6,7	44,2	45,0	61,5
50	36,7	44,9	55,0	68,1	34,7	47,1	50,5	68,0
57	41,2	48,3	53,2	79,8	49,5	49,5	47,8	79,4

Tabla E. Figura 18. Crecimiento bacteriano en función del tiempo para las condiciones A y B.

Tiempo (días)	Recuentos bacterianos (número de células por mililitro)	
	A	B
0	4,0E+06	4,0E+06
13	1,2E+07	1,6E+07
27	1,2E+07	1,2E+07
40	2,0E+07	1,2E+07
56	4,0E+07	8,0E+06
82	1,0E+08	4,0E+06
99	1,4E+08	2,0E+06

Tabla F. Figura 19. Evolución del pH (izquierda) y ORP (derecha) en función del tiempo para las condiciones A y B.

Tiempo (días)	pH		ORP (mV)	
	A	B	A	B
0	2,27	1,28	642,7	723,8
13	2,28	1,23	597,1	685
27	2,13	1,24	591,2	682,5
40	1,55	1,12	616,2	669,5
56	1,50	1,13	614,4	669,3
82	1,40	1,11	614,1	667,2
99	1,34	1,05	647,6	666,6

Tabla G. Figura 20. Concentraciones de uranio (izquierda) y molibdeno (derecha) en función del tiempo para las condiciones A y B.

Tiempo (días)	Concentración de U (ppm)		Concentración de Mo (ppm)	
	A	B	A	B
0	69,8	60,4	2,3	12,2
13	77,5	151,8	2,3	36,3
27	98,3	145,4	6,1	45,7
40	107,9	121,8	12,8	26,3
56	112,4	140,4	14,5	36,5
82	136,2	166,3	18,4	49,7
99	149,4	191,9	21,0	61,8

Tabla H. Figura 21. Concentraciones de hierro divalente (izquierda) y total (derecha) en función del tiempo para las condiciones A y B.

Tiempo (días)	Concentración de Fe (II) (ppm)		Concentración de Fe total (ppm)	
	A	B	A	B
0	461	449	0	564
13	1348	1200	1055	816
27	1223	1273	2723	1300
40	1582	1316	1685	1629
56	1715	1611	2559	1741
82	2122	1625	4134	2247
99	2305	1319	5380	2542

Tabla I. Figura 23. Crecimiento bacteriano en función del tiempo para las condiciones C y D.

Tiempo (días)	Recuentos bacterianos (número de células por mililitro)	
	C	D
0	4,0E+06	4,0E+06
8	1,0E+07	8,0E+06
24	1,4E+07	1,6E+07
50	2,0E+07	4,0E+07
67	4,0E+07	4,0E+06
94	1,2E+08	3,0E+06

Tabla J. Figura 24. Evolución del pH (izquierda) y ORP (derecha) en función del tiempo para las condiciones C y D.

Tiempo (días)	pH		ORP (mV)	
	C	D	C	D
0	1,66	1,07	619,3	727,0
8	1,78	1,13	617,3	672,3
24	1,80	1,14	618,2	665,6
50	1,73	1,12	619,0	662,5
67	1,50	1,20	657,1	661,8
94	1,60	1,08	657,3	658,0

Tabla K. Figura 25. Concentraciones de uranio (izquierda) y molibdeno (derecha) en función del tiempo para las condiciones C y D.

Tiempo (días)	Concentración de U (ppm)		Concentración de Mo (ppm)	
	C	D	C	D
0	2,3	2,0	0,2	2,0
8	4,1	14,7	0,5	0,0
24	3,9	19,9	0,4	0,0
50	6,6	29,3	0,8	0,0
67	9,5	46,7	0,7	2,4
94	9,3	46,2	0,7	2,2

Tabla M. Figura 26. Concentraciones de hierro divalente (izquierda) y total (derecha) en función del tiempo para las condiciones C y D.

Tiempo (días)	Concentración de Fe (II) (ppm)		Concentración de Fe total (ppm)	
	C	D	C	D
0	77	238	117	283
8	159	997	219	732
24	177	1100	197	924
50	77	998	353	1445
67	409	1044	526	2550
94	385	1018	521	2634