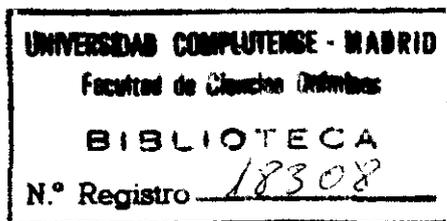


T 632
M 11

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
Facultad de Ciencias Químicas
Departamento de Ciencia de los Materiales
e Ingeniería Metalúrgica

**ESTUDIO DE LA BIOLIXIVIACION DE UN
MINERAL DE URANIO ESPAÑOL**

v-53-1992



Jesús Angel Muñoz Sánchez
Madrid, 1993

Colección Tesis Doctorales. N.º 38/93

© Jesús Angel Muñoz Sánchez

Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía.
Escuela de Estomatología. Ciudad Universitaria.
Madrid, 1993.

Ricoh 3700

Depósito Legal: M-1570-1993



La Tesis Doctoral de D. JESUS ANGEL MUÑOZ

SANCHEZ

Titulada "ESTUDIO DE LA BIOLIXIVACION DE UN MI-
NERAL DE URANIO ESPAÑOL"

Director Dr. D. ANTONIO BALLESTER PEREZ Y D.^a M.^a LUI-
SA BLAZQUEZ PIZUETTERO

fue leída en la Facultad de CIENCIAS QUÍMICAS

de la UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, el día

de JULIO de 19 92., ante el tribunal

constituido por los siguientes Profesores:

PRESIDENTE D. JOAQUIN HERNAEZ MARIN

VOCAL D. JULIO TIJERO MIQUEL

VOCAL D. RICARDO AMILS PIBERNAT

VOCAL D. FRANCISCO CARRANZA MORA

SECRETARIO D. ENRIQUE OTEBO HUEBTA

habiendo recibido la calificación de APTO

CUM-LAUDE (Unanimidad)

Madrid, a 9 de Julio de 19 92

EL SECRETARIO DEL TRIBUNAL.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Departamento de Ciencia de los Materiales e Ingeniería Metalúrgica

**ESTUDIO DE LA BIOLIXIVIACION DE
UN MINERAL DE URANIO ESPAÑOL**

Memoria que para optar al grado de
Doctor en Ciencias Químicas, presenta
JESUS ANGEL MUÑOZ SANCHEZ

DIRECTORES: Dr. ANTONIO BALLESTER PEREZ

Dra. MARIA LUISA BLAZQUEZ IZQUIERDO

MADRID, 1992

A mis padres

A mis tíos, Mery y Sime

**... es conveniente pensar en aquellos
que prosiguen el trabajo que uno
mismo ha empezado.**

(B. Brecht)

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se ha realizado en el contexto del Proyecto Biomin-CR financiado por la Empresa Nacional del Uranio, S.A. Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a las personas que lo han hecho posible:

A mis Directores, los Dres. Antonio Ballester Pérez y María Luisa Blázquez Izquierdo, y a mi Tutora, la Dra. Felisa González González, que me iniciaron en el campo de la bioixiviación y que han continuado apoyándome.

A D. José María Josa, D. Angel Villoria y D. Juan Serrano, por el interés demostrado en todo momento en llevar adelante este proyecto

A D. Jorge Cerdá y al grupo de laboratorio de Saelices el Chico, por los análisis realizados.

Al Profesor Dr. Julián Perera y a mis compañeras de proyecto, Dra. Maribel de Silóniz y Paloma Lorenzo, por su contribución en el apartado microbiológico.

Al Profesor Dr. José María Gómez de Salazar y Caso de los Cobos y a la Dra. Paloma Adeva del CENIM, por su colaboración en el microanálisis de los minerales.

A Enrique Justo Gómez, por su gran ayuda en el montaje y despiece de las columnas.

A mis compañeras/os de trabajo, Consuelo, Rocío, Teresa, María, José Luis, Edu, Paco y Javi, por su *amistad*.

A mi familia, en especial a mi abuela.

INDICE

	<u>pág.</u>
1. INTRODUCCION	1
1.1. Situación actual de la metalurgia extractiva del uranio	2
1.1.1. Lixiviación química de minerales de uranio	6
1.2. Biolixiviación de minerales de uranio	12
1.2.1. Aspectos fundamentales de la biolixiviación	13
<i>Microorganismos implicados en los procesos de biolixiviación</i>	14
<i>Metabolismo de los microorganismos biolixiviadores</i>	16
<i>Factores que afectan a la actividad bacteriana</i>	20
1.2.2. Lixiviación bacteriana del uranio tetravalente	21
1.2.3. Oxidación bacteriana de la pirita	24
1.2.4. El proceso global	26
1.2.5. Práctica industrial	30
1.2.6. La extracción del uranio en España	33
<i>Mina FE</i>	34
2. INTERES Y OBJETIVOS DEL TRABAJO	37
3. PLAN DE TRABAJO	42
4. PARTE EXPERIMENTAL	45
4.1. Materias primas. Procedencia y caracterización	46
4.1.1. Mineral uranífero	46
<i>Análisis granulométrico</i>	48
<i>Análisis químico</i>	51
<i>Análisis microestructural</i>	54

	<u>página</u>
<i>Roca encajante</i>	55
<i>Brecha</i>	60
4.1.2. Piritas	65
<i>Análisis granulométrico</i>	67
<i>Análisis químico</i>	67
<i>Análisis microestructural</i>	69
4.1.3. Elección de muestras tipo	72
4.2. Cultivos bacterianos	73
4.2.1. Técnicas de cultivo	73
4.3. Técnicas experimentales	80
4.3.1. Ensayos en incubador	80
4.3.2. Ensayos en columnas	82
4.4. Sistemática de la experimentación	87
4.4.1. Ensayos en incubador	87
4.4.2. Ensayos en columnas	90
<i>Columnas de vidrio y de metacrilato</i>	90
<i>Columnas de cloruro de polivinilo (PVC)</i>	93
5. RESULTADOS Y DISCUSION	98
5.1. Ensayos con cultivos naturales	100
5.1.1. Ensayos en incubador	101
<i>Planificación de los ensayos</i>	101
<i>Ensayos preliminares</i>	103
<i>Influencia de la actividad bacteriana</i>	103
<i>Influencia de la densidad de pulpa</i>	106
<i>Influencia del tamaño de partícula</i>	109
<i>Influencia del tipo de inóculo</i>	112
<i>Ensayos de estudio de variables</i>	115
<i>Influencia de la aireación</i>	115

<i>Influencia del medio nutriente</i>	118
<i>Influencia de la concentración de ión ferroso</i>	122
<i>Influencia de la adición de pirita</i>	125
<i>Influencia del pH</i>	129
<i>Influencia de la temperatura</i>	132
5.1.2. Ensayos en columnas	136
<i>Planificación de los ensayos</i>	139
<i>Columnas de vidrio</i>	143
<i>Columnas de metacrilato</i>	152
<i>Columnas de PVC (I)</i>	163
<i>Estudio de la adición de pirita</i>	164
<i>Estudio de la actividad bacteriana</i>	168
<i>Estudio de la aireación</i>	174
<i>El proceso de disolución</i>	180
5.2. Ensayos con cultivos aislados	192
5.2.1. Ensayos en incubador	192
<i>Planificación de los ensayos</i>	192
<i>Influencia de la temperatura</i>	194
<i>Influencia del tipo de inóculo</i>	206
5.2.2. Ensayos en columnas de PVC (II)	222
<i>Planificación de los ensayos</i>	222
<i>Estudio de la actividad bacteriana</i>	222
<i>Estudio del tipo de inóculo</i>	227
<i>El proceso de disolución</i>	230
5.3. Recomendaciones de trabajo	236
6. CONCLUSIONES	239
7. BIBLIOGRAFIA	246

INTRODUCCION

1. INTRODUCCION

1.1. Situación actual de la metalurgia extractiva del uranio

La historia de los minerales de uranio ha estado marcada por dos hechos trascendentales.

El primero, el descubrimiento a finales del siglo XIX de la radioactividad del uranio, por A. J. Becquerel, y de la obtención del radio a partir de la pechblenda, por el matrimonio Curie, supone el inicio del procesado de los minerales de uranio desde su descubrimiento en 1789 por M. H. Klaproth. En esta época, los minerales de uranio tenían como principal interés la producción de radio. En dicho proceso, el uranio se consideraba como un *subproducto* relativamente indeseable (1), pues tan sólo tenía aplicación como agente colorante o sustituyendo a algún otro elemento (W o Mo) en determinadas situaciones.

El segundo hecho no ocurre hasta 1939 (2), con el descubrimiento realizado por Hahn y Strassman de las propiedades del isótopo U^{235} , el cual experimenta la fisión nuclear con producción de enormes cantidades de energía; se desarrolla así toda la industria nuclear y, con ella, la metalurgia extractiva del uranio.

Desde entonces, el uranio se ha considerado un *metal estratégico* y su extracción ha estado muy influenciada por cuestiones de índole política y económica.

La crisis energética mundial durante los años setenta originó una subida en los costes de producción que afectó a la industria minera (3). Como consecuencia de esto, las reservas minerales que no podían ser tratadas económicamente aumentaron. Sin embargo, en el caso del uranio, la inseguridad creada en el suministro de combustibles trajo consigo una gran demanda de este elemento como combustible nuclear. En éstos años la NUEXCO (Nuclear Exchange

Corporation) modificó el precio del U_3O_8 de 15 a 95 \$/kg (4) y la recuperación del uranio a partir de depósitos, incluso de ley muy baja, llegó a ser un proceso económicamente atractivo.

A partir de los años 80 (5), las cancelaciones y los retrasos en los programas de energía nuclear, la continua acumulación de uranio y el aumento en los costes de producción hicieron que muchos de los productores de uranio tuvieran que recortar estos costes o que incluso cerraran instalaciones.

Actualmente, las consideraciones económicas y medioambientales y la disminución de la ley del mineral son factores de peso que están haciendo reconsiderar las prácticas mineras y *metalúrgicas y su influencia directa sobre el entorno.*

El beneficio de los minerales uraníferos tiene como objetivo principal el producir concentrados de uranio que cumplan con las especificaciones requeridas, es decir, contenidos de U_3O_8 superiores al 90% (6). Sin embargo, el pequeño porcentaje en que se encuentra el material fisiónable (U^{235}) en los minerales de uranio, obliga a realizar un enriquecimiento del concentrado del metal, pasando del 0.71% de U^{235} a aproximadamente un 3%.

En las centrales nucleares, éstas dos etapas del proceso de elaboración del combustible nuclear, es decir, producción metalúrgica del U_3O_8 y su enriquecimiento en U^{235} , contribuyen con tan sólo un 6 y un 12%, respectivamente, a los costes de producción, siendo el resto gastos de la central (7). Pero es obvio, que para poder trabajar con el combustible nuclear es necesario disponer del concentrado de U_3O_8 .

Para obtener este primer concentrado, el mineral es procesado, generalmente, siguiendo un diagrama de flujo como el que se muestra en la figura 1.

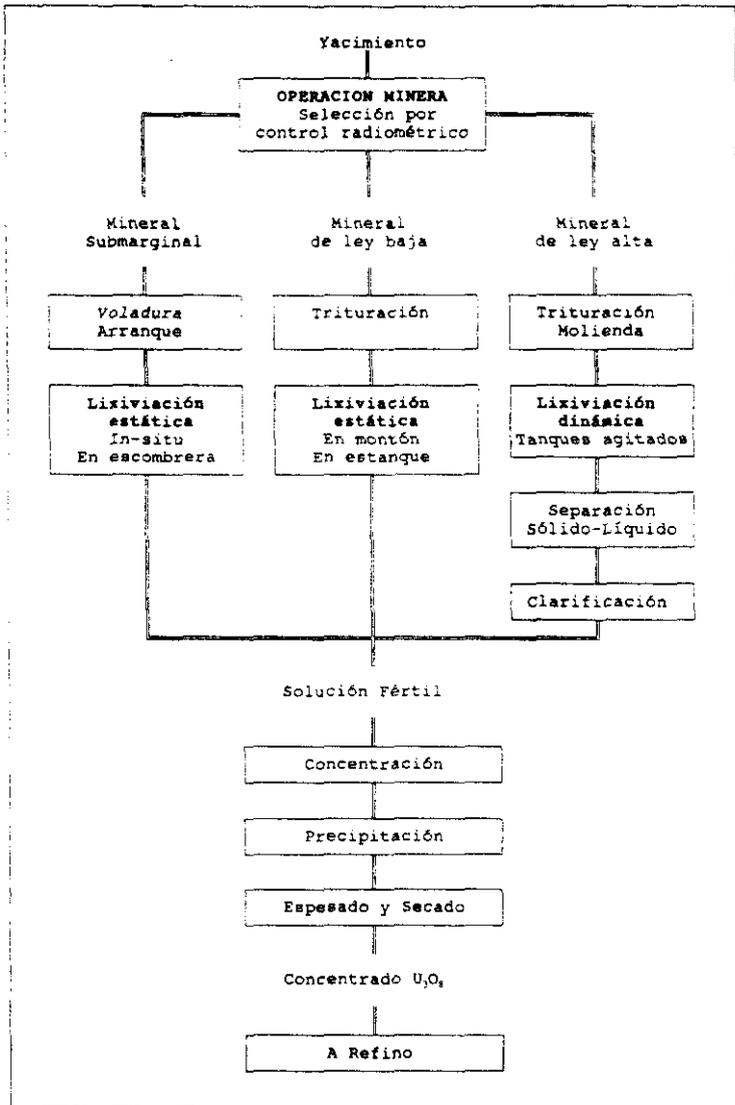


Figura 1. Tratamiento de minerales de uranio.

En este proceso, la etapa fundamental es la de lixiviación (8) ya que, en general, las etapas anteriores se diseñan para producir un mineral de tamaño óptimo para esta operación y las posteriores deben tener en cuenta el producto resultante de la propia lixiviación.

En el caso del uranio, la etapa de lixiviación utiliza distintas técnicas siendo las más frecuentes la solubilización en lecho agitado o en lecho estático, dependiendo de que se traten minerales de alta o de baja ley, respectivamente.

El continuo agotamiento de depósitos de ley alta ha obligado a desarrollar métodos más efectivos para la recuperación del metal a partir de minerales pobres (9).

Para que un mineral de uranio se considere de ley alta debe tener un contenido superior a 1.5 kg de U_3O_8/t de mineral; minerales con contenidos entre 0.5 y 1.5 kg de U_3O_8/t son considerados de ley baja (10). Dado que los minerales de los cuales se extrae comercialmente el uranio poseen solamente alrededor del 0.1% de este elemento (11), puede decirse que, mayoritariamente, se trabaja con minerales de uranio de ley baja. En estas circunstancias, un *tratamiento de lixiviación dinámica no es económicamente viable, siendo necesario recurrir a la lixiviación estática.*

La lixiviación estática ofrece un esquema de operación simple y flexible, con muchas ventajas económicas y medioambientales con respecto a los procesos de lixiviación dinámicos, donde el mineral, finamente molido, es tratado en tanques agitados. Lógicamente, en la lixiviación in-situ o en montones, en donde se tratan minerales en los cuales predomina la ganga, los rendimientos de recuperación son más bajos que los correspondientes a la lixiviación con agitación (del 10 al 20% menos (12)).

En consecuencia, la disponibilidad de grandes tonelajes de menas de ley baja, procedentes de minas nuevas y del agotamiento de minas antiguas, está obligando a replantearse los métodos extractivos. El resultado de todo ello es que, para el tratamiento de minerales de uranio, los procesos de lixiviación estática han comenzado a desplazar a los de lixiviación dinámica (13,14). Así, por ejemplo, la lixiviación estática permite recuperar un 15% del uranio de los minerales de la División Minera de Vendée de la COGEMA (15), que trata menas de uranio de ley baja, que no podrían recuperarse económicamente por un proceso de lixiviación dinámica.

En la práctica industrial, la lixiviación estática supone el riego del mineral con un lixivante desde la parte superior del montón o escombrera mediante aspersores y la recogida de la solución que percola en el fondo. Por tanto, el único requisito impuesto a este tipo de operación es que exista un adecuado movimiento de dicha solución a través del sólido. Para ello, es necesario trabajar con minerales de tamaño de partícula mayores a los utilizados en la lixiviación con agitación, con objeto de evitar el taponamiento del lecho. El resultado es que, en la lixiviación estática, la velocidad de disolución del uranio es más lenta debido a que la superficie de ataque disminuye; sin embargo, la química del proceso de disolución es la misma que en la lixiviación dinámica.

1.1.1. Lixiviación química de minerales de uranio

De acuerdo con la figura 1, el primer paso, después de la preparación del mineral por métodos físicos, es la solubilización del uranio contenido.

El uso de los procesos hidrometalúrgicos para la recuperación de metales a partir de minerales de ley baja ha alcanzado un notable desarrollo en las últimas décadas (13,16). Más concretamente, a partir de los años 50, se desarrolla la extracción del uranio por procedimientos hidrometalúrgicos, lo que permite el tratamiento de minerales incluso muy pobres, con contenidos de tan sólo 0.02% de U_3O_8 (7).

La recuperación del uranio de sus minerales se realiza por dos vías distintas dependiendo de la ganga: por lixiviación ácida o alcalina (17). La lixiviación ácida es, generalmente, más efectiva que la lixiviación básica con carbonato, pues puede llevarse a cabo a temperaturas más bajas y con mineral más grueso. Si bien la lixiviación con carbonato es más selectiva para el uranio, se elige sólo si la roca encajante es fuertemente alcalina. Es decir, la elección entre una y otra está supeditada al tipo de mineralización.

Sin embargo, el ácido sulfúrico diluido es el lixivante más ampliamente utilizado para la extracción del uranio de sus minerales. En torno al 95 % del uranio se extrae mediante la lixiviación con este reactivo (18). En el proceso tan sólo se recupera el uranio del mineral, mientras que el resto de radionúclidos (Ra, Th y Pb) permanecen en el residuo (19). En la práctica industrial, se trata de controlar el contenido de los residuos mediante tratamientos físicos y químicos en los que el radio disuelto se precipita en forma de $(\text{Ba,Ra})\text{SO}_4$, mientras que el torio lo hace aumentando el pH (20).

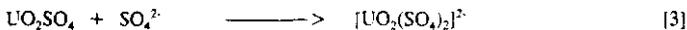
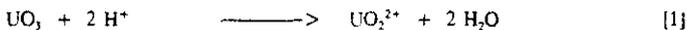
También se han empleado lixiviantes clorurados (FeCl_3 , HCl y NaCl) (21,22,23) y soluciones de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ - HNO_3 (6,24) que, además del uranio disuelven los radionúclidos que lo acompañan. Sin embargo, el proceso resulta más caro y menos efectivo que el convencional con ácido sulfúrico, el cual sólo produce una torta amarilla ("yellow cake") de U_3O_8 (25).

Los metales de transición, tales como el uranio, se encuentran principalmente como óxidos en la corteza terrestre y no como sulfuros (26,27). Debido a su reactividad, el uranio aparece en una gran variedad de minerales, de los cuales sólo unos pocos son de importancia económica. Entre éstos se incluyen la uraninita y la pechblenda, que representan diferentes formas cristalinas del UO_2 en los yacimientos filonianos. Otra diferencia práctica la constituye la presencia, en la uraninita, de cantidades importantes de otros elementos (Th, Pb y tierras raras), que para el caso de la pechblenda resultan insignificantes.

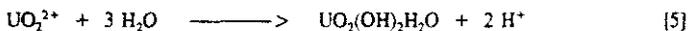
La pechblenda, el principal mineral de uranio, tiene la composición química ideal UO_2 , aunque no existe en la naturaleza un material de esta composición, pues casi siempre está parcialmente oxidado, con conversión de U^{4+} a U^{6+} . El grado de oxidación varía del 17 al 60 por ciento (28). Cuando el mineral se encuentra sobreoxidado ($\text{U}^{6+} > \text{U}^{4+}$) se habla de gummitas.

El método más utilizado para solubilizar el uranio de sus minerales es el ataque en un medio ácido-oxidante (29). En la lixiviación de los minerales de uranio, particularmente de ganga ácida, se aplican, de una u otra forma, soluciones férricas ácidas. El uranio hexavalente es soluble a pH ácido, mientras que la solubilización del uranio tetravalente requiere su oxidación previa a U(VI) con el citado hierro férrico.

Aunque el uranio tiene cuatro estados de oxidación (+3, +4, +5 y +6), las formas tetravalente y hexavalente son las que predominan en las menas minerales (30), siendo mayoritarios los minerales de uranio en que este aparece en la forma tetravalente (31). El uranio hexavalente es rápidamente solubilizado como ión uranilo (UO_2^{2+}) en soluciones ácidas y como complejos de carbonato, fosfato y sulfato en soluciones neutras. El mecanismo para la disolución del uranio hexavalente, en solución ácida, es el siguiente:

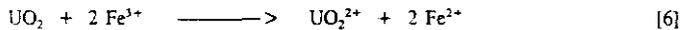


En este mecanismo resulta de gran importancia la presencia de sulfato. Se ha establecido (32) que más o menos el 70% del U(VI) soluble existe como especie $[\text{UO}_2(\text{SO}_4)_2]^{2-}$. Así, la ausencia de agentes complejantes en el lixivante reduciría, en gran medida, la solubilidad del uranio y produciría la precipitación del ión uranilo a través de la reacción de hidrólisis:



Según datos bibliográficos (33,34), la hidrólisis del ión uranilo es más factible termodinámicamente que las reacciones de complejación. Sin embargo, en presencia de exceso de ión sulfato, las reacciones de complejación pueden estar cinéticamente favorecidas con respecto a la reacción de hidrólisis.

Como ya se ha indicado, aunque los óxidos de uranio hexavalente son solubilizados rápidamente, el óxido tetravalente es insoluble y el metal contenido debe oxidarse previamente. En sistemas de lixiviación con ácido sulfúrico, el oxígeno molecular no es un oxidante efectivo para el uranio tetravalente (32,33). Por este motivo, la oxidación de la pechblenda es relativamente lenta en ácido sulfúrico y entonces se usa, comúnmente, ión férrico para favorecer la disolución, según:



Como mostraron Nicol y colaboradores (35), la oxidación tiene lugar a través de un mecanismo superficial de naturaleza electroquímica, que da lugar a dos semireacciones sobre la superficie de la partícula de pechblenda: la oxidación anódica del UO_2 y la reducción catódica del oxidante. La reacción global sería la [6].

Para asegurar unas cinéticas rápidas y una alta extracción de uranio es necesario una elevada concentración de ión férrico o, más precisamente, una alta relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ (que determina el potencial redox). Si la relación $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ es alta, entonces, la velocidad de la reacción aumenta apreciablemente.

El uso de concentraciones altas de ión férrico para promover la lixiviación del uranio fue sugerido por Dutrizac y MacDonald (36). Sin embargo, esta técnica puede ser aplicada sólo si el Fe^{2+} producido durante la lixiviación puede ser reoxidado a Fe^{3+} y reciclado al proceso. O lo

que es lo mismo, para que la disolución del uranio tetravalente con ácido sulfúrico sea efectiva es necesario alcanzar un potencial redox > 400 mV. de acuerdo con el diagrama Eh-pH mostrado en la figura 2.

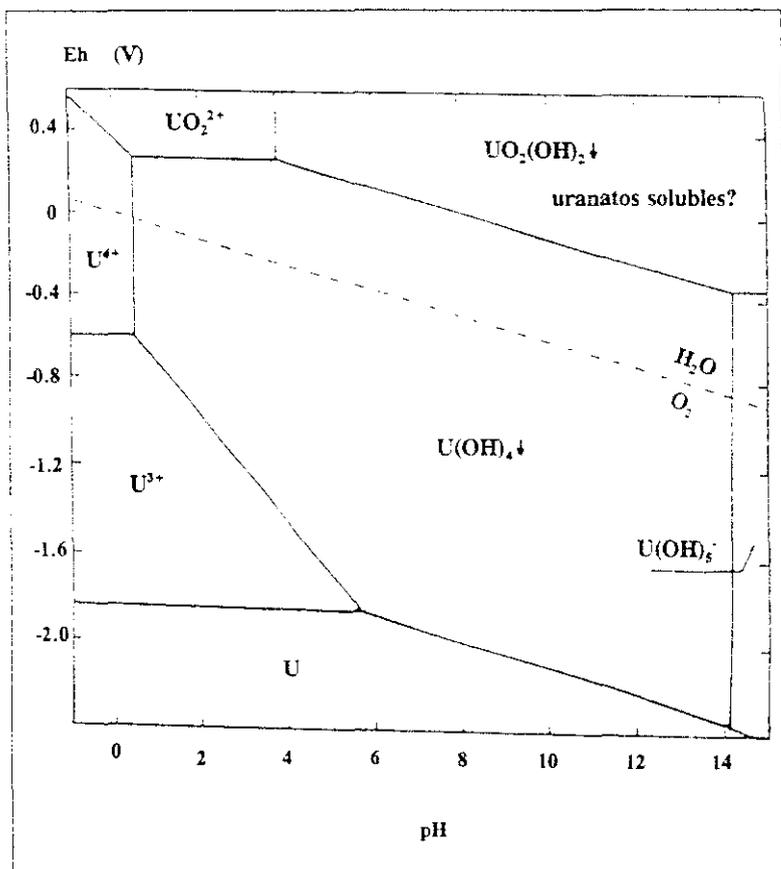


Figura 2. Diagrama Eh-pH del uranio. $C=10^{-3}$ M.

La regeneración del hierro férrico en la lixiviación dinámica, se logra añadiendo distintos reactivos químicos fuertemente oxidantes capaces de mantener el potencial redox en el intervalo de 400 a 500 mV (37). Los oxidantes más empleados han sido clorato sódico, NaClO_3 , (38,39) y pirolusita, MnO_2 , (40,41), que actúan indirectamente convirtiendo el sulfato ferroso, procedente de la disolución del hierro presente en el propio mineral o del introducido durante la molienda, en sulfato férrico:



Sin embargo, el consumo de reactivos es elevado y supone un porcentaje considerable de los costes del proceso (42,43). Así, la utilización de clorato sódico o de la pirolusita depende de la disponibilidad local, lo que afecta al precio final del producto. En USA y Francia, se ha utilizado generalmente clorato sódico, mientras que la pirolusita se ha preferido en Australia y Sudáfrica.

Otro de los problemas planteados ha sido el efecto medioambiental adverso que tienen éstos oxidantes al cargar de impurezas nocivas (V, Mo y ácido silícico) el circuito de lixiviación. Frente a esto, se han sugerido otros oxidantes alternativos, más limpios, como el peróxido de hidrógeno (44,45,46) y el ácido permonosulfúrico (ácido de Caro- H_2SO_5) (42,47). Sin embargo, este último reactivo, aunque tiene ventajas como la de ser líquido evitando así los costes de molienda, resulta incluso más caro que la pirolusita. Por su parte, el peróxido de hidrógeno, que a 30°C es un oxidante más efectivo que el clorato, puede producir la precipitación del ión uranilo, en forma de peróxido, según la siguiente ecuación:



De hecho, a nivel industrial, el peróxido de hidrógeno es, junto con el amoníaco, uno de los reactivos utilizados en la etapa de precipitación del uranio.

Además, durante el proceso de lixiviación, el reactivo también disuelve otros minerales presentes en la ganga. Estas reacciones secundarias son perjudiciales para el proceso de lixiviación global porque consumen oxidante y agentes complejantes. En resumen, la optimización de las condiciones de lixiviación, para extraer selectivamente el uranio, es un factor muy importante.

La facilidad con que el mineral de uranio se disuelve depende, además del sistema de lixiviación (combinación ácido-oxidante), de la concentración del ácido y de la temperatura de lixiviación. En sistemas dinámicos que operan a temperaturas próximas a 75°C, en los que se emplean mezclas de ácido sulfúrico (de 20 a 80 kg de ácido/t de mineral) y clorato sódico o pirolusita (de 2 a 8 kg de oxidante/t de mineral), se obtienen recuperaciones promedio de uranio del 96% en menos de 24 horas (10).

1.2. Biolixiviación de minerales de uranio

Aunque se han desarrollado procesos que tratan minerales de uranio de ley alta, también existen mineralizaciones de uranio de ley baja a las que no es posible aplicar la misma tecnología. Esto ha creado la necesidad de desarrollar procesos económicos rentables para el tratamiento de éstos materiales pobres.

En esta dirección, la lixiviación estática, complementada con el papel activo de los microorganismos, ha sido una de las innovaciones más atractivas. Durante las últimas décadas, países como Estados Unidos, Canadá, Sudáfrica, Australia, etc. (48,49,50) han desarrollado operaciones de lixiviación estática para diversos minerales de ley baja, incluidos minerales de uranio, en las que han participado los microorganismos, aunque de manera no controlada.

Así pues, dentro de los posibles métodos que ofrece la hidrometalurgia para la recuperación del uranio de minerales de ley baja, la lixiviación bacteriana se presenta como una alternativa a los procesos convencionales. Se estima que en un proceso con participación de la biolixiviación se podría ahorrar hasta el 57% de los gastos de operación de una planta convencional (51,52).

Fundamentalmente, se trata de un proceso de bajo coste que requiere únicamente del suministro de agua y aire ya que utiliza los microorganismos presentes en el mineral, en el que también se encuentran, a menudo, los nutrientes necesarios (53,54,55).

El mayor problema en el desarrollo comercial del proceso bacteriano es el relativamente largo tiempo de contacto que se requiere para la solubilización de los metales.

1.2.1. Aspectos fundamentales de la biolixiviación

La lixiviación natural de minerales ha sido admitida durante muchos años en diversos lugares del mundo: Alemania (siglo XVI), Río Tinto, España (siglo XVII), etc. (56,57). Sin embargo, el papel de las bacterias en los procesos de lixiviación no se conoció hasta después de 1.940.

Desde que en 1947, Colmer y Hinckle (58) mostraron que un microorganismo específico, denominado posteriormente *Thiobacillus ferrooxidans* (59), era el responsable de las aguas ácidas de drenaje de las minas de carbón, los procesos microbiológicos han sido considerados los causantes de una parte importante de la solubilización de metales en los ambientes mineros.

Microorganismos implicados en los procesos de biolixiviación

En los procesos comerciales de lixiviación bacteriana toman parte una amplia variedad de microorganismos que viven en asociación simbiótica, y cuyo papel puede considerarse similar al de los catalizadores. Estos microorganismos pueden ser mesófilos y termófilos, autótrofos y heterótrofos.

Una característica que define a la mayoría de los microorganismos que toman parte en las transformaciones de metales es su alta resistencia para evolucionar en ambientes extremos, con condiciones de vida muy agresivas. Estos ambientes, siempre húmedos, pueden diferenciarse entre sí en función de su temperatura o de su composición en sales. Sin embargo, un hecho común a todos ellos es su carácter ácido y su alto contenido en metales pesados, en el caso que nos ocupa, U y Th principalmente.

Entre los microorganismos que toman parte en fenómenos de este tipo, las bacterias del género *Thiobacillus* son las más conocidas y utilizadas. Son organismos unicelulares con forma de bacilo, de 0.25 μ de diámetro y 1 μ de longitud. Viven y se reproducen con extraordinaria facilidad asociados a los ambientes acuosos (pH 2-3 y temperatura ambiente) de las explotaciones mineras. Se trata de organismos quimioautótrofos que, como tales, oxidan sustancias inorgánicas como fuente primaria para su actividad vital; el resultado de estos procesos metabólicos es la solubilización de distintos metales contenidos en los sólidos de la mina.

Durante muchos años, el único microorganismo que se consideró que contribuía de forma importante en los procesos de lixiviación de metales a partir de sus minerales fue el *Thiobacillus ferrooxidans* (60,61). En éstos años, se han descubierto y caracterizado otros microorganismos (*Leptospirillum ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans*, bacterias termófilas, anaerobias y heterótrofas, etc.) que están implicados en la lixiviación en ambientes naturales no controlados;

sin embargo, se desconoce el papel que juegan estos microorganismos, tanto individualmente como en mezclas, en todo el proceso de biolixiviación.

Recientemente se ha demostrado (62,63,64) que las responsables principales de la solubilización del mineral son poblaciones mixtas de bacterias hierro-oxidantes y azufre-oxidantes (*T.ferrooxidans*, *L.ferrooxidans* y *T.thiooxidans*) que existen en sistemas de lixiviación natural a temperatura ambiente.

En general, los procesos de lixiviación industriales operan con la población natural de microorganismos que se desarrollan en las aguas de mina y sobre las materias primas disponibles. De esta manera, la lixiviación en condiciones naturales es el sistema más eficaz para la producción de cultivos perfectamente adaptados a las condiciones reinantes.

Al igual que los *thiobacilli*, las bacterias heterótrofas son capaces de adaptarse a medios que contienen uranio y torio (65) y pueden colaborar, aunque sea indirectamente, al proceso de biolixiviación de minerales de uranio. Tanto los hongos (por ejemplo, *Penicillium*) y las levaduras (por ejemplo, *Rhodoturulula*), como otros organismos heterótrofos, actúan sinérgicamente durante el proceso de lixiviación retirando la materia orgánica producida por los microorganismos autótrofos. Esto resulta beneficioso para el proceso, ya que los compuestos orgánicos inhiben el crecimiento de las bacterias *Thiobacillus* (66). En su contra, ciertos heterótrofos poseen la capacidad de acumular iones metálicos, como el mismo uranio (67), aunque pueden retirar otros que, a determinadas concentraciones, resulten inhibitorios para el crecimiento de algunas especies autótrofas importantes (65). Otros aspectos negativos de la presencia de hongos y/o levaduras en los medios de biolixiviación podrían incluir su participación competitiva en el consumo de oxígeno y la secreción de determinados compuestos orgánicos.

En los últimos años, se ha detectado la presencia de microorganismos termófilos moderados con capacidad para crecer a temperaturas entre 45 y 50°C, las cuales se pueden alcanzar en el interior de los montones (68). Desde 1977, se han aislado una notable diversidad de organismos de este tipo entre los que se encuentran los del género *Sulfobacillus*.

A éstos hay que añadir las bacterias termófilas extremas, que son capaces de oxidar azufre, tanto autótrofa como heterotróficamente, y que crecen entre 60 y 80°C (éstas temperaturas, también se han detectado en operaciones industriales (69)). Entre estas bacterias se encuentran las del género *Sulfolobus*.

La presencia de microorganismos anaerobios, en zonas bajas del montón, es otra posibilidad real, ya que es lógico suponer la existencia de lugares en el mismo donde el oxígeno se encuentre en baja o nula concentración. En éstas condiciones y en presencia de un agente reductor, como la materia orgánica, las bacterias anaerobias, tales como la *Desulfovibrio desulfuricans*, son capaces de reducir los iones sulfato a sulfuro con la consiguiente precipitación de compuestos metálicos insolubles (70).

En la Tabla I se recogen las características de los microorganismos principales que toman parte en los procesos industriales de lixiviación bacteriana de minerales de uranio.

Metabolismo de los microorganismos lixividores

La influencia de los microorganismos en la disolución de sulfuros metálicos es fisiológica y, por tanto, una consecuencia de su ciclo metabólico. La bacteria, como todo organismo vivo, debe obtener energía que compense el gasto por trabajo de transporte, mecánico y de biosíntesis.

Tabla I. *Microorganismos implicados en la biolixiviación de minerales de uranio.*

MICROORGANISMO	CARACTERISTICA	REQUERIMIENTO DE CARBONO	REQUERIMIENTO DE OXIGENO	pH (OPTIMO)	T* (°C) (OPTIMA)
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Oxida: Fe ²⁺ , S ⁰ , U ⁴⁺ , Cu ⁺ , Se ²⁺ , Tiosulfato, Tetrionato, S ⁻	Q.O.	A.	1.2-6.0 (2.5-2.8)	5-40 (28-35)
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	Oxida: S ⁰ , Tiosulfato, Tetrionato	Q.O.	A.E.	0.5-6.0 (2.0-3.5)	10-40 (28-30)
<i>Thiobacillus acidophilus</i>	Oxida: S ⁰ , Compuestos orgánicos	Q.F.	A.	1.5-6.0 (3.0)	(25-30)
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	Oxida: Fe ²⁺ , Pirita	Q.O.	A.	1.5-4.5 (2.5-3.0)	20-40 (30)
<i>Sulfolobus thermosulfioxidans</i>	Oxida: Fe ²⁺ , S ⁰ , S ⁻	A.F.	A.	1.9-3.0 (1.9-2.4)	20-60 (50)
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	Oxida: Fe ²⁺ , S ⁰	A.F.		2.0-7.0 (2.0-3.0)	55-85 (70-75)
<i>Acidianus brierleyi</i>	Oxida: S ⁰ , Extracto de levadura	Q.F.	A.E.	1.0-6.0 (1.5-2.0)	45-75 (70)
<i>Pseudomonas</i>	Acumula U, Cu, Pb intracelularmente	H.	A.E.	7-8.5	4-43 (30)
<i>Penicillium</i>	Acumula U, Ra, Pb en la pared celular	H.	A.E.	(5.0)	15-30
<i>Rhizopus</i>	Acumula U, Th, Ra en la pared celular	H.	A.E.	(5.0) (4.0)	(24-27)
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Retira U y Cu de la solución	H.	An.	(4.0-7.0)	0-44 (25-30)

Q.O.: Quimiolitótrofo obligado; Q.F.: Quimiolitótrofo facultativo; A.F.: Autótrofo facultativo; H.: Heterótrofo; A.: Aerobio; A.E.: Aerobio estricto; An.: Anaerobio

Este metabolismo implica la oxidación de compuestos inorgánicos para la generación de energía (síntesis de ATP [adenosin trifosfato]). En el caso del *T.ferrooxidans* la fuente de energía es hierro reducido, aunque también puede utilizar el azufre elemental u otros compuestos de azufre reducidos.

La oxidación del hierro se produce por un mecanismo bioquímico en presencia de un aceptor terminal de electrones, que en la respiración aerobia es el oxígeno. La secuencia de reacciones para este mecanismo puede resumirse de la siguiente manera: el Fe^{2+} es oxidado, a alta velocidad, por la enzima hierro citocromo c reductasa (Rusticianina) en el espacio periplasmático (el pH del mismo impide su precipitación); los electrones resultantes de esta oxidación entran en la cadena de enzimas respiratorias hasta reducir el oxígeno y producir finalmente ATP mediante fosforilación oxidativa. Al mismo tiempo que los electrones, son asimilados por la célula protones y el oxígeno, que se combinan formando H_2O . El transporte de protones se debe al fuerte gradiente de pH que existe entre el exterior y el interior de la célula (figura 3).

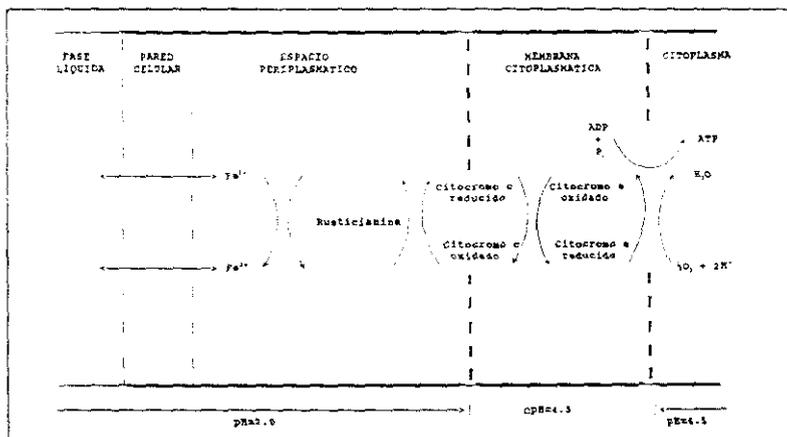


Figura 3. Cadena respiratoria de transporte de electrones para la obtención de energía por *Thiobacillus ferrooxidans*.

La energía obtenida en este proceso la utiliza el *Thiobacillus ferrooxidans* para la asimilación de CO_2 como única fuente de carbono. La fijación del dióxido de carbono es un proceso de reducción y, en consecuencia, las bacterias autótrofas deben proveerse de un dador de electrones como NADH (nucleótido de piridina reducido), que sintetizan por un proceso de transporte inverso de electrones con consumo de ATP. De esta manera, el CO_2 es reducido a gliceraldehído-3-fosfato que participa en el metabolismo celular a través del ciclo de Calvin-Benson (figura 4).

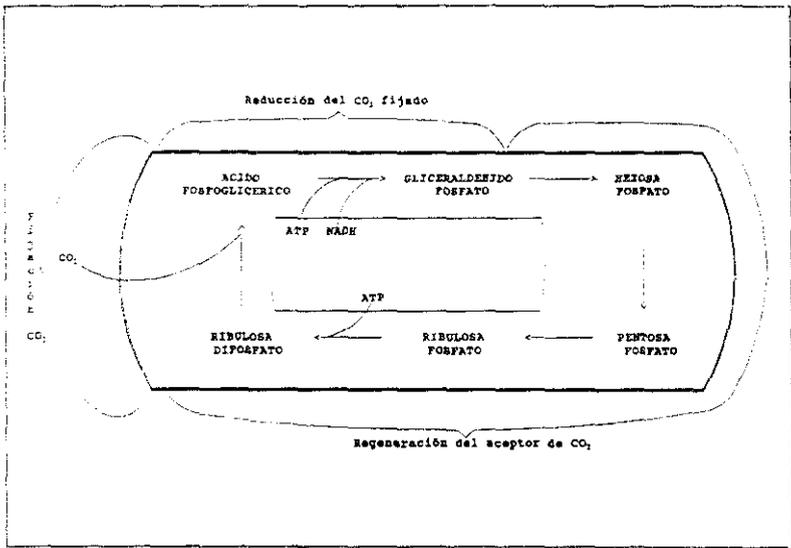


Figura 4. Ciclo de Calvin-Benson: principales constituyentes celulares y fases del ciclo.

Además del oxígeno y el carbono, éstos microorganismos requieren de otros nutrientes para su crecimiento y actividad metabólica. Entre éstos hay que destacar: N, H, S, P, K y Mg, los cuales entran en la célula bacteriana, mayoritariamente, por **transporte activo**, aunque algunos lo hacen por difusión (71). El transporte activo está referido a los procesos en los que los nutrientes son bombeados a través de la membrana, de manera que se acumulan en el citoplasma, químicamente inalterados, pero a una concentración elevada. Paradójicamente, en el medio externo se encuentran a baja concentración.

Otro aspecto importante de este proceso es la tolerancia de *T.ferrooxidans* a los metales pesados. Los iones metálicos pueden tener un efecto específico sobre las enzimas del ciclo de Calvin-Benson o pueden interferir directamente en la producción de ATP y NADH. Concretamente, el ión uranilo (UO_2^{2+}) es un inhibidor de la oxidación del hierro y de la fijación del dióxido de carbono, al unirse a los principales componentes celulares (72). No obstante, los estudios realizados (73,74) han demostrado que la tolerancia de *T.ferrooxidans* al uranio puede superarse, en parte, mediante su adaptación al medio, llegándose a alcanzar una tolerancia de 12 g de U_3O_8/L .

Factores que afectan a la actividad bacteriana

Aunque todavía existen muchos aspectos básicos que se desconocen de la bioquímica y de las funciones metabólicas del *Thiobacillus ferrooxidans*, lo que sí está comprobado es su aplicabilidad a la lixiviación en montones. Así, es posible decir que, en una era bien construida, los microorganismos son autosuficientes.

En las operaciones industriales de lixiviación microbiológica son muchos los factores que influyen y, junto a los parámetros de diseño de la propia era, se deben considerar también aquellos que condicionan la actuación de los microorganismos implicados en el proceso.

En la *biolixiviación de minerales de uranio* hay dos hechos relevantes que afectan al rendimiento de extracción: uno biológico y otro químico-físico. Por un lado, se han de conseguir las condiciones óptimas para el crecimiento de los microorganismos que intervienen en la biolixiviación y, por otra parte, se han de dar las condiciones químicas y físicas necesarias para que el sistema funcione.

En el primer caso, los factores más importantes en la oxidación microbiológica (y, por consiguiente, en la actividad bacteriana) de sulfuros minerales son: una adecuada **humedad** (como vehículo para la transferencia y evacuación de productos químicos), la **temperatura** y el **pH** correctos (relacionados con el crecimiento microbiano y con la oxidación y precipitación del hierro), un adecuado suministro de **nutrientes básicos** (su deficiencia puede llegar a ser un factor controlante de la actividad bacteriana) y la ausencia de **agentes inhibidores** (que, como los compuestos orgánicos, tienden a impedir el crecimiento de los microorganismos).

En el segundo, las variables más importantes son: presencia de **sulfuros** susceptibles de oxidación bacteriana, **tamaño de partícula** del mineral (que determina el área superficial específica expuesta al ataque), accesibilidad del **oxígeno** y la **humedad** a las superficies minerales (relacionadas con el grado de compactación y permeabilidad del medio), el consumo de **ácido** (dependiente de la ganga existente en el mineral) y la **precipitación** de sales férricas básicas que bloquean las vías de percolación del líquido.

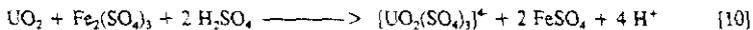
1.2.2. Lixiviación bacteriana del uranio tetravalente

Se estima que en la lixiviación estática, la biolixiviación es responsable de la solubilización de una parte importante del uranio (75). El principio del método consiste en lixiviar el uranio con sulfato férrico, producido a partir de la pirita por la acción bacteriana, que, a su vez, puede volver a ser regenerado por la bacteria. Es decir, durante el proceso, los microorganismos no

atacarían directamente al mineral de uranio, sino que crearían las condiciones químicas necesarias para su disolución (76).

De manera general, los procesos de lixiviación bacteriana parece que sólo ocurren en la naturaleza cuando están presentes sulfuros metálicos. Así pues, la lixiviación del uranio asistida por bacterias tiene lugar preferentemente cuando un mineral de sulfuro de hierro aparece en cantidad suficiente en la mena junto con el mineral de uranio (50).

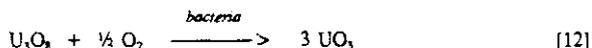
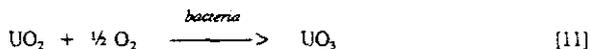
Comúnmente, los minerales de uranio están asociados con sulfuros metálicos (77), de forma que el óxido de uranio puede ser lixiviado como una consecuencia química de la lixiviación biológica de sulfuros de hierro, usualmente pirita, del propio mineral. Las soluciones producidas microbiológicamente a partir de la pirita contienen dos potentes lixiviantes: sulfato férrico y ácido sulfúrico. El sulfato férrico, entonces, ataca el mineral de uranio transformando a este desde la forma tetravalente, insoluble, a la forma hexavalente, soluble en el ácido sulfúrico. La oxidación química y la solubilización del uranio vendrían dadas por la siguiente reacción:



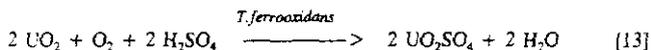
En este proceso se requiere suficiente cantidad de ácido para mantener el $\text{pH} \leq 2.5$, lo que favorece la formación del complejo férrico más efectivo, FeSO_4^+ , que supone un 80% del Fe(III) en solución (32). De nuevo puede observarse la importancia del ión sulfato en el lixivante, pues la ausencia del mismo daría lugar a la presencia de especies de Fe^{3+} libres y a la precipitación de Fe(OH)_3 . Además, al generar SO_4^{2-} , la bacteria limita la solubilidad del radio (78).

Adicionalmente, ciertos microorganismos pueden regenerar el ión férrico mediante la oxidación del Fe^{2+} formado en la ecuación [10], como se mostrará posteriormente.

No hay pruebas concluyentes con respecto a que la bacteria pueda oxidar directamente los óxidos de uranio, tal como sugiere Zajic (79), según las reacciones:



Sin embargo, el hecho de que la oxidación del uranio tenga lugar más rápidamente en presencia de *thiobacilli* que con sólo hierro férrico, sugiere que esté ocurriendo una oxidación complementaria del uranio catalizada por la bacteria. Recientes investigaciones calorimétricas y respirométricas (80,81) apoyan la tesis de que el uranio tetravalente es oxidado por el *Thiobacillus ferrooxidans* de acuerdo con la siguiente reacción:



No obstante, la velocidad a la que tendría lugar esta reacción sería 30 veces inferior a la de la oxidación del hierro (77,82). Además, no se ha comprobado el crecimiento de *T.ferrooxidans* sobre compuestos de U(IV), como única fuente de energía (82,83).

Por consiguiente, la bacteria podría jugar dos papeles en esta oxidación: la oxidación directa del U^{4+} a U^{6+} , o el papel intermedio de suministrar Fe^{3+} como oxidante.

La bibliografía (84,85,86,87) abunda en que es fundamentalmente el proceso indirecto el que actúa en este tipo de sistemas, ya que durante la lixiviación en montón o en escombrera la oxidación microbiana directa de los minerales de uranio no es significativa como consecuencia de la gran cantidad de hierro férrico generado a partir de la pirita. Es decir, la lixiviación bacteriana de los minerales de uranio es un proceso en dos etapas: lixiviación bacteriana de la

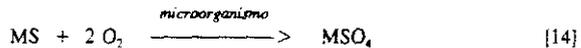
pirita y lixiviación del uranio con los productos metabólicos resultantes de la oxidación de la pirita. Así, la disolución de los minerales uraníferos está supeditada al ataque de la pirita.

El hecho de que el sulfato férrico se regenere por oxidación bacteriana de la pirita hace de esta una materia prima indispensable en los procesos de biolixiviación de minerales de uranio. Por este motivo esta posibilidad de ataque no ha sido muy empleada para la extracción del uranio de sus menas pues la tecnología está limitada a minerales que poseen abundancia de sulfuros. En este sentido, los minerales del Este del Canadá son especialmente susceptibles a este tipo de proceso pues la pirita está asociada con el uranio (88,89). Por el contrario, los minerales de uranio de las zonas de Nuevo Méjico, Montañas Rocosas y Sur de Tejas, son menos adecuados para la lixiviación bacteriana por la razón contraria (84,90).

Por lo tanto, para evaluar la biolixiviación de los minerales de uranio es fundamental conocer el mecanismo de oxidación bacteriana de la pirita, puesto que es la responsable de la regeneración continua del medio ácido y oxidante necesarios.

1.2.3. Oxidación bacteriana de la pirita

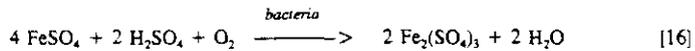
La lixiviación biológica de sulfuros metálicos se puede definir como un proceso de oxidación bioquímica catalizado por microorganismos:



donde M es un metal bivalente.

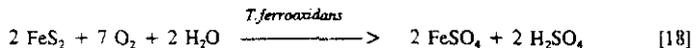
Debido a estas reacciones, muchos sulfuros metálicos insolubles son degradados a sulfatos metálicos solubles. Un caso típico es el de la pirita, cuya degradación microbiológica puede ser directa o indirecta.

Probablemente, el factor más significativo en el aumento de la velocidad de oxidación de la pirita, en un medio húmedo, sea la presencia de bacterias del tipo *Thiobacillus ferrooxidans*. Aunque el mecanismo de actuación de la bacteria no está completamente resuelto, muchos investigadores siguen la sugerencia de Sutton y Corrick (91), según la cual, las reacciones más importantes en el proceso de disolución son las siguientes:



Es decir, se postula una solubilización del metal (hierro) por interacción del sustrato (pirita) con productos metabólicos (sulfato férrico). Además, el sulfato ferroso formado en la reacción [17] es de nuevo reoxidado por el *T.ferrooxidans* a sulfato férrico, susceptible de atacar a más mineral (tanto pirita como, en su caso, óxidos de uranio). En este punto hay que recordar que si bien el sulfato ferroso es oxidado por el aire en ausencia de bacterias, en presencia de *T.ferrooxidans* la velocidad de oxidación aumenta entre 10^5 y 10^6 veces (84,92,93).

Sin embargo, hay evidencias que sugieren que la bacteria también opera directamente sobre la pirita. En este caso, la transformación de la pirita se realiza a través de una oxidación enzimática, según la siguiente reacción global:



En una etapa posterior el sulfato ferroso es oxidado rápidamente por el *T.ferrooxidans* a sulfato férrico, de acuerdo con la ecuación [16].

Silvermann (91) concluyó que: "Es probable que los dos mecanismos de oxidación de la pirita operen simultáneamente: el mecanismo de contacto directo que requiere un contacto físico entre la bacteria y las partículas de pirita, y el mecanismo de contacto indirecto, según el cual, la bacteria oxida los iones ferroso al estado férrico y, de esta forma, se regeneran los iones férrico requeridos para la oxidación química de la pirita".

1.2.4. El proceso global

El proceso global de disolución de la pirita y de los minerales de uranio podría esquematizarse de la siguiente forma:

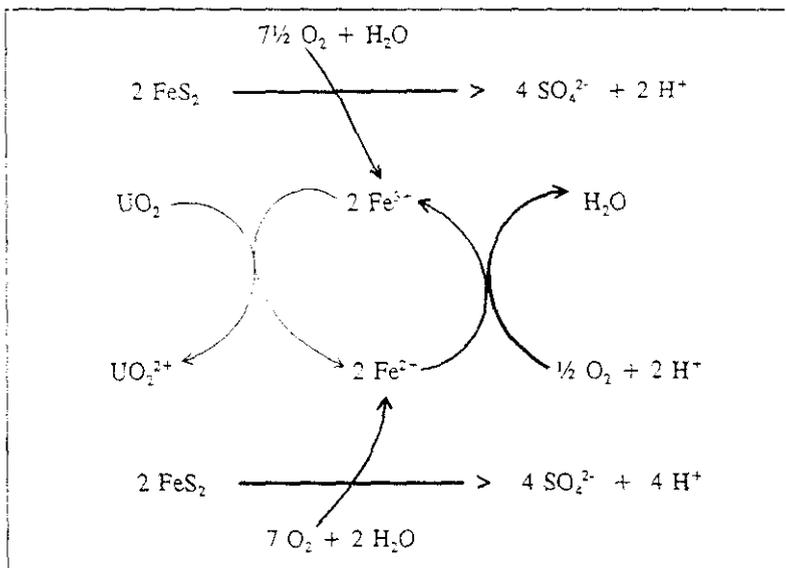


Figura 5. Solubilización de la pechblenda y de la pirita en un medio que contiene *Thiobacillus ferrooxidans*. La pirita puede oxidarse completamente a Fe(III) y ácido sulfúrico, o incompletamente a Fe(II) y ácido sulfúrico. La relación Fe(III)/Fe(II) establece la disolución del U(IV) a U(VI). Las líneas de trazo grueso indican las reacciones catalizadas por *T. ferrooxidans*.

Debido a los muchos factores involucrados, la efectividad de la lixiviación depende de la naturaleza de la roca matriz, de la mineralización del uranio y de la génesis de su yacimiento. Por todo ello, las condiciones de lixiviación han de establecerse para cada mineral (85), si bien existen criterios previos que son perfectamente válidos como puntos de referencia.

Por lo que se refiere a la génesis del yacimiento, se han realizado muchos intentos para clasificar los diversos tipos de depósitos de uranio. Probablemente, la división más acertada sea la adoptada por los grupos de trabajo de la International Atomic Energy Agency (IAEA), que los diferencia en: depósitos sedimentarios y areniscas; conglomerados de uranio asociados a cuarzo; depósitos filonianos y similares (pizarras); y otros depósitos. Los estudios realizados (83) han demostrado que tanto en Europa, como en USA, los depósitos filonianos incluyen, entre sus componentes, piritita y otros sulfuros minerales. Por consiguiente, ateniéndonos a este hecho podemos decir que los yacimientos filonianos son, en principio, susceptibles de un tratamiento de biolixiviación.

En cuanto a la naturaleza de la roca encajante, cuando la matriz sea alcalina es probable la formación de precipitados insolubles (por ejemplo, yeso) que dificultan las vías naturales de percolación del líquido lixivante. En Estados Unidos (91) se admite que un contenido de carbonato cálcico por encima del 3% tiene como consecuencia una reducción considerable de la velocidad de flujo. Leyes entre el 3 y el 8% hacen que las extracciones de uranio caigan por debajo de los valores normales y contenidos superiores al 8-10% provocan un bloqueo completo del lecho. Por el contrario, cuando la roca matriz tenga un comportamiento ácido, como es el caso del cuarzo, el consumo de ácido por la roca será bajo y de esta forma se favorecerá el proceso de disolución del uranio.

Otro hecho significativo de la roca matriz es la cantidad de nutrientes bacterianos aportados por la misma. Esto es, el medio sólido debe contener, como mínimo, los requerimientos nutricionales básicos para que el desarrollo y actuación de los microorganismos no se paralice.

Así, se encontró (94) que las pizarras que contienen uranio eran un buen material para la lixiviación bacteriana pues aportaban todos los ingredientes necesarios de un medio bacteriano: sulfuros, hierro, fosfatos, nitrógeno, sustancias orgánicas y microelementos.

En cuanto a la mineralización de uranio, su influencia no está clara. Miller, Napier y Wells sugirieron (95) que los minerales refractarios, tales como la brannerita, serían difíciles de tratar. Sin embargo, en las minas de la zona de Elliot Lake (Canadá), que son principalmente de este mismo mineral, la lixiviación bacteriana se ha practicado con muy buenos resultados. La Tabla II muestra la respuesta de diferentes mineralizaciones de uranio frente a la biolixiviación. Según esta, óxidos, fosfatos, sulfatos y carbonatos se solubilizan con relativa facilidad, mientras que no es posible, o muy difícil, la disolución de silicatos.

Si bien no ha habido un estudio definitivo de la influencia del tipo de mineralización de uranio sobre la lixiviación bacteriana, los estudios bibliográficos (88,95,96) realizados al respecto indican que el contenido de pirita del mineral es fundamental. La Tabla III muestra la mineralogía de varias menas de uranio. Así, y como hecho significativo, se ha encontrado que todos estos minerales, excepto los de Dyson's, Mary Kathleen y Umtali, son capaces de servir de soporte para el crecimiento de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*. En los tres casos apuntados, la carencia de pirita explicaría su inoperancia en un proceso de biolixiviación. Además, el resto de minerales, a excepción del de Valinhas, están formados, principalmente, por silicatos, por lo que el consumo de ácido será relativamente bajo. En definitiva, una cuestión de importancia económica será la concentración mínima de pirita, es decir, la "cantidad real" a la cual la oxidación bacteriana tendrá lugar.

En líneas generales, puede decirse que si el mineral es pirítico, tiene pocos carbonatos, el uranio no está presente como silicatos o asociado a una fase resistente al medio y las bacterias hierro-oxidantes actúan en un ambiente que les sea adecuado (presencia de nutrientes esenciales y ausencia de agentes inhibitorios), los rendimientos de extracción de uranio serán altos.

Tabla II. *Biolixiviación de minerales de uranio (30).*

MINERAL DE URANIO	COMPOSICION QUIMICA	GRADO DE BIOLIXIVIACION
Uraninita	UO_2	+
Gummita	$UO_3 \cdot nH_2O$	+
Becquerelita	$CaU_6O_{19} \cdot 11H_2O$	+
Brannerita	$(U, Ca, Ce)(Ti, Fe)O_6$	+
Davidita	$(Fe, Ce, U)_2(Ti, Fe, V, Cr)_5O_{12}$	+
Cofinita	$U(SiO_4)_{1-x}(OH)_{4x}$	-
Uranofano	$Ca(UO_2)_2Si_2O_7 \cdot 6H_2O$	+-
Sklodowskita	$Mg(UO_2)_2Si_2O_7 \cdot 6H_2O$	+-
Autunita	$Ca(UO_2)_2(PO_4)_2 \cdot 12H_2O$	+
Torbernitita	$Cu(UO_2)_2(PO_4)_2 \cdot 8H_2O$	+
Uramfita	$NH_4 \cdot UO_2 \cdot PO_4 \cdot 3H_2O$	+
Zeunerita	$Cu(UO_2)_2(AsO_4)_2 \cdot 12H_2O$	+
Carnotita	$K_2(UO_2)_2(VO_4)_2 \cdot 3H_2O$	+-
Tyuyamunita	$Ca(UO_2)_2(VO_4)_2 \cdot 8H_2O$	+-
Zippeita	$(UO_2)_2(SO_4)(OH)_2 \cdot 4H_2O$	+
Uranopilita	$(UO_2)_6SO_4(OH)_{10} \cdot 12H_2O$	+
Johannita	$Cu(UO_2)_2(SO_4)_2(OH)_2 \cdot 6H_2O$	+
Schrockeringerita	$NaCa_3UO_2SO_4(CO_3)_3F \cdot 10H_2O$	+
Compuestos urano-orgánicos		+

+ : fácil

- : difícil

+- : variable

Tabla III. Mineralogía de varias menas de uranio (95).

MINA (Situación)	Mineralización de uranio					Pirita (%)	Roca encajante	
	Pechblenda	Brannerita	Torberanita	Sklodovskita	U ₃ O ₈ (%)		Silicato	Carbonato
<i>Urgenica</i> (Portugal)	P	-	-	-	0.1	5	P	-
<i>Bica</i> (Portugal)	S	-	P	-	0.15	1	P	-
<i>Valinhas</i> (Portugal)	P	-	S	-	0.14	0.5	P	S
<i>Dyson's</i> (Australia)	-	-	-	P	0.27	-	P	-
<i>Mary Kathleen</i> (Australia)	P	-	-	-	>0.30 <0.36	-	P	-
<i>Umtali</i> (Zimbabwe)	P	-	-	-	1.25	-	P	S
<i>Elliot Lake</i> (Canada)	S	P	-	-	>0.07 <0.15	5-10	P	-
<i>Witwatersrand</i> (Sudáfrica)	P	P	-	-	>0.005 <0.020	1-4	P	-

P = Principal S = Secundario

1.2.5. Práctica industrial

En los últimos años, los procesos microbiológicos han adquirido una gran relevancia en la industria extractiva metálica (16,46,97). La lixiviación bacteriana está siendo aplicada, en operaciones a gran escala y en todo el mundo, para la extracción del cobre de minerales de baja ley, para el tratamiento de minerales refractarios de oro y para la recuperación de uranio de minerales ricos en sulfuros (92,94,98). Un pronóstico económico publicado por Gorham

International, Inc. estima que para el año 2000, podrían producirse 5 billones de dólares en metales recuperados por tecnologías bioextractivas (89).

Uno de los primeros estudios (96) realizados sobre biolixiviación de minerales de uranio concluyó que esta técnica podría aplicarse económicamente, a escala industrial, a minerales con leyes entre el 0.05 y el 0.15% de U_3O_8 . Así, la industria metalúrgica del uranio ha venido utilizando la lixiviación bacteriana para la recuperación del mismo de minerales de ley baja (49).

La implicación catalítica del *T.ferrooxidans* en la solubilización del uranio de sus minerales, se conoce desde hace tres décadas (años 60) (77,99). Desde entonces, la biolixiviación a escala industrial, utilizando *T.ferrooxidans*, se ha venido practicando en diversos lugares del mundo, en algunos casos, como el principal proceso para la extracción de uranio (90,100,101).

En el tratamiento de minerales de uranio por lixiviación bacteriana, los métodos industriales aplicados han sido estáticos: in-situ, en escombreras, en montones y en estanques (figura 6).

La primera producción comercial de uranio por lixiviación bacteriana tuvo lugar en Portugal, en la mina Urgeirica, en 1.950 (102). Durante el período 1.952-1.962, se recuperaron casi 44 t. de U_3O_8 usando esta técnica, lo que representó una recuperación global del 66% del uranio contenido en el mineral.

Por su parte, estimaciones recientes (103) cifran entre el 10 y el 20% la producción de uranio canadiense obtenida a través de procesos en los que participa, de alguna manera, la biolixiviación. Así, la bioextracción se aplica, hoy en día, como el principal método para la recuperación de uranio de montones y fracturas en diversas minas del distrito de Elliot Lake (Canadá) (57,99,104,105).

OPERACION	CARACTERISTICAS	
 <p data-bbox="238 429 404 454"><i>Lixiviación In-Situ</i></p>	<p data-bbox="529 235 600 260">Mineral</p> <p data-bbox="529 285 642 310">Tratamiento</p> <p data-bbox="529 357 614 382">Duración</p> <p data-bbox="529 404 625 429">Capacidad</p>	<p data-bbox="727 235 834 260">Submarginal</p> <p data-bbox="727 285 802 310">Voladura</p> <p data-bbox="727 357 812 382">5-25 años</p> <p data-bbox="727 404 876 429">4.10⁶ t de mineral</p>
 <p data-bbox="202 686 440 711"><i>Lixiviación en escombreras</i></p>	<p data-bbox="529 495 600 520">Mineral</p> <p data-bbox="529 542 642 567">Tratamiento</p> <p data-bbox="529 614 614 639">Duración</p> <p data-bbox="529 661 625 686">Capacidad</p>	<p data-bbox="727 495 823 520">De ley baja</p> <p data-bbox="727 542 802 567">Arranque</p> <p data-bbox="727 614 812 639">3-20 años</p> <p data-bbox="727 661 876 686">5.10⁶ t de mineral</p>
 <p data-bbox="217 947 429 972"><i>Lixiviación en montones</i></p>	<p data-bbox="529 752 600 777">Mineral</p> <p data-bbox="529 799 642 824">Tratamiento</p> <p data-bbox="529 871 614 896">Duración</p> <p data-bbox="529 918 625 943">Capacidad</p>	<p data-bbox="727 752 823 777">De ley baja</p> <p data-bbox="727 799 823 824">Trituración</p> <p data-bbox="727 871 802 896">1-2 años</p> <p data-bbox="727 918 876 943">3.10⁵ t de mineral</p>
 <p data-bbox="217 1207 429 1232"><i>Lixiviación en estanques</i></p>	<p data-bbox="529 1009 600 1034">Mineral</p> <p data-bbox="529 1056 642 1081">Tratamiento</p> <p data-bbox="529 1128 614 1154">Duración</p> <p data-bbox="529 1176 625 1201">Capacidad</p>	<p data-bbox="727 1009 823 1034">De ley baja</p> <p data-bbox="727 1056 823 1081">Trituración</p> <p data-bbox="727 1128 812 1154">10-30 días</p> <p data-bbox="727 1176 876 1201">5.10³ t de mineral</p>

Figura 6. Métodos de lixiviación estática.

Países como Estados Unidos, Brasil, Sudáfrica, Australia, Hungría, Francia, etc., también han utilizado procesos industriales, con la participación de microorganismos biolixiviantes, para la recuperación del metal (102,106,107).

Desde 1952, otra importante fuente de uranio ha sido las aguas de mina. Estas aguas se han procesado para recuperar el uranio disuelto como un suplemento a la lixiviación dinámica o estática. La producción mundial por este método se estima en más de 3.000 t de U_3O_8 /año (102). Baste decir que en Nuevo Méjico, en 1988, las aguas de mina contribuyeron con un 18% a la producción total, llegando en 1985 al 28%.

También se han estudiado y aplicado (79,108,109,110) procesos que combinan la lixiviación química y la lixiviación bacteriana para la recuperación del uranio. Estos sistemas aplican la biooxidación para el tratamiento de soluciones ferrosas agotadas, procedentes de la lixiviación con agitación. A nivel industrial se emplea la técnica Bacfox en la que la oxidación se realiza mediante una película bacteriana, que utiliza como soporte láminas de plástico, en presencia de oxígeno disuelto. Con este sistema, los requerimientos de oxidante disminuyen, además de mejorar la extracción de U_3O_8 .

1.2.6. La extracción del uranio en España

La demanda de uranio en España aumentó sustancialmente cuando los nuevos reactores nucleares, contemplados en el Plan de Energía Nacional (1975-1985), comenzaron a trabajar. La Junta de Energía Nuclear (JEN, hoy CIEMAT) fue la encargada de investigar y desarrollar los procesos de recuperación de uranio (111). Posteriormente, la explotación de los minerales de uranio españoles le fue dada a la Empresa Nacional del Uranio S.A. (ENUSA).

España es, después de Francia, el país de Europa con mayores reservas y producción de uranio (112). Las reservas españolas de uranio ascienden a unas 40.000 t de U_3O_8 , de las cuales el 74% están en la provincia de Salamanca (86). Precisamente la mina de uranio más importante en España, mina FE, está situada a 8 km al NO de Ciudad Rodrigo, próxima a Saelices el Chico, Salamanca. El yacimiento de uranio FE, con unas reservas de 9.000 t de U_3O_8 , es el mayor conocido de la Península Ibérica. Fue descubierto por la JEN en 1957 y puesto en explotación por ENUSA en 1974, con una producción actual de 270 t de U_3O_8 /año (51), lo que representa el 87% de la producción española de uranio. El resto procede de una planta pequeña, que trata pizarras muy alteradas, situada en La Haba (Badajoz).

Mina FE

La morfología del yacimiento de la mina FE ha quedado perfectamente establecida en diferentes revisiones realizadas sobre el tema (113,114,115,116). El yacimiento, que es muy heterogéneo, se presenta en filones brecha (donde se encuentran los minerales de uranio) que están flanqueados por gruesas estructuras de roca encajante (principalmente, silicatos). El estrato superior, que representa una fracción pequeña de las reservas de uranio totales de la mina, ha estado afectado por procesos supergénicos y contiene minerales de uranio secundarios. Los estratos más profundos, con las mayores reservas, contienen pechblenda y gummita, como minerales de uranio primarios. Comparadas con otras, las pechblendas de FE están poco oxidadas (por término medio, el % de U^{4+} es $> 90\%$). La mineralización no uranífera más importante es la pirita, la cual aparece también en la roca encajante.

Sin embargo, los aspectos relacionados con el proceso de disolución del uranio no han tenido un seguimiento similar. Desde que se inició su explotación, se ha pasado de una lixiviación estática ácida (química, con dosis de 30 kg de H_2SO_4 /t de mineral) a una lixiviación estática con

acidez suave (**biolixiviación**, con un consumo de 2 kg de H_2SO_4 /t de mineral). Por consiguiente, puede decirse que el 87% del uranio producido en España lo es por biolixiviación.

La explotación que realiza ENUSA en la Mina FE utiliza un proceso extractivo que se concreta en las siguientes etapas: después de una minería a cielo abierto, de la que resulta un mineral con un contenido medio de 600 g de U_3O_8 /t, se efectúa una trituración y un desmuestre: el mineral (< 10 cm) se somete a un proceso de lixiviación estática a temperatura ambiente, seguido de una extracción con disolventes orgánicos de las soluciones fértiles y una precipitación del concentrado de uranio. También se realiza una neutralización (con lechada de cal) de los efluentes con fijación del radio.

Por lo que se refiere a la etapa de lixiviación, la solución de riego, parcialmente compuesta con efluentes ácidos procedentes de la etapa de extracción con disolventes y cuya acidez es de 3 a 6 g H_2SO_4 /L., se aplica de forma discontinua, lo que favorece el crecimiento bacteriano en aquellas zonas donde las condiciones medioambientales son favorables. Se riega poco al principio (efluentes ricos), más frecuentemente luego (efluentes de concentración intermedia) y más espaciados, en días o semanas, al final (efluentes pobres). El mineral actúa como tampón y suelen recogerse efluentes con valores de pH comprendidos entre 2.2 y 2.6.

La solubilidad del uranio se favorece mediante una exposición del mineral a la intemperie en las eras durante más de seis meses y hasta aproximadamente un año, lo que constituye la etapa de maduración. El ciclo productivo puede ser de 3 a 5 meses y el resto hasta el año, o más, sería de agotamiento. De esta manera se consigue una recuperación que varía entre el 65 y 75% de U_3O_8 (117).

También se recupera el uranio del agua de mina (agua de corta) por cambio de ión. Estas aguas, recogidas después de las lluvias, tienen pH ácido (3.0-3.5) y el uranio se encuentra en una concentración de 40-70 mg de U_3O_8/L . Este tratamiento aporta unas 30 t de $U_3O_8/año$ (51), lo que supone un 11% de la producción.

Si bien se acepta la presencia de bacterias en los montones, no se lleva a cabo ningún control de las mismas. Los estudios realizados por la JEN (118,119,120,121) sobre la lixiviación bacteriana de otros minerales de uranio no han sido utilizados posteriormente para controlar o modificar la base microbiana del proceso de biolixiviación.

Se desconoce la naturaleza de las bacterias implicadas en el proceso y como afectan las condiciones del mismo a los componentes de la población, como por ejemplo: aminas recicladas de la planta de extracción con disolventes, nutrientes y soportes energéticos.

Además, no se controlan parámetros de gran importancia en el proceso de biolixiviación como pueden ser: la humedad, el oxígeno, el CO_2 y el bloqueo de superficies. Tampoco se realiza ninguna inoculación del mineral y los microorganismos que actúan son los naturales, sin ninguna acción intencionada de adaptación. Tan sólo se ha empezado a controlar la temperatura interior de las pilas de mineral.

En definitiva, la etapa de lixiviación en la mina FE requiere ser estudiada en mayor profundidad considerando los aspectos relacionados con la microbiología y la metalurgia del proceso, por cuanto que el mecanismo de disolución del uranio está afectado principalmente por la existencia de una población microbiana.

INTERES Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

2. INTERES Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

La utilización del uranio como fuente de energía eléctrica ha ido aumentando progresivamente en todo el mundo. Como consecuencia de ello, las reservas de minerales de uranio de ley alta han ido disminuyendo y ahora se explotan mineralizaciones de uranio que no hace mucho tiempo hubiesen sido consideradas como pobres.

En el caso español, esta ha sido una situación permanente, puesto que las menas de uranio siempre fueron de ley baja. Como se ha explicado, la economía del tratamiento de éstos minerales se basa en el empleo de técnicas baratas como son los procesos de lixiviación estática aunque con productividades reducidas. El resultado es que la industria minera española del uranio no tiene capacidad para cubrir la demanda de combustible por parte de las centrales nucleares. Es decir, España es deficitaria en uranio. Así las estimaciones indicaron que en el período 1979-1990 tan sólo el 43% de las necesidades se podrían satisfacer por la producción nacional; el resto se tendría que importar (117). Es decir, debe considerarse todo esfuerzo dirigido a aumentar la producción.

Las previsiones para nuestro país indican que en el año 1992 la producción debe situarse en unas 1.000 t de U_3O_8 /año (117), de tal manera que puedan ser cubiertas las necesidades del consumo interno. Esto supone triplicar la producción que se ha alcanzando en años inmediatamente anteriores. Considerando que con la lixiviación estática el aumento anual de esta producción ha sido de 10-15 t de U_3O_8 (86), esas previsiones obligarán, necesariamente, a cambiar el tipo de lixiviación, de tal forma que contrariamente a la postura adoptada por otros países, de utilizar, cada vez más, métodos de lixiviación estática para la recuperación del uranio a partir de minerales de ley baja, se propugna el uso de la lixiviación dinámica con los costes adicionales que ello conlleva.

Pese a todo, no debemos olvidar dos hechos de trascendental importancia: primero, el uranio producido actualmente en España se obtiene, principalmente, por biolixiviación y, segundo, las menas de uranio que se tratan son pobres.

De acuerdo con las expectativas de producción y con la realidad existente, el principal objetivo de cualquier estudio en relación a la etapa de lixiviación del proceso tiene que pasar, obviamente, por mejorar las técnicas actuales, mediante un conocimiento más profundo del fenómeno de la biolixiviación y del uso de esta biotecnología.

Como se ha mencionado, el conocimiento actual de la etapa de lixiviación en la instalación de Saelices el Chico, que es la verdaderamente relacionada con esta Memoria, es incompleta. En este sentido se tendría que disponer de más información relativa a distintos aspectos importantes desde el punto de vista de la lixiviación bacteriana, y ello tanto a nivel microbiológico como metalúrgico.

El uso de la biolixiviación para la recuperación de metales debería pasar, en primer lugar, por el conocimiento básico del proceso. Aunque se conoce la existencia de un número importante de microorganismos implicados en los procesos de extracción metálica, se sabe relativamente poco sobre la microbiología, la bioquímica y la química de estos procesos. Por tanto, su posible aplicabilidad a escala industrial debe pasar por realizar esfuerzos importantes a nivel de investigación, tanto en laboratorio como en planta piloto. Así pues, y aunque los desarrollos futuros también pueden incluir la modificación genética de los microorganismos, el progreso debe hacerse en investigación básica para comprender mejor el proceso de lixiviación microbiológico.

Tal como aparece reflejado en diversas revisiones sobre el tema (122,123,124), son muchas las variables que influyen en la lixiviación bacteriana. La química y la biología de la lixiviación microbiológica del cobre de sus minerales han sido muy estudiadas y están relativamente entendidas (75). Se ha alcanzado un notable incremento, utilizando esta información básica, en la cantidad máxima de cobre liberada a partir de escombreras de mineral de ley baja y de la lixiviación in-situ de estos mismos minerales. Sin embargo, no existen estudios comparables que suministren la misma información práctica para el caso del uranio. Un estudio minucioso de las variables de operación que controlan la actuación de la lixiviación comercial en escombrera, montón o in-situ, de minerales de uranio de ley baja, indudablemente tendrá un efecto beneficioso en este tipo de operaciones.

En la última década, se han desarrollado modelos matemáticos (32,69,125) para intentar definir los factores más importantes que controlan una buena operación de lixiviación estática y consecuentemente para poder predecir la velocidad de recuperación del metal y la producción final. Estos modelos de lixiviación han mostrado que la *aireación del lecho* y las *reacciones exotérmicas*, junto con la *geometría de la escombrera* (particularmente altura), la *proporción de solución lixivante* y el *método de riego*, la *distribución del tamaño de partícula* y la *consolidación de la roca* (que controla la *permeabilidad*) juegan un papel determinante en el proceso de lixiviación. Sin embargo, las cinéticas globales de la lixiviación estática del uranio son función de una cantidad ingente de parámetros cuyo papel no se ha definido rigurosamente y, por consiguiente, no hay una ecuación de velocidad universal. Probablemente, también es cierto que muchos de los problemas que se presentan son fruto de un diseño inadecuado de las pilas de mineral y del desconocimiento de las condiciones y reacciones que en ellas tiene lugar. Esto lleva a la conclusión de que las predicciones de funcionamiento del sistema deben examinarse, para cada mineral, sobre la base de los ensayos de laboratorio y planta piloto dirigidos al estudio de aspectos microbiológicos, químicos, mineralógicos y de ingeniería de proceso.

En definitiva, cualquier estudio de la biolixiviación de minerales de uranio debe tener un doble interés: el científico-tecnológico y el económico derivado de la puesta en práctica de los conocimientos adquiridos con el primero.

Según esto, los objetivos que se persiguen podrían concretarse en los siguientes puntos, siempre referidos al mineral de FE por ser el más representativo entre todos los españoles.

- * Estudio de las variables de operación que controlan la actuación de los microorganismos en la lixiviación comercial y que permitirían establecer las condiciones óptimas para que el sistema se comporte favorablemente.

- * Estudio de la incidencia real y del comportamiento individual de los microorganismos que toman parte en procesos de este tipo, con el fin de valorar la actuación de los mismos.

- * Aplicabilidad de la biolixiviación utilizando equipos simples y baratos.

- * Predicción del funcionamiento del sistema sobre la base de ensayos de laboratorio equivalentes o comparables a los industriales. Con los resultados obtenidos a escala de laboratorio se espera poder mejorar la etapa de lixiviación y, por consiguiente, el proceso extractivo.

En definitiva, el objetivo fundamental de este trabajo es el de mejorar la etapa de lixiviación dentro del ciclo extractivo actual de los minerales de uranio españoles, a través de un conocimiento más profundo del fenómeno de la biolixiviación desde las perspectivas microbiológica y metalúrgica. Esta posibilidad de mejora en el proceso actual se estudia sobre la base de experimentos de laboratorio y semipiloto.

PLAN DE TRABAJO

3. PLAN DE TRABAJO

A la vista de los puntos anteriores, el planteamiento de la recuperación del uranio del mineral de FE por biolixiviación podría hacerse en los siguientes términos.

1. Definición de las características ideales que debe reunir un mineral de uranio para ser tratado por biolixiviación. Caracterización del mineral a atacar. Selección de muestras tipo.

2. Puesta a punto de técnicas experimentales de lixiviación estática. Indudablemente, para que estos procesos sean rentables económicamente, deben ser lo más simples posible. Por lo tanto, el diseño experimental debe utilizar equipos simples y baratos, que permitan recuperar el uranio en tiempos razonables.

3. Realización de ensayos de laboratorio mediante los cuales pueda conocerse la influencia de una serie de factores que afectan al proceso de ataque del mineral en presencia de microorganismos, de tal forma que acerquen la situación actual del conocimiento de la biolixiviación a la situación ideal. Se realizarán, en primer lugar, ensayos con cultivos naturales (procedentes del agua de la mina FE) en los que se estudiará el proceso de disolución del uranio, en función de la propia naturaleza del mineral y de sus características físicas, a dos niveles:

- Ensayos en incubador para optimizar las variables que afectan al proceso de disolución del uranio. Con estos experimentos se puede determinar el valor más adecuado de las variables ensayadas, partiendo de un intervalo amplio de condiciones de operación, pero en períodos de tiempo relativamente cortos.

- Ensayos en columnas, realizando el escalamiento semipiloto del proceso y estudiando la influencia de las condiciones de lixiviación óptimas fijadas en los ensayos en incubador. La información que se obtenga de dicha experimentación permitirá, en una primera aproximación, diseñar y definir el modo de actuación a escala industrial.

4. Realización de ensayos con cultivos aislados del cultivo natural en los que se estudiará, en función de las características de los cultivos seleccionados, la cinética de disolución del uranio, igual que en el caso anterior, a dos niveles diferentes:

- En incubador, para analizar el grado real de participación de las distintas bacterias que toman parte en éstos procesos, tanto con cultivos puros como con mezclas de ellos, a escala de laboratorio.

- En columnas, valorando la actuación, individual y en mezclas, de los microorganismos implicados en el proceso de disolución del uranio a escala semipiloto.

5. Estudio cinético del proceso que permita la predicción de funcionamiento del sistema. Así, la información obtenida en la experimentación a nivel de laboratorio, concretada en ensayos en incubador y en columnas, puede acercarnos a la situación real a través de un mayor conocimiento de todas las peculiaridades del proceso estudiado.

PARTE EXPERIMENTAL

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Materias primas, Procedencia y caracterización

La efectividad de los procesos de lixiviación microbiológica depende principalmente de la actividad bacteriana y de la composición química y mineralógica del mineral (85). Por consiguiente, antes de abordar el tratamiento de una mena por biolixiviación, es necesario conocer todas aquellas características del mineral que pueden influir en su comportamiento. En este sentido, es fundamental tener definida su composición química y los compuestos o fases minerales presentes.

Con relación a la composición química, además del contenido de uranio es importante conocer el de otros elementos que puedan favorecer o ejercer un efecto negativo sobre el proceso de biolixiviación. Entre los primeros aparecen sulfuros de hierro y sales minerales que entran a formar parte de los requerimientos nutricionales de la bacteria y entre los segundos compuestos alcalinos que neutralizan el ácido y contribuyen a la precipitación de compuestos insolubles o a la formación de sustancias nocivas para el desarrollo de las bacterias.

Con relación a la caracterización de las fases minerales, es esencial definir su naturaleza, distribución, tamaño y morfología. Estos aspectos informan acerca de la compactidad del mineral que, a su vez, determina el tamaño de partícula necesario para que exista un grado suficiente de liberación de las especies que permita el ataque por las bacterias o por los agentes lixiviantes.

4.1.1. Mineral de uranio

Las muestras de mineral empleadas en los experimentos de lixiviación bacteriana fueron suministradas por la Empresa Nacional del Uranio, S.A. (ENUSA) y procedían de la mina FE (Saelices el Chico, Salamanca).

En la experimentación se utilizaron distintos minerales, cuyas características, tanto físicas como químicas, se recogen en la Tabla IV. Por una parte, el tamaño de partícula del mineral se fue aumentando a medida que se modificó la escala de trabajo y, por otra, la ley de U_3O_8 y el estado de oxidación del mineral varió de unos ensayos a otros, debido a las razones que a continuación se exponen.

En este sentido, hay que hacer hincapié en el hecho de que las muestras fuesen tan dispares, en unos casos, poco alteradas ($U^{4+} > U^{6+}$) y en otros, muy alteradas ($U^{6+} > 90\%$), tal como queda reflejado en la figura 7. La alteración sufrida por el mineral se debió a que el mismo estuvo a la intemperie y, por consiguiente, sometido a las condiciones medioambientales. Esta situación no se dió con el mineral utilizado en los ensayos en incubador, en columnas de vidrio y de PVC (II); en cuyo caso, el grado de oxidación no fue significativo.

Indudablemente, las labores mineras pueden suministrar muestras de muy distintas características, máxime si consideramos la normal heterogeneidad del yacimiento. En consecuencia, no sería recomendable ensayar con una única muestra ya que los resultados obtenidos afectarían sólo a una porción del mineral real. Por este motivo se utilizaron varias muestras para realizar la experimentación. En los análisis que siguen nos referiremos a las muestras no alteradas.

Tabla IV. Características del mineral utilizado en los diferentes ensayos de biolixiviación.

ENSAYO	LEY DE U_3O_8 (%)	TAMAÑO DE PARTICULA (cm)	ESTADO DE OXIDACION
<i>Incubador</i>	0.097	18.10^3	No oxidado
<i>Columnas de vidrio</i>	0.097	< 0.6 y < 1.5	No oxidado
<i>Columnas de metacrilato</i>	0.087	< 3 y < 5	Oxidado
<i>Columnas de PVC (I)</i>	0.087	< 5	Oxidado
<i>Columnas de PVC (II)</i>	0.068	< 5	No oxidado



Figura 7. Minerales empleados en los ensayos de biolixiviación.

Análisis granulométrico

Como paso previo a posteriores análisis se llevó a cabo el análisis granulométrico de los distintos minerales utilizados según la Tabla IV.

El análisis granulométrico del mineral empleado en los ensayos en incubador aparece reflejado en la figura 8. En él se observa un enriquecimiento progresivo del mineral en las fracciones más finas (la fracción $<37\mu\text{m}$ representa el 60% del peso total).

Por su parte, los análisis granulométricos de los minerales utilizados en las columnas de vidrio mostraron una mayor proporción en peso de las fracciones gruesas frente a las finas (figuras 9 y 10).

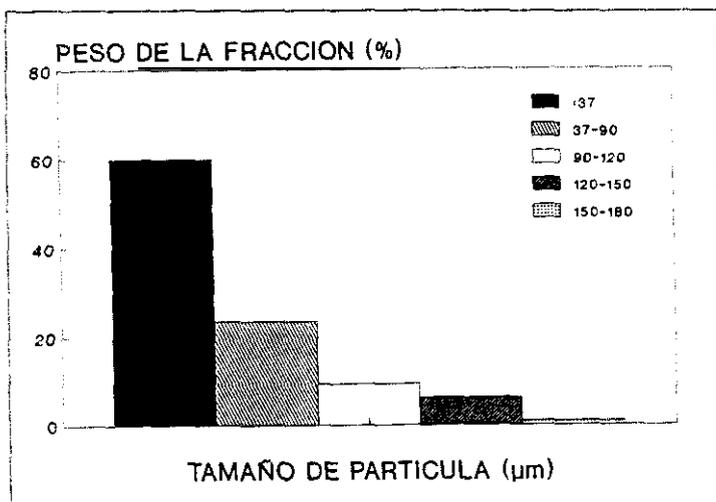


Figura 8. Análisis granulométrico. Histograma de la distribución del tamaño de partícula del mineral de FE < 180 μm (ensayos en incubador).

En cuanto al mineral ensayado en las columnas de metacrilato y de PVC éste procedía directamente de los trabajos realizados en mina. Se partió para ello de 2.500 kg de mineral menor de 10 cm que se hicieron pasar por una malla metálica con una luz menor de 5 cm. La fracción mayor de 5 cm (aproximadamente el 2% en peso), se redujo de tamaño mediante una maza y se volvió a pasar por la malla. De este mineral menor de 5 cm se tomó una quinta parte que se hizo pasar por otra malla metálica con luz menor de 3 cm, quedando una fracción mayor de 3 cm (aproximadamente el 10% en peso) que se volvió a triturar con la maza y a pasar nuevamente por la malla. Así pues, una vez finalizada la etapa de trituración se dispuso, aproximadamente, de 2.000 kg de mineral de uranio menor de 5 cm y de 500 kg menor de 3 cm.

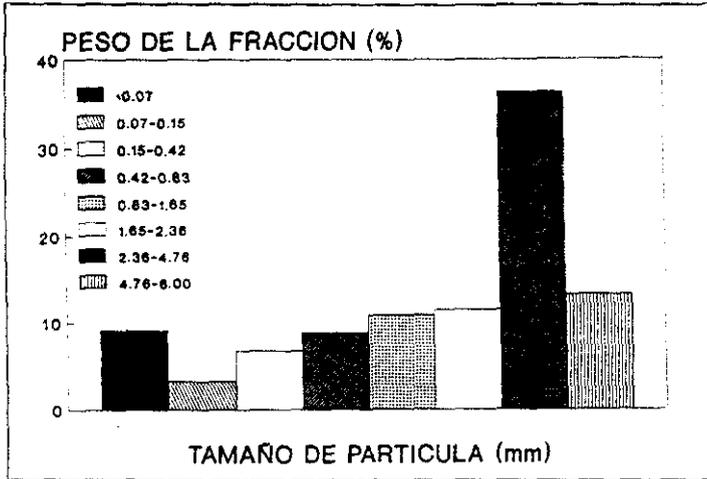


Figura 9. Análisis granulométrico. Histograma de la distribución del tamaño de partícula del mineral de FE < 60 mm (ensayos en columnas de vidrio).

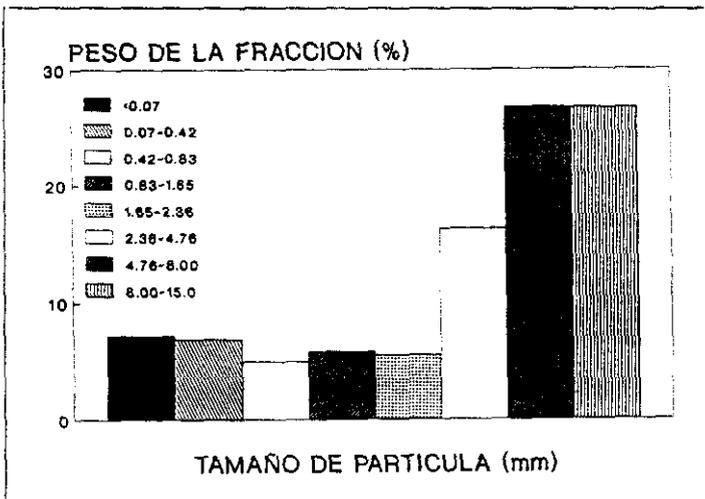


Figura 10. Análisis granulométrico. Histograma de la distribución del tamaño de partícula del mineral de FE < 15 mm (ensayos en columnas de vidrio).

Análisis químico

El análisis químico cuantitativo del mineral procedente de la mina FE se muestra en la Tabla V.

Tabla V. Composición química del mineral de la mina FE.

ELEMENTO	U ₃ O ₈	Fe _{total}	Fe _{pirita}	Fe _{pirita}	S _{total}	S ⁺	CO ₃ ⁺	NO ₃ ⁺	Cl ⁻	Ca	Mg
LEY (%)	0.097	5.15	1.95	3.22	2.45	2.01	2.51	0.54	0.01	0.23	2.19

Para la determinación del azufre total se siguió el método Eschka según norma UNE 32008. Básicamente se trata de una fusión alcalina, cuyo objetivo es transformar las distintas formas del azufre en sulfato soluble. El azufre se determina por gravimetría precipitándolo como sulfato de bario.

En cuanto al hierro total, después de un ataque continuado en medio ácido, se determinó por espectrofotometría de absorción atómica, en un equipo Perkin Elmer modelo 360. El porcentaje de pirita en el mineral se calculó determinando el hierro pirítico por extracción en medio ácido y posterior valoración con dicromato potásico (126).

El uranio se determinó, previa extracción con dibenzoilmetano, por espectrofotometría (127).

De los resultados obtenidos se deduce, por lo que se refiere al hierro y al azufre total, que se trata de un mineral con un contenido de pirita de aproximadamente el 4%, con una cantidad de carbonatos relativamente pequeña y con contenidos variables de microelementos (destacando el porcentaje de magnesio). En cuanto al uranio, este se encuentra en el mineral en una concentración de 970 g de U₃O₈/t de mineral, es decir, por encima de la ley media del yacimiento FE.

Sin embargo, la Tabla V no refleja más que un pequeño porcentaje (algo más del 13 por ciento) de los elementos que entran a formar parte del mineral. Por ello, se hizo necesario un estudio más detallado que permitiera definir claramente las fases principales del mismo. Con este fin se llevó a cabo un estudio, mediante difracción de rayos X, tanto de la roca encajante, como de la zona rica en uranio, que se denominó *brecha*.

Los ensayos de difracción se realizaron en un difractómetro Siemens D500; la radiación empleada fue la k_{α} =1.5418 del Cu; se usó un monocromador de grafito situado entre la muestra y el detector; y las condiciones de trabajo fueron 400 kV y 200 mA. El empleo de esta técnica permitió caracterizar los componentes de la roca encajante y los de la brecha. Los difractogramas correspondientes a cada una de las muestras pueden verse en las figuras 11 y 12, respectivamente.

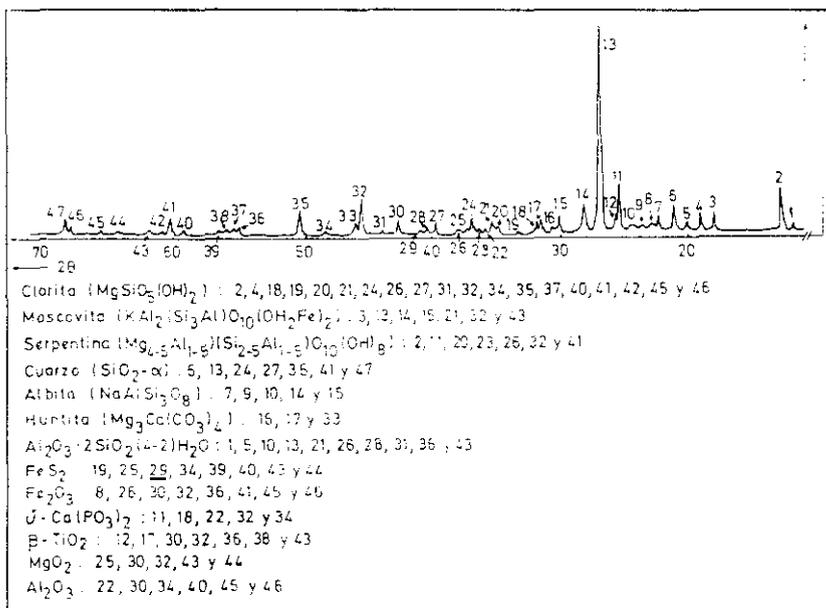


Figura 11. Difracción de rayos X del mineral de la mina FE (Roca encajante).

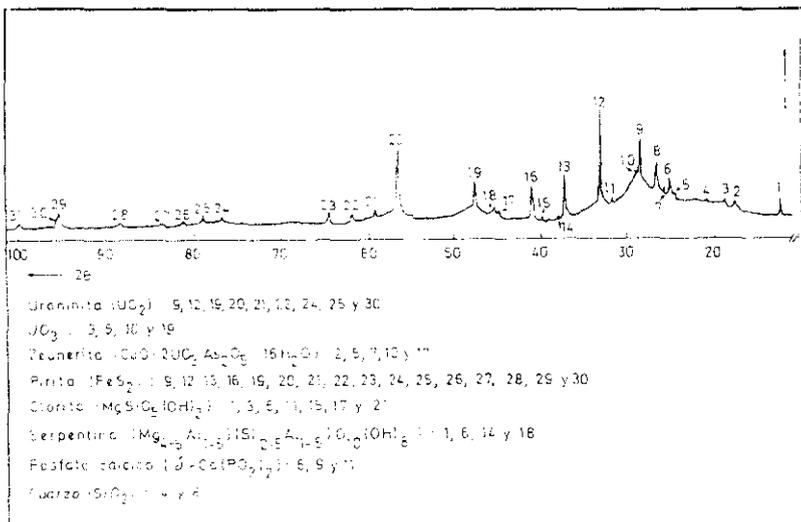


Figura 12. Difracción de rayos X del mineral de la mina FE (Brecha).

Entre ambos difractogramas existió una clara diferencia en cuanto a la cantidad de pirita presente, siendo claramente superior en la brecha. En los dos casos, aunque de forma más acentuada en la roca encajante, se tuvieron cantidades bastante importantes de sílice y de silicoaluminatos, y en menor proporción de fosfato cálcico que, recordemos, es uno de los nutrientes más importantes de la bacteria. Además, los carbonatos aparecieron únicamente en la roca encajante.

Por lo que se refiere a la mineralización de uranio, solamente se detectó en la brecha, aunque no se descartó la posibilidad de que se encontrara muy diseminada y, en pequeña proporción, en la roca matriz, preferentemente como un silicato $-U(SiO_4)_{1-x}(OH)_x$, cofinita, resultante de la alteración de la pechblenda. En cuanto a la brecha, la mineralización principal fue pechblenda, la cual se encontró parcialmente oxidada a UO_3 , que, a su vez, había sufrido una alteración como consecuencia de la cual apareció una fase hidratada (zeunerita).

Resumiendo, el mineral de la mina FE lo podemos definir, de acuerdo con las características dadas en la Tabla III, de la siguiente forma: se trata de un mineral en el que aparece la pirita como mineralización de azufre más importante (con un contenido que se estima del orden del 4%) y cuyo componente principal son los silicatos que constituyen, esencialmente, la roca encajante. Por último, la pechblenda es la mineralización de uranio más importante.

El mineral así definido se ha comparado con los minerales que se presentan en la Tabla III, encontrándose que, de todos ellos, el mineral de Urgeirica es el que reúne las características mineralógicas más parecidas al de la mina FE. Por tanto, es de esperar que el comportamiento del mineral estudiado durante el proceso de biolixiviación, no difiera mucho del obtenido con el mineral de Urgeirica el cual mostró recuperaciones excelentes (95).

Análisis microestructural

La naturaleza y distribución de las fases presentes, tanto en el mineral de la brecha como en el de la roca encajante, se ha determinado por microscopía óptica, por microscopía electrónica de barrido (SEM) y por microanálisis mediante la técnica de dispersión de energías (EDS).

La observación se realizó sobre muestras masivas de mineral montadas sobre una resina (Estracril AI-100). Posteriormente estas probetas fueron desbastadas en diferentes condiciones hasta obtener una superficie plana. Más tarde, fueron pulidas mecánicamente con alúmina y por último acabadas mediante pulido manual con sílice. El examen por SEM se realizó en un microscopio modelo JEOL JSM35-C y para ello fue necesario metalizar las muestras previamente con una fina capa de grafito u oro.

Roca encajante

En la figura 13 se muestra el aspecto general de la roca encajante, con una matriz bastante porosa constituida, fundamentalmente, por silicoaluminatos de K, Ca, Mg y Na, con zonas cementantes, más claras, de composición también silicoaluminatada, pero conteniendo además pequeñas cantidades de hierro y titanio. El espectro de dichas zonas cementantes, obtenido por microanálisis, aparece reflejado en la figura 14.

En toda la matriz se observaron pequeñas cantidades de pirita. La micrografía de electrones retrodifundidos de la figura 15 muestra su distribución (la pirita es la fase más clara). A mayores aumentos, se observan partículas de pirita con numerosos defectos (grietas y porosidad) (figura 16). Esta morfología es beneficiosa, desde el punto de vista de la biolixiviación, por presentar una superficie poco compacta, lo que supone una mayor superficie de contacto sólido-líquido durante el ataque.

Se detectó también la presencia de óxidos de titanio, los cuales aparecieron bien como pequeñas partículas compactas (figura 17) o bien como masas de gran porosidad asociadas a pirita (figura 18). Lo anterior viene a corroborar su presencia en la roca encajante, tal como quedó reflejado en la figura 11.

Además, como muestra la figura 19, se observaron pequeñas partículas blancas, distribuidas, principalmente, en oquedades de la matriz y junto a la fase pirítica. El microanálisis de dicha fase (figura 20) nos permitió identificarla como fosfato cálcico.

Como resumen de estas observaciones cabe destacar que la roca encajante:

- *Se trata de una matriz silicoaluminatada poco compacta,*
- *Contiene pequeñas cantidades de pirita de gran porosidad, y*
- *Aparecen otras fases minoritarias como óxidos de titanio y fosfato cálcico (uno de los nutrientes esenciales de las bacterias).*

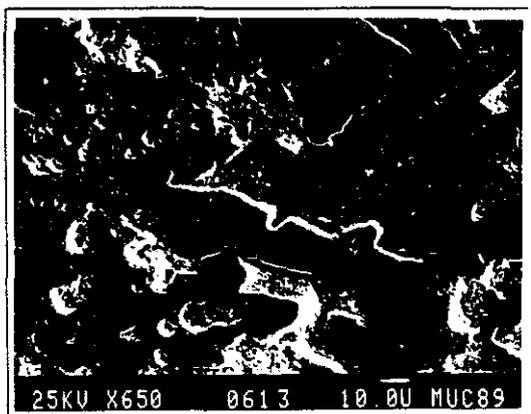


Figura 13. Micrografia obtenida por SEM del mineral de FE. Aspecto general de la roca encajante.

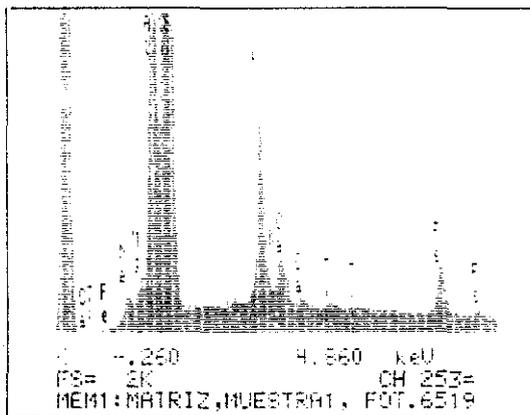


Figura 14. Espectro obtenido por microanálisis EDS de las zonas cementantes de la figura 13.

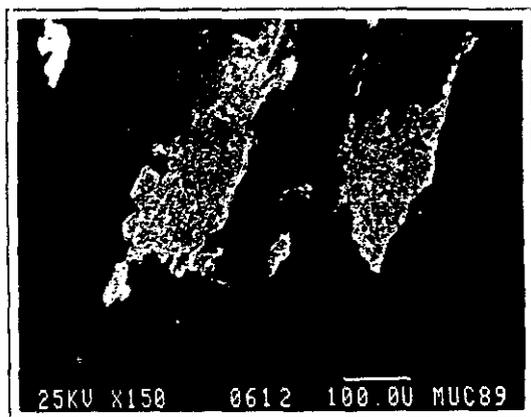


Figura 15. Pirita (fase blanca) en la roca encajante del mineral de FE. Imagen de electrones retrodifundidos.

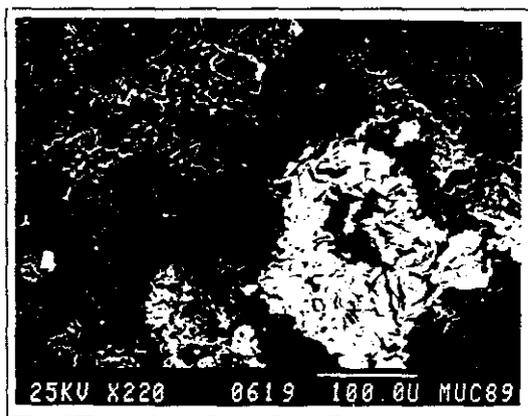


Figura 16. Pirita con numerosos defectos en una matriz poco compacta.

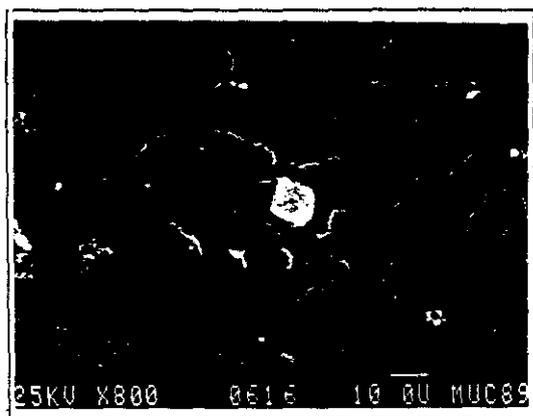


Figura 17. Imagen de electrones retrodi-
fundidos de partículas de óxidos de titanio
(fase blanca).

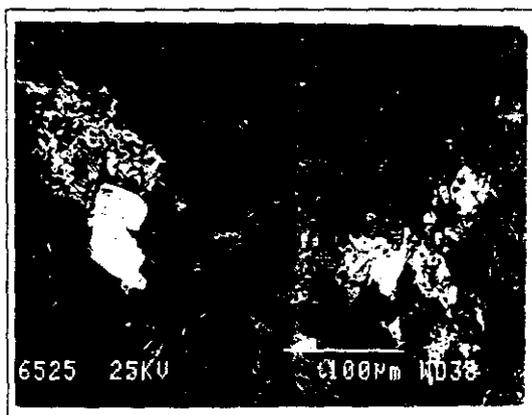


Figura 18. Óxidos de titanio asociados a la
fase pirítica.



Figura 19. Fosfato cálcico (partículas blancas) en la roca encajante.

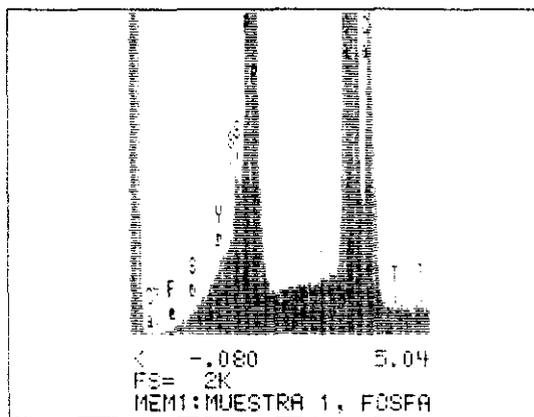


Figura 20. Microanálisis EDS de las partículas de fosfato cálcico.

Brecha

La morfología típica de la brecha es la que aparece reflejada en las figuras 21 y 22. En ambas se observa una gran porosidad y agrietamiento, si bien la composición es diferente. La figura 21 tiene una matriz constituida por silicoaluminato potásico (fase negra) con pirita y minerales de uranio en las zonas cementantes. En la figura 22 la matriz es, fundamentalmente, pirítica.

Cuando la matriz está constituida mayoritariamente por silicoaluminatos, la morfología y distribución de las diferentes fases es como se muestra en la imagen de electrones retrodifundidos de la figura 23. El uranio (fase blanca) se encuentra, principalmente, rodeando los contornos grises de pirita. La distribución de este elemento en dichas zonas se muestra en la figura 24.

Cuando la matriz de la brecha es principalmente pirítica es frecuente observar zonas ricas en uranio cementando las partículas de pirita. Esto es precisamente lo que aparece reflejado en la imagen de electrones retrodifundidos de la figura 25. Las fases claras poseen una elevada concentración de mineral de uranio como se desprende de la observación del análisis de rayos-X realizado para el uranio en dicha zona (figura 26). La figura 27 es un detalle a mayores aumentos de estas fases, poco compactas y frágiles, situadas en grietas de la matriz.

A pocos aumentos, el aspecto general del mineral de la brecha se muestra en la figura 28. Las numerosas grietas (en este caso rodeadas de pirita) y poros existentes en el mineral son indicativos de que la brecha posee una elevada fragilidad que permite una fácil liberación de las diferentes fases, además del buen acceso del lixivante a la mena que cabe esperar por la poca compacidad observada.

En definitiva, las características principales de la brecha son las siguientes:

- *Posee una cantidad de pirita mayor que la roca encajante,*
- *La mineralización principal de uranio, pechblenda, se encuentra como una fase poco compacta, y*
- *Existe una asociación íntima pirita-pechblenda.*

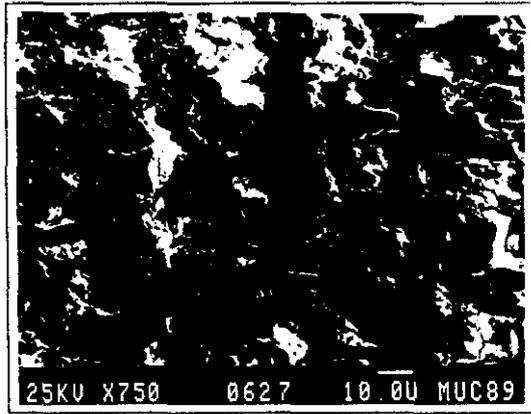


Figura 21. Brecha. Matriz silicoaluminatada (oscura) y zonas ricas en uranio (clara).

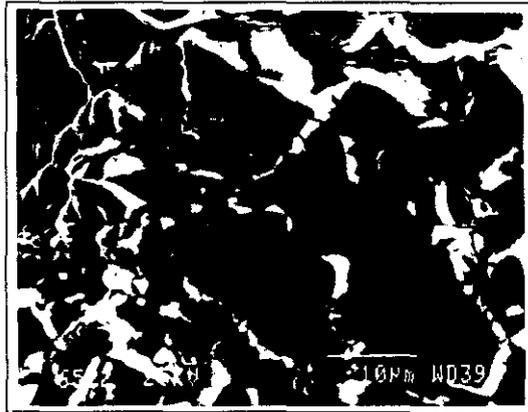


Figura 22. Brecha. Matriz piritica.

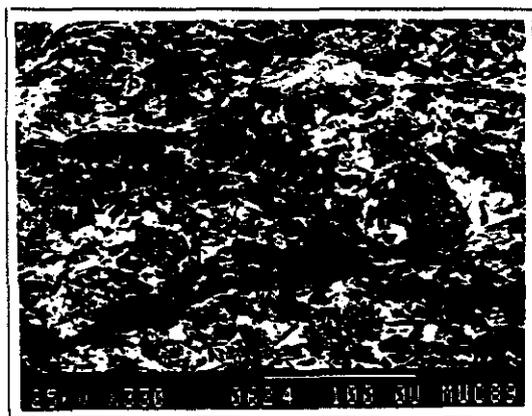


Figura 23. Brecha.Silicoaluminatos (negro),
pirita (gris) y zonas ricas en uranio
(blanco).



Figura 24. Distribución del uranio en la
figura anterior.

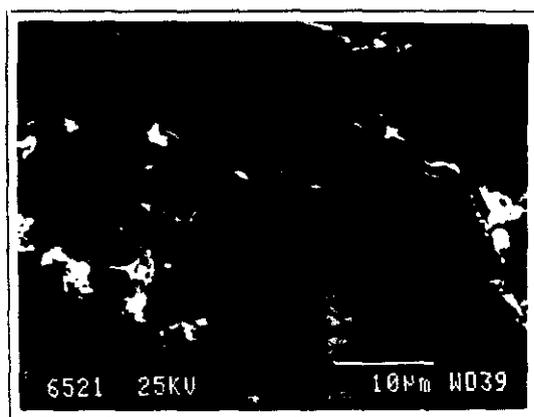


Figura 25. Imagen de electrones retrodifundidos mostrando la presencia de zonas ricas en uranio en grietas de la pirita.

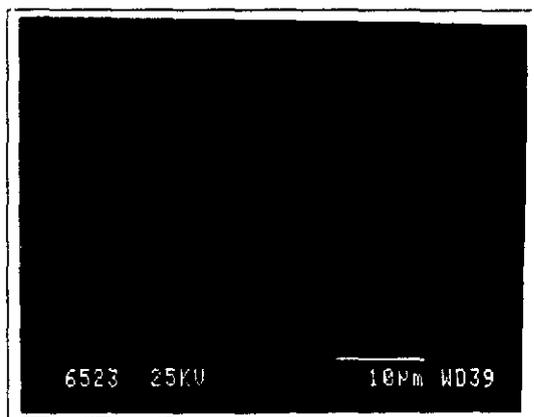


Figura 26. Mapa de Rayos-X mostrando la distribución del uranio en la figura anterior.



Figura 27. Detalle a mayores aumentos de las zonas ricas en uranio.

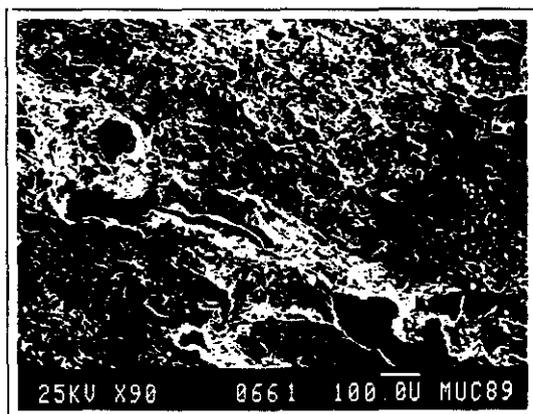


Figura 28. Aspecto general del mineral de la brecha. Porosidad y agrietamiento de la matriz.

4.1.2. Piritas

La necesidad de disponer de un medio ácido y oxidante para la solubilización del uranio puede relacionarse con la biolixiviación de la pirita para la producción de ambos reactivos.

Ahora bien, aunque la cantidad de pirita del mineral sea apreciable, si no está accesible (ya sea por el grado de liberación que se logra con la molienda, ya sea por las características de la ganga), se hace necesaria su adición externa. En este sentido, se han realizado estudios (70,96,128) que muestran el efecto beneficioso de esta adición de pirita a minerales uraníferos. Así, por ejemplo, trabajando con minerales portugueses la norma fue añadir 5 kg de pirita/t de mineral; la misma concentración de pirita se utilizó trabajando con minerales indios; y para un mineral de la mina Los Ratones (Cáceres), se estableció que debía descartarse el empleo de una dosis de 9 kg de pirita/t y elegir la de 3 kg/t.

Esto lleva a la conclusión de que la cantidad de pirita a añadir, si es que es necesario añadirla, dependerá del tipo de mineralización a lixiviar y de las propias características de la pirita añadida.

Así, cuando las circunstancias lo requieran, habrá que hacer un estudio exhaustivo de la influencia que uno o varios tipos de pirita, añadidos externamente, tienen en el proceso de disolución. Un estudio realizado por la JEN (120), sobre distintos tipos de pirita, confirmó que: *"Lo ideal será un material que esté parcialmente alterado para que ofrezca una mayor superficie de contacto (porosidad, grietas, oquedades, etc.), que sea fácil adquirirlo a un precio razonable y mejor si tiene una ley elevada"*. Este estudio reflejó que de los cuatro tipos de pirita ensayados, uno de tipo masivo (Río Tinto), y tres de yacimientos uraníferos (Ratones, Lobo y Carretona), la pirita de Río Tinto reunía las condiciones más favorables desde el punto de vista de la biolixiviación, como queda reflejado en la figura 29. Si bien, la de los Ratones fue equiparable,

aunque presentó un grave inconveniente como fue la necesidad de extraerla de la masa mineral y después someter ésta a un proceso de concentración física.

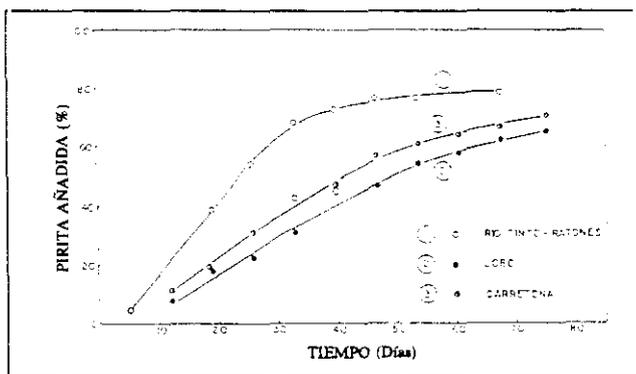


Figura 29. Lixiviación bacteriana de diferentes piritas.

Así pues, para su utilización en la obtención de medios lixiviantes, interesan piritas no perfectas, desde los puntos de vista cristalográfico y genético, y que estén parcialmente alteradas ya que así aumenta su superficie de ataque y, por tanto, su carácter reactivo.

Por todo esto, se creyó oportuno disponer de mineral de pirita procedente de la mina de Río Tinto (Huelva). Además, esta elección está apoyada por el hecho de que en Andalucía Occidental se encuentran más del 50% de las reservas mundiales conocidas de este mineral (129), lo que hace de esta región una zona con un gran potencial económico desde el punto de vista de la biolixiviación.

A continuación, y como paso previo a estudios posteriores, se relacionan los resultados de los análisis granulométrico y químico efectuados sobre una pirita procedente de Río Tinto, así como su estudio microestructural.

Análisis granulométrico

Los análisis granulométricos de la pirita de Río Tinto empleada en este estudio aparecen reflejados en las figuras 30 y 31. Al igual que ocurrió con el mineral de la mina FE, la pirita de menor tamaño ($<180\mu\text{m}$) mostró una mayor concentración en peso de la fracción más fina; mientras que en la pirita menor de 5 mm fue la fracción gruesa la que aportó un porcentaje mayor al peso final.

Análisis químico

El análisis químico cuantitativo efectuado sobre el mineral de la mina de Río Tinto reflejó un porcentaje global de elementos metálicos y azufre total como el que se muestra la Tabla VI.

Tabla VI. *Composición química de la pirita de Río Tinto.*

ELEMENTO	S _{total}	Fe	Cu	Zn	Pb
LEY (%)	44.71	36.67	0.80	2.32	0.50

En este caso, la determinación del azufre total, a diferencia del análisis efectuado con el mineral de la mina FE, se llevó a cabo con un ataque en solución de Br₂-KBr en medio ácido y posterior cementación del hierro empleando aluminio en polvo, para acabar precipitando el azufre como sulfato de bario (126).

Así pues, se trata de un mineral que contiene fundamentalmente pirita, aproximadamente un 77%, siendo el resto sulfuros de zinc, cobre y plomo, y sílice.

Esto está de acuerdo con el estudio realizado por difracción de rayos X que permitió caracterizar pirita (FeS₂), sílice (SiO₂), esfalerita (ZnS), calcopirita (CuFeS₂) y galena (PbS), como fases presentes (figura 32).

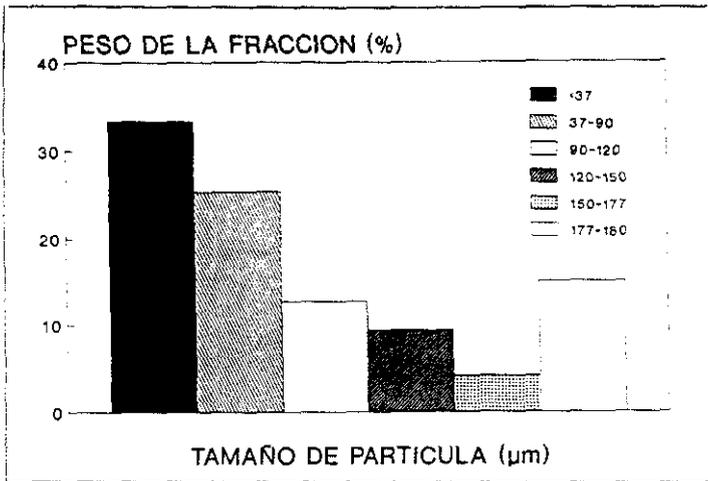


Figura 30. Análisis granulométrico. Histograma de la distribución del tamaño de partícula de la pirita de Río Tinto <math>< 180 \mu\text{m}</math>.

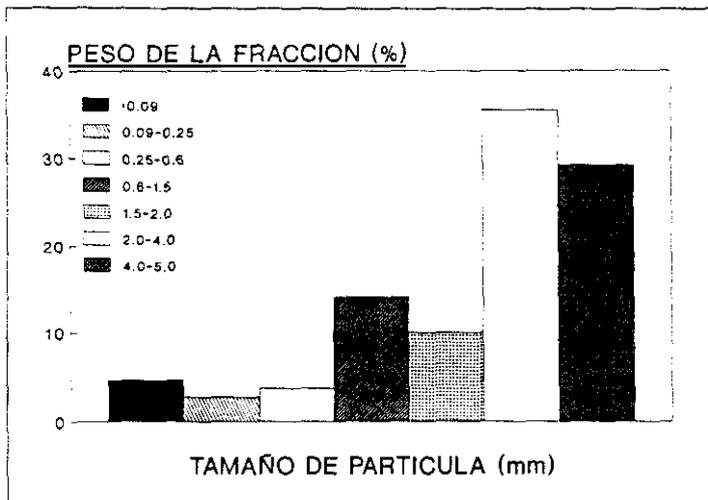


Figura 31. Análisis granulométrico. Histograma de la distribución del tamaño de partícula de la pirita de Río Tinto <math>< 5 \text{ mm}</math>.

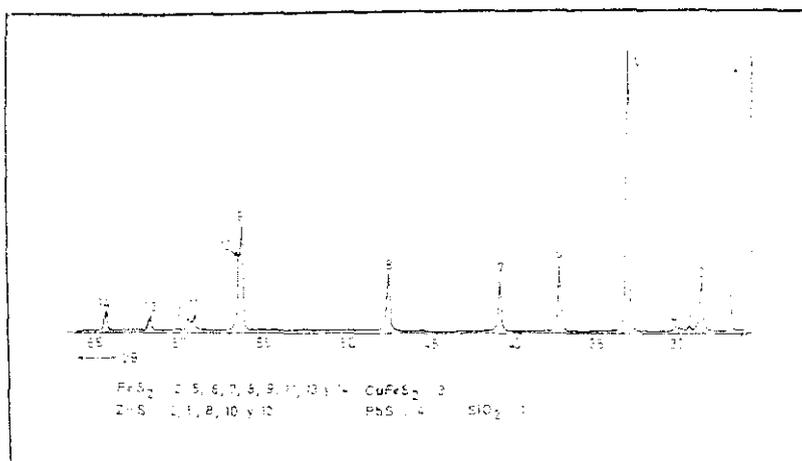


Figura 32. Difracción de rayos X de la pirita de Río Tinto.

Análisis microestructural

Al igual que con las muestras de la mina FE, se llevó a cabo un estudio microestructural de la pirita de Río Tinto utilizando para ello las mismas técnicas y medios que en aquel caso.

Este análisis puso de manifiesto la existencia de una matriz de pirita muy porosa y agrietada (figuras 33 y 34), en la cual se encontraban distribuidas, en mayor o menor proporción, tres fases de naturaleza idiomórfica identificadas como: blenda y calcopirita (figura 35) y una pequeña proporción de galena (figura 36). Estas tres fases, a diferencia de la pirita, presentaban una superficie con muy pocos defectos.

Por consiguiente, cabe señalar que la pirita elegida como aditivo al mineral de uranio, reúne, al menos, las condiciones previas para que el proceso de biolixiviación esté favorecido, es decir, dispone de una ley mineral alta y una matriz muy defectuosa.

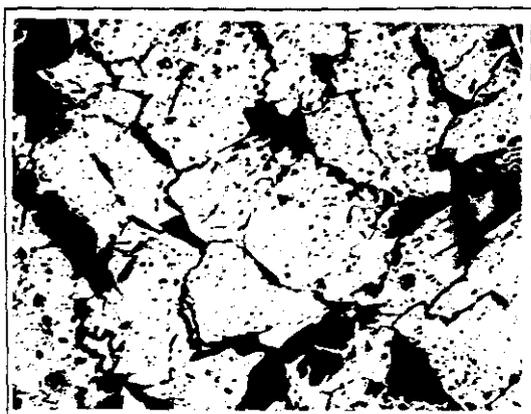


Figura 33. Micrografía óptica a bajos aumentos mostrando la morfología de la pirita de Río Tinto (x75).



Figura 34. Micrografía obtenida por SEM de la pirita de Río Tinto. Detalle de la porosidad.



Figura 35. Morfología idiomórfica de la calcopirita (fase gris) y blenda (fase más oscura) asociadas a la pirita (x120)

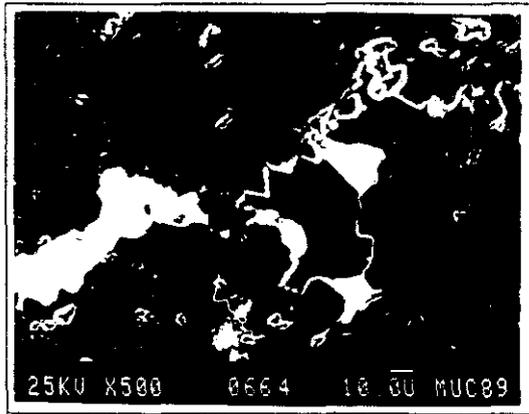


Figura 36. Galena (fase blanca) y calcopirita (fase gris) en la matriz pirítica.

4.1.3. Elección de muestras tipo

De todo lo expuesto anteriormente se desprende que los aspectos básicos a considerar en la selección del mineral son:

- *Una mineralización de uranio sensible a la lixiviación bacteriana,*
- *Una matriz permeable y poco compacta,*
- *Un contenido adecuado de pirita,*
- *La ausencia de compuestos básicos en el mineral, y*
- *En menor cuantía, la presencia de sales minerales como nutrientes esenciales para los microorganismos.*

La caracterización del mineral de FE ha puesto de manifiesto que, en principio, reúne éstas características y que por tanto se le puede considerar como muestra tipo para realizar la investigación.

Se da la circunstancia de que la pirita presente en este mineral está muy alterada y es muy defectuosa, lo cual favorecerá su ataque químico o biológico; además, se encuentra asociada, fundamentalmente, a la mineralización de uranio y, por tanto, si la muestra tipo es el propio mineral, la contribución de la pirita al proceso de disolución será importante.

No obstante y en función de los resultados aportados por ciertos autores (70,96,128), se considerará la posibilidad de una mejora del proceso de biolixiviación mediante la adición externa de pirita con el propósito de aumentar el rendimiento de extracción de uranio.

4.2. Cultivos bacterianos

Para la realización de los ensayos, se utilizó un *cultivo natural*, cuya procedencia fue el propio agua de mina de la instalación de Saelices el Chico, el cual estaba formado por una diversidad de microorganismos entre los que cabe destacar (130): *Thiobacillus ferrooxidans* (figura 37), *Thiobacillus thiooxidans* (figura 38), *Leptospirillum ferrooxidans* (figura 39), heterótrofos (hongos y levaduras) y termófilos moderados (figura 40).

También se emplearon cultivos puros aislados a partir del agua de mina de la instalación de Saelices el Chico, suministrados por el Dr. Perera del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, que se concretaron en cepas de *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, las cuales, a su vez, servirían como base para el posterior desarrollo de las *mezclas* de cultivos puros (tres *binarias* y una *ternaria*).

4.2.1. Técnicas de cultivo

Una condición imprescindible para el inicio de una experimentación de éstas características es la necesidad de disponer de cultivos de microorganismos en condiciones óptimas para su posterior utilización como *inóculos*.

Por ello, se requería acondicionar previamente la microflora existente en el agua de mina de la instalación de Saelices el Chico para, posteriormente, disponer, en todo momento, de cultivos de mantenimiento con los cuales llevar a cabo la investigación.

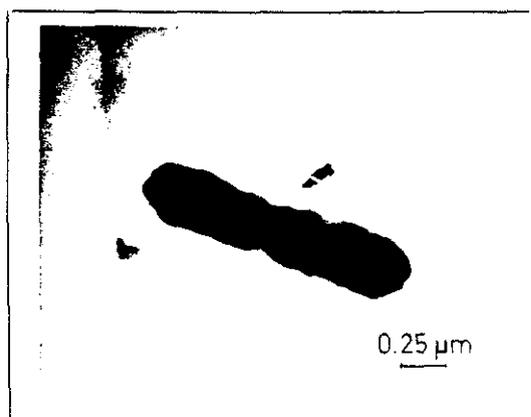


Figura 37. Micrografía por microscopía electrónica de transmisión de bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*.

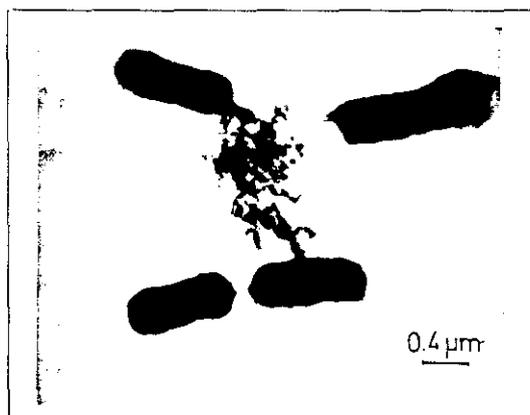


Figura 38. Micrografía por microscopía electrónica de transmisión de bacteria *Thiobacillus thiooxidans*.

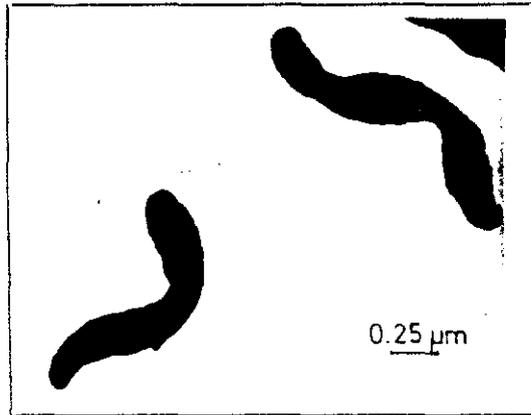


Figura 39. *Micrografía por microscopía electrónica de transmisión de bacteria Leptospirillum ferrooxidans.*

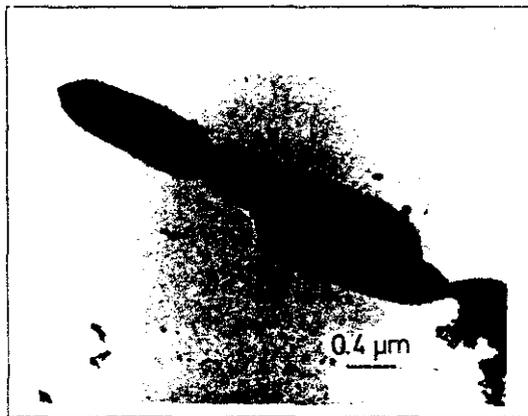


Figura 40. *Micrografía por microscopía electrónica de transmisión de bacteria termófila moderada.*

El desarrollo de un cultivo bacteriano en un medio adecuado se puede describir como una secuencia de fases caracterizada por la velocidad de multiplicación y por las propiedades biológicas de cada célula (figura 41).

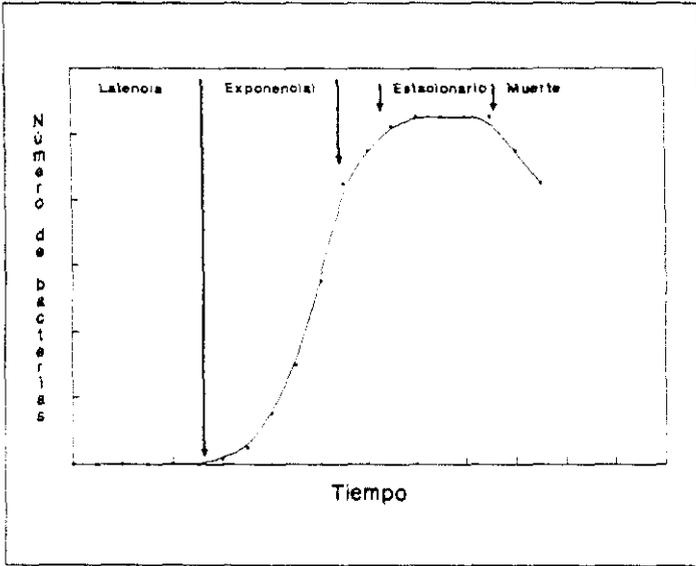


Figura 41. Curva de crecimiento microbiano mostrando las diversas fases del proceso.

Esa alta velocidad de crecimiento del microorganismo en la fase exponencial se debe a su alta relación superficie/volumen lo que le permite asimilar rápidamente nutrientes y multiplicarse a velocidades impresionantes.

No obstante, existen numerosos factores que afectan al desarrollo bacteriano (69). Entre ellos cabe destacar la cantidad de inóculo, la composición del medio de cultivo, la disponibilidad de gases y la temperatura. Cuando una de estas condiciones se altera, se produce una disminución en el crecimiento del cultivo bacteriano que va a depender de su capacidad de adaptación.

Una de las mayores dificultades es conocer las condiciones nutricionales óptimas para los microorganismos. El medio de cultivo debe satisfacer todos los requerimientos nutricionales de la bacteria. En consecuencia éste va a depender de la propia composición química del microorganismo y, a su vez, de la composición del medio donde creció primitivamente.

Por este motivo, el agua de mina se adaptó previamente a tres medios nutrientes distintos (Tabla VII), en los que se hizo un seguimiento, mediante microscopía óptica, del desarrollo bacteriano de cada uno de los cultivos. Tras este estudio se optó por trabajar con el medio D2 (131) en los cultivos de mantenimiento.

Tabla VII. Composición química de los medios nutrientes empleados en los cultivos de mantenimiento.

SALES NUTRIENTES	MEDIO NUTRIENTE		
	D1	D2	NORRIS
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.01	0.06	0.20
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01	0.06	0.40
K_2HPO_4	0.01	0.02	0.10
KCl	0.01	0.02	0.10

Inicialmente, se adaptaron 5 ml de agua de mina en presencia de 2 g de pirita de Río Tinto ($< 180 \mu\text{m}$) y 95 ml de medio nutriente D2. Para ello se acondicionó el mineral y el medio D2 durante 2 horas, en un incubador orbital a 35°C y 150 rpm. A continuación se ajustó el pH a 2.0, el cual se dejó evolucionar libremente después, y se inoculó con los 5 ml de agua de mina, volviéndose a introducir en el incubador.

Periódicamente se llevó el control del cultivo de la siguiente manera:

- Se restituía la evaporación con agua destilada.
- Se controlaba la actividad bacteriana en solución mediante observación microscópica de la misma.
- Se tomaba una muestra de 1 ml de solución para análisis de U_3O_8 y Fe_{total} .

La duración de cada cultivo fue de dos semanas. Pasado este tiempo, se procedía a la preparación de un nuevo cultivo de forma análoga y al que se inoculaba con 5 ml de solución bacteriana procedente del ensayo anterior. De cada cultivo se conservaban aproximadamente unos 10 ml de muestra a baja temperatura ($4^{\circ}C$) y el resto se desechaba, una vez esterilizado en un autoclave.

Posteriormente, se fue añadiendo mineral de FE y disminuyendo la cantidad de pirita en el medio. Tras repetidos subcultivos se alcanzó una relación de 2.5 g de mineral de uranio y 0.25 g de pirita.

Paralelamente, también se crecieron los mismos microorganismos pero utilizando como medio el propio agua de mina y utilizando relaciones de mineral similares a las anteriores.

Cuando en una muestra están presentes distintas poblaciones de microorganismos, cada una en una diferente proporción, el enriquecimiento de las mismas se logra cultivando la mezcla de microorganismos en unas condiciones de crecimiento adecuadas. El paso siguiente es el aislamiento de un microorganismo específico de la mezcla de ellos, para lo cual pueden emplearse medios selectivos que aporten los nutrientes microbianos suficientes. Esto nos llevó a utilizar el

medio Norris (Tabla VII)(132) en los cultivos puros de mantenimiento. De esta manera, la adaptación de todos los cultivos puros se realizó cultivándolos sobre 2 g de mineral de la mina FE (<180 μ m), con 0.25 g de pirita de Río Tinto (<180 μ m), en 90 ml de medio nutriente Norris a pH 2.0 y con 10 ml de inóculo.

Todos estos cultivos de mantenimiento son los que se han utilizado como inóculo en los experimentos de biolixiviación realizados. En la Tabla VIII se recogen las cantidades de inóculo, así como la naturaleza del inóculo, empleadas en cada uno de los ensayos realizados.

Tabla VIII. Cultivos bacterianos utilizados en los diferentes experimentos de biolixiviación.

ENSAYO	CANTIDAD DE INOCULO (L)	TIPO DE INOCULO
<i>Incubador</i>	5.10 ³	Cultivo natural Cultivo puro
<i>Columnas de vidrio</i>	0.1 ó 0.2	Cultivo natural
<i>Columnas de metacrilato</i>	1 ó 2	Cultivo natural
<i>Columnas de PVC(I)</i>	2.3	Cultivo natural
<i>Columnas de PVC(II)</i>	2 ó 2.5	Cultivo natural Cultivo puro

4.3. Técnicas experimentales

Considerando la era de mineral como un sistema en el que es posible realizar una partición progresiva en unidades de lixiviación, hasta llegar a las partículas de mineral (figura 42), puede observarse que cada una de las etapas que componen esta progresión representa un aspecto particular del proceso de lixiviación, que proporciona la base para las investigaciones teóricas y experimentales. Este concepto también representa un planteamiento racional de lo que entendemos por *escalamiento de un proceso*, que es de particular importancia para poder aplicar la información obtenida a pequeña escala, en experimentos de laboratorio, a la situación industrial.

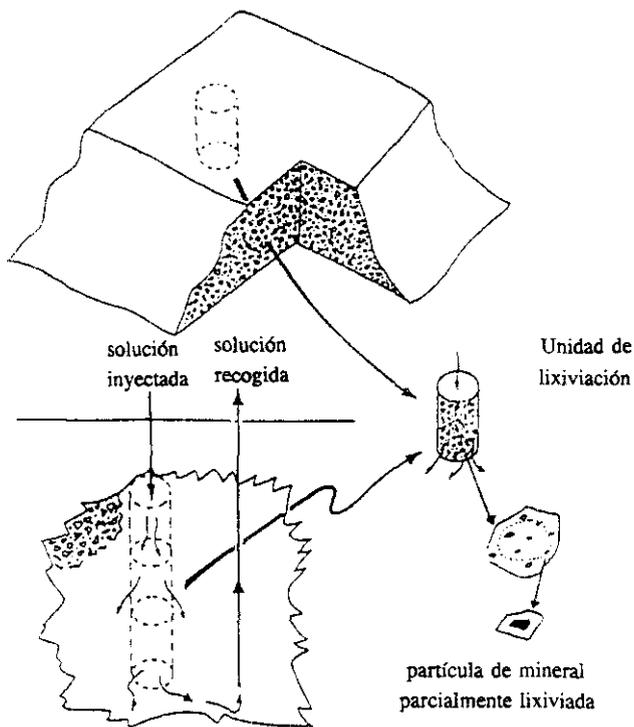
Así pues, para comprender totalmente la lixiviación será necesario integrar el conocimiento de cada una de las subsecciones mostradas en la figura 42 dentro de un conjunto coherente, que podría formar las bases para el desarrollo de un modelo cinético que explicase el proceso de lixiviación de un mineral dado (133,134). Lógicamente, la presencia de bacterias, en el proceso de lixiviación, introduce un nuevo elemento en un sistema ya, de por sí, complicado.

4.3.1. Ensayos en incubador

Los ensayos más simples a nivel de laboratorio consisten en la adición de una cierta cantidad de mineral molido a un matraz que contiene la solución lixivante, los nutrientes requeridos y un cultivo bacteriano; este se agita continuamente con un movimiento orbital para asegurar el mejor contacto posible sólido-líquido. El método así descrito permite realizar ensayos rápidos, con distintos minerales y en un amplio intervalo de condiciones de trabajo.

Así como la presencia de carbonatos en la mena descarta la lixiviación ácida, malos resultados en laboratorio de la lixiviación dinámica, descartarán la lixiviación estática. De forma general, recuperaciones menores del 50% pueden indicar la inviabilidad del proceso de lixiviación estática (135).

LIXIVIACION EN MONTON
O EN ESCOMBRERA



LIXIVIACION IN-SITU

Figura 42. Representación de distintos aspectos de la lixiviación.

4.3.2. Ensayos en columnas

La lixiviación dinámica de un mineral de tamaño de partícula muy fino, como es el caso de los ensayos en incubador orbital, permite controlar las condiciones del proceso y alcanzar la optimización del mismo. Sin embargo, cuando tratamos de trasladar éstos resultados a una situación industrial nos encontramos con que dicha simulación no es válida en su totalidad. En los montones, la preparación del mineral no es cuidadosa, el tamaño de partícula es grande, el contacto sólido-líquido no es perfecto por no haber movimiento relativo, la transferencia de O_2 y CO_2 puede ser baja o incluso inexistente y la temperatura puede variar considerablemente de unas zonas a otras. Así pues, la respuesta de un montón será mucho más compleja que la que podríamos esperar a partir de un ensayo simple en incubador.

Sin embargo, es posible obtener datos que sean más relevantes para la situación real programando ensayos en columnas (98.136,137). La lixiviación en columnas de percolación se puede considerar como un modelo simplificado de lixiviación en escombrera y montón; y los resultados obtenidos a escala de laboratorio darán información sobre si la lixiviación bacteriana es posible en condiciones aceptables.

Dichos ensayos son una buena aproximación a las operaciones a gran escala puesto que las condiciones que se tengan en la columna serán extrapolables a las que se den en el interior de la era. En este sentido, podríamos considerar las columnas como el corazón de una era, con el mismo acceso de la solución lixivante y de los gases que se difunden a su través (138). Así, un ensayo en columna simula el flujo o una de las posibles líneas de flujo en la percolación de una masa de material por gravedad.

En definitiva, dentro de los métodos de ensayo a nivel de laboratorio, la lixiviación en columna es el método que proporciona una información más detallada del proceso. En ella, el

mineral se introduce en un tubo vertical, generalmente de plástico, cuyas dimensiones pueden variar de 0.1 a 1 m de diámetro y de 0.5 a 4 m de altura (95). La base del tubo tiene una placa perforada que soporta el mineral y se sitúa sobre un depósito que recoge el efluente. Una bomba impulsa el líquido del depósito a la parte superior de la columna o a otro tanque de almacenamiento superior. El aire y los ácidos y nutrientes necesarios pueden ser suministrados a través de estos depósitos.

Como consecuencia del amplio intervalo de datos de diseño en los que es posible trabajar, tanto en relación al diámetro como a la altura de la columna, la elección de las dimensiones de la misma se hizo en base a criterios de diseño tomados de la bibliografía. Una recopilación de estos datos se muestra en la Tabla IX. En ella podemos observar una tendencia a la utilización de columnas con una relación altura de la columna a diámetro de la misma de entre 5 y 20.

Tabla IX. Columnas utilizadas a escala de laboratorio

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA	ALTURA H (m)	DIAMETRO D (m)	RELACION H/D	REFERENCIA BIBLIOGRAFICA	ALTURA H (m)	DIAMETRO D (m)	RELACION H/D
(54)	5.50	0.25	24	(139)	4.90	0.61	8
(96)	0.305	0.015	23	(143)	0.61	0.076	8
(70)	1.00	0.05	20	(105)	0.59	0.075	8
(14)	0.50	0.03	17	(144)	3.30	0.30	11
(139)	2.40	0.15	16	(75)	0.38	0.076	5
(142)	2.30	0.15	15	(145)	4.88	0.61	8
(141)	2.00	0.13	15	(90)	0.25	0.028	7
(142)	1.40	0.10	14	(85)	0.30	0.045	7
(46)	0.84	0.075	11	(133)	2.64	0.36	7
(99)	6.10	0.61	10	(105)	3.00	0.60	5
(140)	2.00	0.20	10	(101)	3.00	0.60	5

Dada la dispersión existente, había que decidirse entre una relación u otra. En la Tabla VIII se ha tratado de separar de una forma estadística aquellos valores cuya relación H/D tienden a razones próximas a 20, 10 y 5 respectivamente.

La bibliografía (99,146) establece que: "la altura de columna ha de ser, al menos, 5 veces el diámetro para permitir una distribución adecuada del líquido lixivante dentro de la misma". Y, aunque ese límite esté contemplado en las columnas referidas, también es cierto que trabajar en condiciones próximas a las mencionadas puede acarrear problemas en el funcionamiento del sistema. Por ello, se decidió descartar una relación próxima a 5.

De otra parte, también hay estudios bibliográficos (69,138,146) que, si bien no se ponen de acuerdo en el valor límite, establecen una relación diámetro de la columna a tamaño de partícula del mineral mayor a 4 y que no exceda de 20 con el fin de eliminar los efectos de pared (efecto de deslizamiento de la solución lixivante por las paredes del tubo, es decir, contrario al efecto de percolación). Esto significa que, si la relación H/D de la columna elegida es 20 en lugar de 10, para una misma altura de la columna el diámetro de la misma se reduce a la mitad y, con ello, el tamaño de partícula del mineral. Esto implica trabajar más alejado, si cabe, de las condiciones reales que se dan en una era de lixiviación. En este sentido, se ha establecido (135) que la fiabilidad de los resultados depende, más que de una buena simulación en la columna de la compactación y permeabilidad respecto a la situación real, de la granulometría del material ensayado.

Por estas razones apuntadas, se optó por trabajar con una relación intermedia que, por otra parte y según la bibliografía (46,99,139), ha llevado a buenas recuperaciones en el tratamiento de minerales de uranio.

Así pues, esta revisión nos condujo a seleccionar una relación de 10 como la más adecuada. De esta forma, las dimensiones de las columnas de PVC fueron: H=250 cm y D=25 cm.

Cada una de ellas se fraccionó en 5 módulos con el fin de facilitar su montaje y despiece, con una placa filtrante que soportaba el peso del mineral y un cuerpo inferior de 25 cm de alto para la recogida del líquido. El anclaje entre cuerpo y cuerpo se realizó mediante una brida con una junta tórica de goma. Además, cada cuerpo de la columna disponía de un pocillo interior (A), que se recubría con un material filtrante, para la toma de muestras a distintos niveles y, en dos de ellos, en cada columna, se tenía una entrada para la medida de la temperatura con un termopar (B). También se disponía, en la parte inferior de todas las columna, de difusores para la inyección de aire (C) y, en la parte superior, de difusores en cruz para la introducción de líquido de riego (D). El aire se suministró mediante un compresor (E) y los líquidos desde un tanque de alimentación (F) utilizando una bomba peristáltica (G). Los líquidos obtenidos después de la lixiviación se recogían por el fondo en un depósito (H). En la figura 43 se muestra un esquema del dispositivo experimental diseñado para la realización de los ensayos en estas columnas.

Paralelamente se realizaron experimentos en columnas de vidrio y de metacrilato de menor tamaño con los parámetros de diseño mostrados en la Tabla X. En éstos ensayos, se puede obtener información sobre distintos parámetros del proceso como el estado del lecho, el crecimiento de las bacterias, la velocidad de disolución y la recuperación del metal, la concentración de la solución efluente, el grado de ataque del sólido, la existencia de precipitados que impiden el ataque del mineral, el grado de oxidación de la pirita, etc. Es decir, los resultados que se obtengan de los ensayos en columnas pequeñas indicarán la aptitud del mineral al tratamiento por lixiviación estática.

Tabla X. Dimensiones de las columnas utilizadas en los ensayos de biolixiviación.

ENSAYO EN COLUMNA	NUMERO DE CUERPOS	DIAMETRO INTERNO (cm)	ALTURA UTIL (cm)	RELACION H/D _{util}
Vidrio	1	7	70	10
Metacrilato	1	14 / 19	70	5 / 4
PVC	5	25	250	10

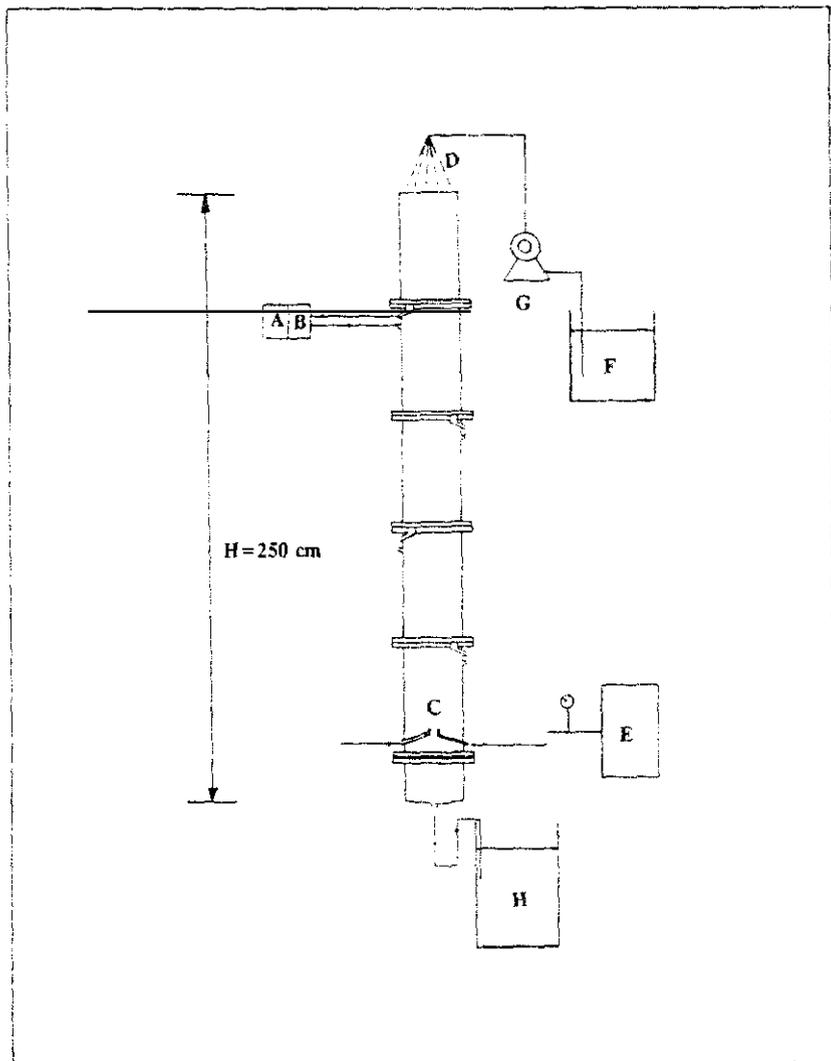


Figura 43. Esquema de las columnas de PVC utilizadas en este estudio.

Así pues, se realizó un escalamiento del proceso trabajando previamente en columnas de vidrio de pequeñas dimensiones y en columnas de metacrilato de dimensiones mayores, para acabar trabajando en las columnas grandes de PVC.

En definitiva, el proceso de biolixiviación, aplicado a los minerales de uranio de Saelices el Chico, en columnas de grandes dimensiones, constituye la culminación de los ensayos en incubador y un primer acercamiento al proceso a nivel de planta piloto. Es decir, volviendo a la figura 42, sería el nexo de unión entre la situación industrial y los ensayos de laboratorio a escala reducida. Lógicamente, de estos ensayos en columnas de grandes dimensiones resultarán datos más relevantes para la situación industrial que los obtenidos con los ensayos en incubador, puesto que la forma de operar en uno y otro caso es muy parecida (98).

4.4. Sistemática de la experimentación

4.4.1. Ensayos en incubador

Los experimentos se llevaron a cabo en matraces Erlenmeyer de 250 ml que contenían 5 g de mineral de la mina FE, 95 ml de medio nutriente D2 y 5 ml de inóculo adaptado. Los ensayos de control se hicieron en ausencia de bacterias con la adición de un agente bactericida (formaldehído o etanol).

Para la realización de los ensayos se utilizó un incubador-agitador orbital de la marca New Brunswick Scientific, modelo G-25 R (figura 44), en el que se fijó una velocidad de agitación de 150 rpm y una temperatura, excepto en los ensayos de estudio de esta variable, de 35°C.

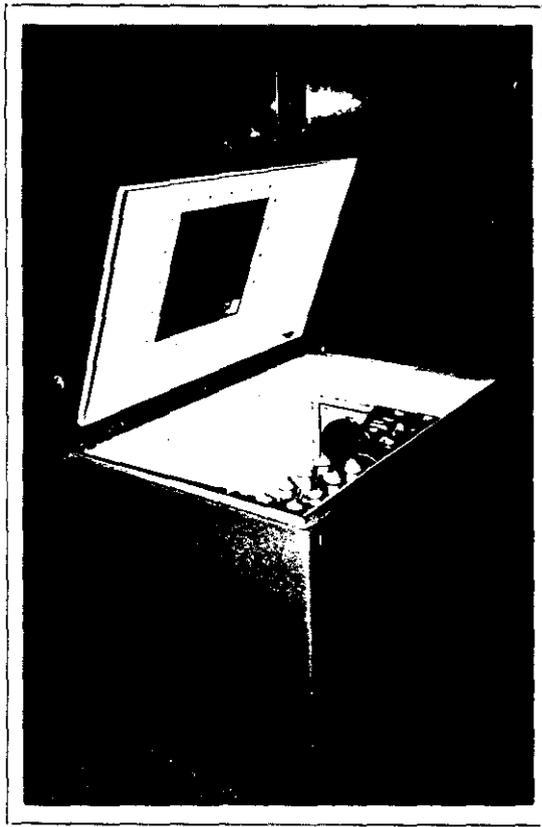


Figura 44. *Incubador orbital utilizado en los ensayos dinámicos.*

La metodología seguida en éstos ensayos fue la siguiente:

- Como paso previo, se esterilizaba todo el material de trabajo (pipetas, probetas, medio nutriente, agua destilada y el erlenmeyer con el mineral).

- Inicialmente, y después de un período de acondicionamiento de varias horas, se inculaba cada ensayo con 5 ml del cultivo correspondiente.

- Seguidamente, se medía el pH, que se dejaba evolucionar libremente, y se tomaban 3 ml de muestra para el análisis de uranio (expresado como U_3O_8) y de hierro total, cantidad de solución que se volvía a reponer con el medio nutriente empleado. En los ensayos estériles y con cultivos aislados, todas las manipulaciones se hicieron en condiciones asépticas, esto es, junto a la llama.

- Periódicamente, se seguía el mismo procedimiento de toma de muestra para el control de la experimentación, aunque previamente se reponía la evaporación con agua destilada. La duración de cada ensayo se estableció en dos semanas, pasadas las cuales se realizaba la correspondiente observación microscópica para determinar el grado de desarrollo de los cultivos inculados y el índice de contaminación de los no inculados.

El contenido de U_3O_8 , en los líquidos, se determinó mediante análisis por inyección en flujo (FIA) (147). A diferencia de los sólidos, la proporción de torio en los líquidos es baja y no interfiere.

Por lo que al hierro se refiere, su medida se realizó utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica de la marca Perkin-Elmer, modelo 360.

4.4.2. Ensayos en columna

Columnas de vidrio y de metacrilato

La forma de operar en cada ensayo fue la siguiente:

- En cada columna y en su parte inferior, se formaba un lecho de cantos rodados que se cubría con un tejido inerte como filtrante.

- Una vez cargado el mineral se hacía pasar un volumen de líquido de riego (2 L en las columnas de vidrio y, 2.5 y 3.5 L en las de metacrilato) con objeto de mojar el mineral y, de esta forma, disponer de un medio húmedo para la bacteria.

- Se procedía a la inoculación.

- Se recogía el efluente en un depósito que o bien se enrasaba con el líquido de riego a un volumen fijado (caso de los ensayos con recirculación) o se analizaba directamente previa medida del volumen.

- Finalmente, se ponía un algodón, encima de la superficie libre del mineral, para que distribuyese homogéneamente la solución de riego que se hacía recircular, mediante una bomba peristáltica, durante las horas previstas. En la figuras 45 y 46 se muestra el montaje experimental empleado en estos ensayos.

- Periódicamente se medían el pH, el potencial y el volumen recogido, y se tomaban muestras líquidas de 11 ml (columnas de vidrio) y 35 ml (columnas de metacrilato) para el análisis de U_3O_8 , Fe_{Total} y Fe^{2+} . Este volumen se volvía a reponer con el líquido de riego.

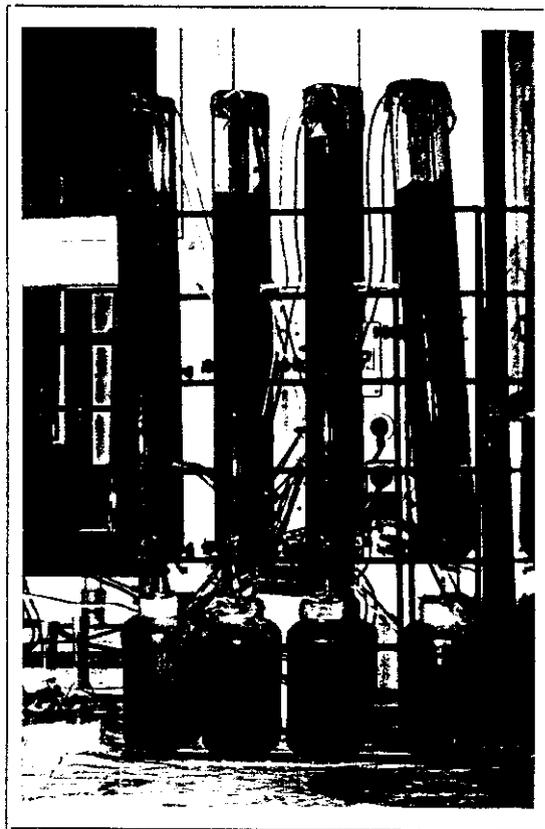


Figura 45. Montaje experimental utilizado en los ensayos en columnas de vidrio.

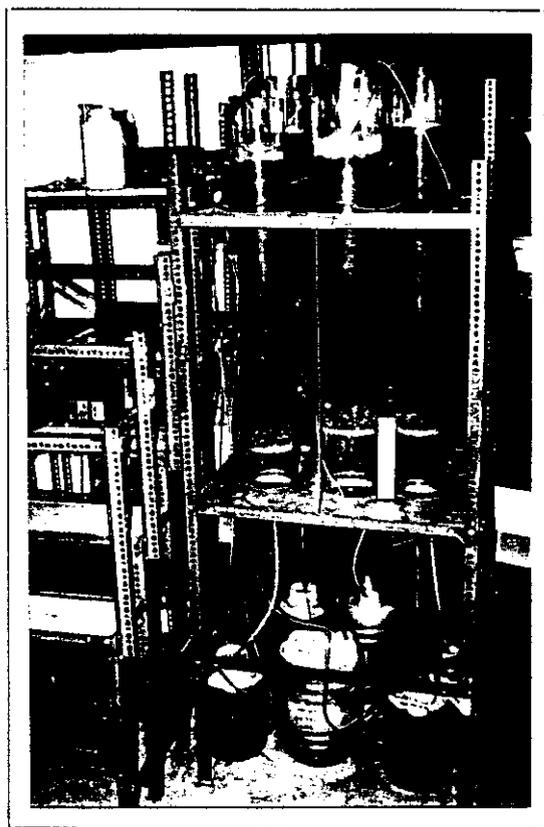


Figura 46. Montaje experimental utilizado en los ensayos en columnas de metacrilato.

Para la determinación del uranio se empleó el método ya mencionado. Tanto para la determinación del hierro total como del hierro ferroso, se empleó la técnica de fotolorimetría que utiliza la ortofenantrolina como reactivo colorimétrico (148). El equipo utilizado fue un espectrofotómetro Metrohm, modelo 662, a una longitud de onda de 510 nm. La concentración de Fe^{3+} se obtuvo por diferencia.

Columnas de cloruro de polivinilo (PVC)

La metodología seguida en estos ensayos fue la siguiente:

- Una vez fijada la estructura metálica de sujeción se procedió al montaje de los cuerpos de las columnas (figura 47). En el cuerpo inferior, y encima de la placa filtrante de PVC, se dispuso un lecho de cantos hasta una altura suficiente que cubriese los orificios de entrada de gases para evitar, de esta forma, su taponamiento. Este lecho se cubría con otro filtrante con el fin de retener los finos presentes en el mineral. A continuación, y a medida que se montaba cada cuerpo, se fueron cargando las columnas con mineral, tratando de evitar la segregación de finos y la rotura de los pocillos toma-muestras. Para evitar la salida de aire, por la parte inferior de la columna, se fijó un nivel permanente de líquido, en el cuerpo inferior, mediante un sistema sifón.

- Cuando el mineral estuvo cargado en las columnas se inició la experimentación propiamente dicha. Esta comenzó con una serie de riegos, con los que se trató de conseguir unas buenas condiciones de humedad, antes de la siembra de las mismas. Después de varios días, se llevó a cabo la inoculación utilizando para ello 2.3 L de inóculo en los ensayos PVC (I) y 2.5 L en los ensayos PVC (II). En éstos ensayos, debido a las condiciones reinantes durante la experimentación, fue necesario realizar una nueva inoculación con 2.0 L de cada cultivo.

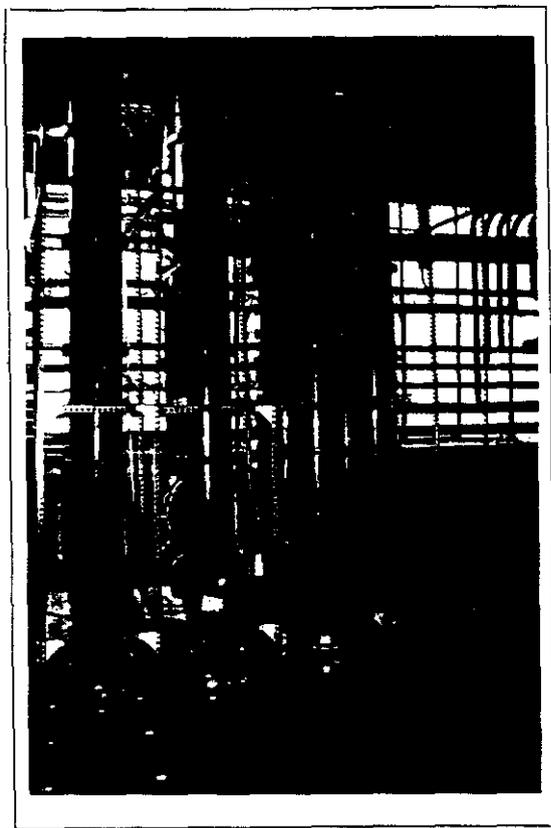


Figura 47. Montaje experimental utilizado en los ensayos en columnas de PVC (1).

- Una vez se hubo inoculado, se puso algodón, encima de la superficie del mineral, para que se distribuyese homogéneamente la solución de riego que se hacía llegar a la columna a través de un difusor en cruz y mediante una bomba peristáltica (figura 48).

- Periódicamente, se extraían volúmenes de líquido en los que se medía el pH y el potencial redox. De éstos líquidos se tomaban muestras representativas para analizar su contenido en U_3O_8 , Fe_{Total} y Fe^{2+} .

- Además de las recogidas por el fondo de las columnas, periódicamente se tomaban muestras líquidas a distintos niveles de las mismas. En ellas se realizaba, igualmente, la medida del pH y el análisis de U_3O_8 , Fe_{Total} y Fe^{2+} .

- Asimismo, durante el tiempo que duraron estos ensayos se efectuó, periódicamente, la medida de la temperatura tanto en el interior como en el exterior de la columna utilizando termopares (figura 48).

Las incidencias ocurridas durante la experimentos PVC (II), sobre todo en lo que a la temperatura se refiere (los ensayos con cultivos puros se iniciaron en los meses de invierno), obligaron a reconsiderar la experimentación después de los dos primeros meses de funcionamiento (en este tiempo se llegaron a alcanzar temperaturas mínimas de $5^{\circ}C$). Para obviar este problema se cubrieron totalmente las columnas con un plástico aislante a modo de invernadero y se instalaron dos calefactores (figura 49). Con este sistema se consiguió alcanzar una temperatura media de $25^{\circ}C$ distribuida homogéneamente por todo el sistema experimental.



Figura 48. *Bombas peristálticas, depósitos de líquidos y controlador de temperatura utilizados durante esta experimentación.*



Figura 49. Montaje experimental utilizado en los ensayos en columnas de PVC (II).

RESULTADOS Y DISCUSION

5. RESULTADOS Y DISCUSION

En los últimos 30 años, la biolixiviación de los minerales de uranio ha sido estudiada por muchos investigadores (149,150,151,152,153,154). La información obtenida, aunque menor que para el caso del cobre, ha permitido establecer que el éxito de la lixiviación de los minerales de uranio depende, en gran medida, de la actuación de los microorganismos que participan en el proceso. Asimismo, la lixiviación bacteriana, como cualquier otro proceso en que participan seres vivos, está influenciada por factores medioambientales.

En las operaciones industriales toman parte una gran diversidad de microorganismos cuyo papel puede afectar notablemente al desarrollo del proceso dependiendo de la naturaleza y proporción de los mismos. Además, la propia dinámica de las operaciones de lixiviación modifica las condiciones medioambientales existentes en los montones, pudiendo estas variar ampliamente de unas zonas a otras de los mismos.

Desde un punto de vista microbiológico y en estudios dinámicos de laboratorio, una mejora artificial de los factores medioambientales puede no influir necesariamente en la lixiviación *sino se actúa simultáneamente sobre otros factores limitantes. No obstante, si esos factores se estudian en situaciones de laboratorio equivalentes a las naturales (ensayos en columnas), pueden proporcionar una información muy valiosa sobre las condiciones de lixiviación.*

Partiendo del hecho de que la actividad metabólica de los microorganismos implicados en el proceso de biolixiviación, particularmente el *Thiobacillus ferrooxidans*, está muy influenciada por factores medioambientales (tales como nutrientes, pH, Eh, temperatura, tamaño de partícula, etc.) (48,92), para que un sistema de lixiviación estática funcione es indispensable mantener el medio en unas condiciones tales que los requerimientos de la bacteria sean adecuadamente

cubiertos. De esta forma, y cuando el medioambiente es capaz de mantener esas condiciones de lixiviación óptimas, puede obtenerse el rendimiento máximo de extracción.

Para lograr optimizar una operación de lixiviación estática se necesitan períodos de tiempo muy largos. Sin embargo, resulta más rápido y sencillo obtener las condiciones óptimas de disolución del mineral realizando ensayos en incubador.

Es decir, las investigaciones de laboratorio a pequeña escala, que tratan de determinar el alcance y velocidad del ataque de los minerales, deben tender, inicialmente, a establecer las condiciones idóneas para una buena lixiviación (ensayos en incubador) y, posteriormente, utilizar métodos que puedan extrapolar los resultados a la situación real (ensayos en columnas).

Esto obliga, como se comentó en el Plan de Trabajo, a realizar ensayos en incubador, como paso previo a los experimentos en columnas, tanto para los estudios llevados a cabo con cultivos naturales como para los efectuados con cultivos puros aislados a partir de aquél.

5.1. Ensayos con cultivos naturales

Hasta el momento, gran parte de los trabajos de laboratorio realizados (155,156) habían considerado que el proceso de extracción metálica estaba afectado, casi exclusivamente, por *Thiobacillus ferrooxidans*. Sin embargo, éstos estudios no son totalmente aplicables a situaciones naturales.

En las operaciones de lixiviación natural, la población microbiana no responde a las características de un cultivo puro, si bien, las condiciones medioambientales existentes favorecen, principalmente, el desarrollo de *thiobacilli* y *leptospirilli* acidófilos.

Con esta idea, los primeros estudios de biofixiviación, tanto en incubador como en columnas, se realizaron con un cultivo natural adaptado al medio D2. Este cultivo estaba formado por una diversidad de microorganismos, entre los que cabe destacar: *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*, heterótrofos (fundamentalmente, *Penicillium*) y algún termófilo moderado (130).

5.1.1. Ensayos en incubador

Planificación de los ensayos

Inicialmente, se llevaron a cabo una serie de experimentos preliminares (Tabla XI) en los que se trató de establecer las mejores condiciones del proceso de disolución del uranio.

Posteriormente, una vez fijadas la densidad de pulpa, el tamaño de partícula del sólido y el tipo de cultivo, se realizaron distintas series de ensayos con el fin de conocer la influencia del resto de variables (Tabla XII).

Tabla XI. Ensayos preliminares en incubador con cultivos naturales.

VARIABLE	CONDICIONES ENSAYADAS
Densidad de pulpa (%)	5, 10 y 15
Tamaño de partícula (μm)	< 60, < 100 y < 180
Tipo de cultivo	Bacterias adaptadas al medio D2 (días / meses) Bacterias adaptadas al agua de mina (días)

Tabla XII. Ensayos de estudio de influencia de variables en incubador con cultivos naturales.

VARIABLE	CONDICIONES ENSAYADAS
Aireación (L/min.)	0.5, 0.5+1%CO ₂ y 0.5+5%CO ₂
Fe ²⁺ ^(a)	2, 5 y 10
Adición de pirita (%) ^(b)	1, 2, 3 y 6
pH	1.5, 2.0, 2.5, 3.0 y Libre
Medio nutriente	agua destilada, agua de río, medio D1, medio D2, medio Norris y medio 9K
Temperatura (°C)	15, 25, 30, 35, 40 y 45

^(a) Como FeSO₄·7H₂O

^(b) Como pirita de Río Tinto Minera, S.A. (<180 μm).

Ensayos preliminares

Influencia de la actividad bacteriana

El aumento de la producción de uranio en la lixiviación estática se ha atribuido, principalmente, a la actividad bacteriana en el interior de los montones. Este hecho ha sido confirmado por estudios de laboratorio (95,157).

Con este mismo criterio, se llevaron a cabo dos ensayos comparativos con el fin de establecer el efecto catalítico que tienen las bacterias sobre el ataque del mineral de uranio de la mina FE. Uno de ellos, se realizó con inoculación utilizando un cultivo natural crecido a partir del agua de mina de la instalación de Saclices el Chico; mientras que el otro se efectuó sin la adición de bacterias (ensayo de control). La experimentación se realizó en las condiciones reflejadas en el apartado 4.4.1.

Los resultados de los análisis de U_3O_8 en solución, para los dos ensayos, indican que, efectivamente, las bacterias aceleran la cinética del proceso de disolución del uranio a partir del mineral de FE (figura 50). Así, a las 150 horas de operación, la cantidad de uranio lixiviada en el experimento con bacterias es casi tres veces superior a la del ensayo de control. Sin embargo, lo verdaderamente significativo es la evolución de las curvas de disolución del uranio; en el experimento realizado con bacterias la pendiente es más acentuada que en el ensayo sin ellas, lo que se traduce en una mayor velocidad de disolución del metal en el primer caso. Esto tiene su explicación en el hecho de que la cantidad de metal extraído está directamente relacionada con el crecimiento o desarrollo del cultivo bacteriano, que, como ya se ha comentado, se caracteriza por presentar tres zonas bien diferenciadas de acuerdo con el modelo de Monod (158):

a) Un período de inducción o de latencia, en el cual la actividad bacteriana todavía no es importante y donde las velocidades de lixiviación de los metales son bajas. Se caracteriza por una subida general del pH. La reducción o desaparición de esta fase se puede conseguir, como ha sido nuestro caso, efectuando la siembra con un inóculo procedente de un cultivo en fase exponencial (figura 41).

b) Un período de máxima actividad bacteriana o de crecimiento logarítmico, donde se obtiene la mayor velocidad de extracción del metal (primeras 50 horas, en nuestro caso). El pH tiende a descender rápidamente. Obsérvese la caída más brusca del pH en el ensayo inoculado frente al estéril (figura 51). No obstante, en el ensayo no inoculado vemos como el pH tiende a disminuir, desde un valor 7.0 a 4.0, lo que estaría indicando un comportamiento ácido de la roca encajante.

c) Un período estacionario, en donde la actividad bacteriana cesa, llegando a producirse la muerte de las células como consecuencia de la desaparición de nutrientes al ser consumidos, por falta de aporte de sustancias para los procesos respiratorios o por acumulación de productos finales del metabolismo a concentraciones tóxicas.

Evidentemente, el proceso de disolución del mineral es completamente distinto en uno y otro caso. Mientras que en presencia de bacterias el ataque de la pirita produce rápidamente Fe^{3+} y un medio ácido, capaces de disolver los minerales de U(IV) y, por supuesto, los de U(VI); en ausencia de las mismas, la pirita no es lixiviada (18) y la única posibilidad sería la disolución de compuestos de uranio hexavalente debido al medio débilmente ácido que se tiene.

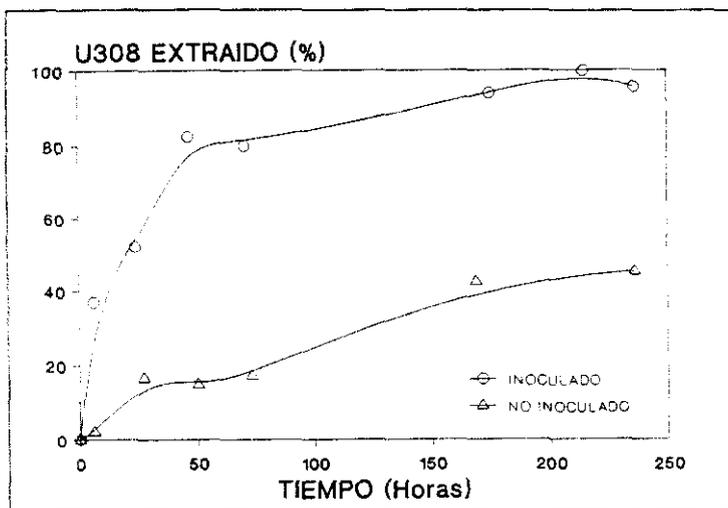


Figura 50. Influencia de la actividad bacteriana: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados y no inoculados (5% de densidad de pulpa y 35°C).

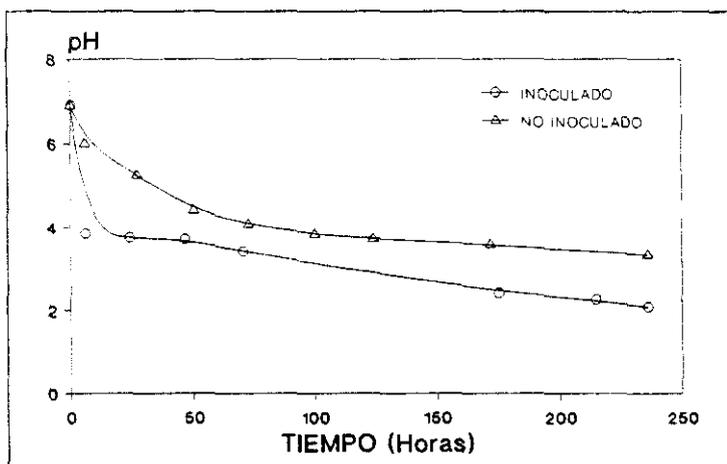


Figura 51. Influencia de la actividad bacteriana: Variación del pH en ensayos inoculados y no inoculados.

Influencia de la densidad de pulpa

La concentración de sustrato sólido, expresada como densidad de pulpa, es una de las variables que más influye en los procesos de extracción metálica. Uno de los mayores requerimientos de la bacteria es la disponibilidad de un sustrato al que oxidar (123). Una manera de aumentar esta disponibilidad es incrementando la masa de sustrato; de esta forma el área superficial total por unidad de volumen aumenta.

Con objeto de conocer el comportamiento del proceso de biolixiviación cuando se utilizan distintas densidades de pulpa, se llevaron a cabo tres ensayos en los que se trabajó con una relación peso/volumen, de mineral y líquido, del 5, 10 y 15 %. Los ensayos fueron inoculados con cultivos naturales y la temperatura fue de 35 °C.

La representación de la extracción de uranio, expresada en tanto por ciento, frente al tiempo, en horas, muestra que las cinéticas de lixiviación del uranio son más bajas al aumentar la cantidad de sustrato mineral en un mismo volumen de solución de ataque (figura 52). Así, a un tiempo de 200 horas de iniciado el experimento, la cantidad de uranio lixiviada, como U_3O_8 , es del 95, 40 y 5 por ciento, para densidades de pulpa del 5, 10 y 15 por ciento, respectivamente.

Estos resultados tienen su explicación en el hecho de que a medida que disminuye la densidad de pulpa, las condiciones fluidodinámicas del proceso son mejores debido a que se reduce el espesor de la capa límite que rodea a las partículas y, por tanto, se favorece la transferencia de materia a través de ella. Por el contrario, cuando la relación sólido-líquido es alta, los sólidos interfieren en la transferencia de nutrientes, especialmente en la del oxígeno y del CO_2 a los microorganismos, y las velocidades de extracción disminuyen (124). Este efecto de apantallamiento está asociado a la disposición de los microorganismos en el sistema, ya que,

según estudios realizados (159), la mayor parte de las bacterias se encuentran adheridas a las partículas sólidas y sólo un pequeño porcentaje, cercano al 5 por ciento, quedan libres.

Así pues, al incrementar la concentración de sustrato, la masa de oxígeno y de dióxido de carbono transferidos, ejercen probablemente un efecto limitante sobre el crecimiento de los microorganismos, como lo demuestra el hecho de que el período de inducción del crecimiento bacteriano es más largo cuando la densidad de pulpa aumenta del 5 al 15%.

Esa mayor actividad bacteriana, al disminuir la densidad de pulpa del 15 al 5%, se refleja también en una mayor producción de ácido y, por consiguiente, en una bajada más pronunciada del pH (figura 53), si bien, en los tres casos apuntados, la evolución de las curvas es similar.

En operaciones industriales de lixiviación estática, esta variable lógicamente no es considerada pues la cantidad de sólido respecto a la fase líquida es tan grande que, al final del proceso, el balance másico establece que el volumen de sólidos es prácticamente idéntico al que había al inicio del mismo.

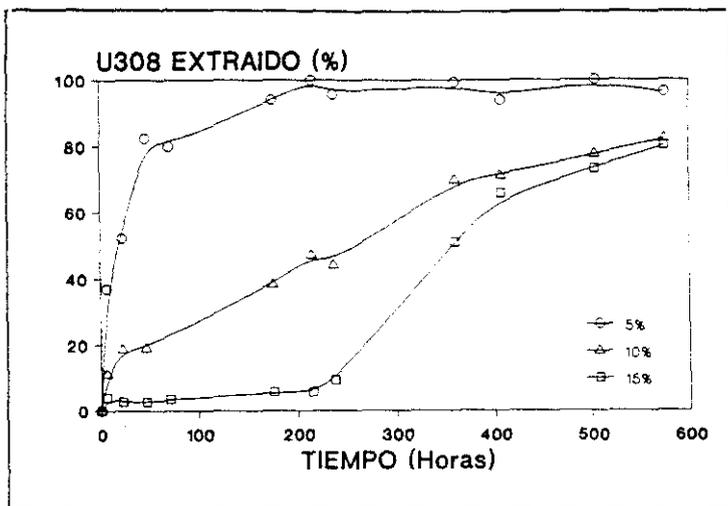


Figura 52. Influencia de la densidad de pulpa: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con densidades de pulpa del 5, 10 y 15% (a 35°C).

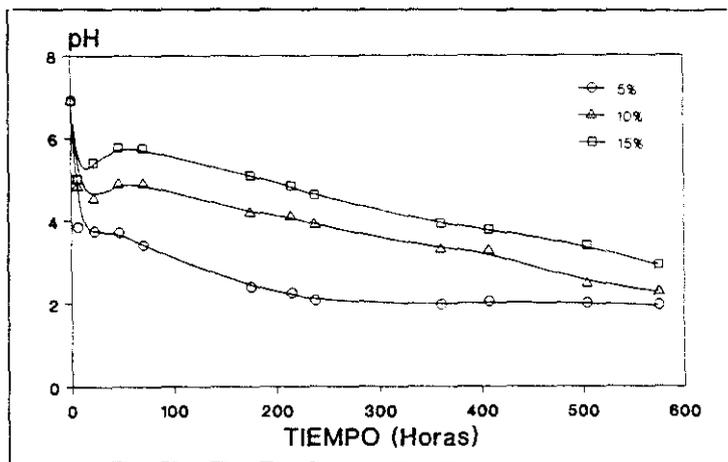


Figura 53. Influencia de la densidad de pulpa: Evolución del pH en función de la densidad de pulpa de trabajo.

Influencia del tamaño de partícula

El grado de liberación del mineral, que determina tanto el tamaño de partícula como el área expuesta al ataque, también influye en la recuperación del uranio. Así, una de las formas de acelerar la velocidad de extracción del metal es aumentar el área superficial específica del mineral por reducción del tamaño de partícula.

La experimentación en este caso estuvo encaminada a determinar el intervalo de tamaños de partícula más adecuado que permitiese un porcentaje de recuperación metálica máximo, compatible con las mejores condiciones económicas del proceso extractivo.

Para el estudio de esta variable, se llevaron a cabo tres ensayos con el mineral de la mina FE con diferentes tamaños de partícula ($< 60\mu\text{m}$, $< 100\mu\text{m}$ y $< 180\mu\text{m}$) y con un 5% de densidad de pulpa, una temperatura de 35°C y utilizando como inóculo un cultivo natural. Nótese como al disminuir el tamaño de partícula, aumenta la disponibilidad del sustrato (área superficial específica de las partículas) permaneciendo invariable su concentración.

Los resultados de los análisis de U_3O_8 se muestran en la figura 54 e indican un comportamiento similar para los tres casos ensayados. Esto se corresponde con una evolución del pH casi idéntica en todos los casos (figura 55). No obstante, en el ensayo con el tamaño de partícula intermedio existe una velocidad de disolución del uranio menor a tiempos intermedios, como consecuencia, probablemente, de la aparición de efectos limitantes sobre el desarrollo de los microorganismos, que desaparecen al final del experimento.

Si bien, como aquí se ha comprobado, sería conveniente trabajar siempre con un tamaño de partícula lo más pequeño posible con objeto de conseguir conversiones máximas, Torma y Guay (30) sugieren que el tamaño de partícula óptimo, en operaciones de lixiviación a gran escala, estará dictado por las mejores condiciones económicas del proceso de molienda compatibles con unos adecuados porcentajes de recuperación en el proceso de extracción del uranio.

A diferencia de las operaciones comerciales de lixiviación dinámica (química), que pulverizan el mineral para lograr la total extracción del uranio, en la lixiviación estática asistida por bacterias el tamaño de partícula del mineral es el que resulta de la fragmentación en operaciones de mina o, como mucho, de una trituración (50). De esta forma, los microorganismos no pueden atacar el interior de la partícula; a menos que se disuelva toda la partícula, se corre el riesgo de que los minerales de uranio sean inaccesibles a la solución lixivante o que queden protegidos por componentes inertes (41). Sin embargo, también ocurre que cuando se disminuye el tamaño de partícula de un mineral de ley baja, éste se diluye más pues una mayor cantidad de roca encajante está expuesta al ataque y, de esta forma, la influencia ejercida en el proceso de lixiviación pasa de ser beneficiosa a ser adversa.

En la operación de Saelices, las partículas de pechblenda tienden a concentrarse en la fracción fina del mineral (117). Si bien es cierto que los finos son más susceptibles a la oxidación bacteriana, también ocurre que si el mineral se muele a tamaños muy pequeños, la velocidad de extracción está controlada por la velocidad de difusión del oxígeno dentro del montón la cual será muy reducida en estas condiciones. Así pues, en estos sistemas, el éxito de la operación está condicionado por el hecho de que los minerales del montón contengan tamaños de partícula adecuados para que a través de los cuales puedan pasar gases y soluciones líquidas.

Es decir, en la lixiviación estática, el tamaño de partícula ideal vendrá definido por las mejores recuperaciones del metal unidas a unas buenas condiciones de percolación. En la práctica industrial (91), trabajando con limos, se observa que la solubilización del uranio está limitada a los primeros 10 cm desde la superficie del montón, ya que un tamaño de partícula tan fino deja huecos muy pequeños que limitan la velocidad de difusión del oxígeno. Las soluciones propuestas al problema fueron: eliminar continuamente los 10 cm superiores de limo o inyectar aire dentro de los montones (95).

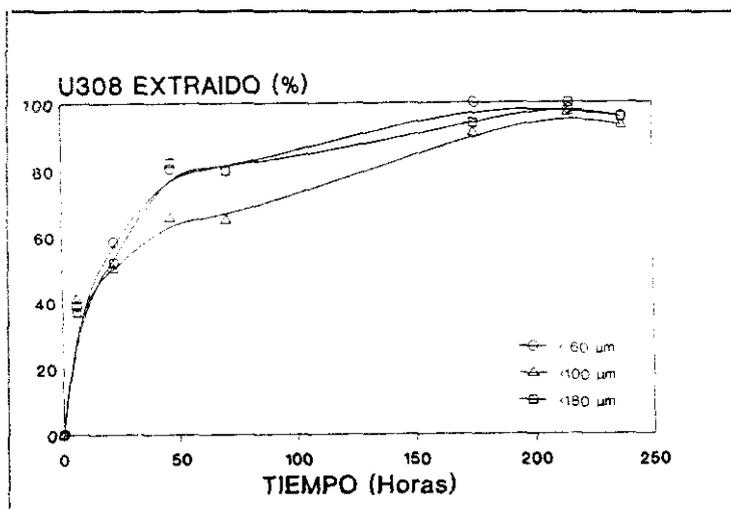


Figura 54. Influencia del tamaño de partícula: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados utilizando mineral con tamaños de partícula. (D.P.:5% y 35°C).

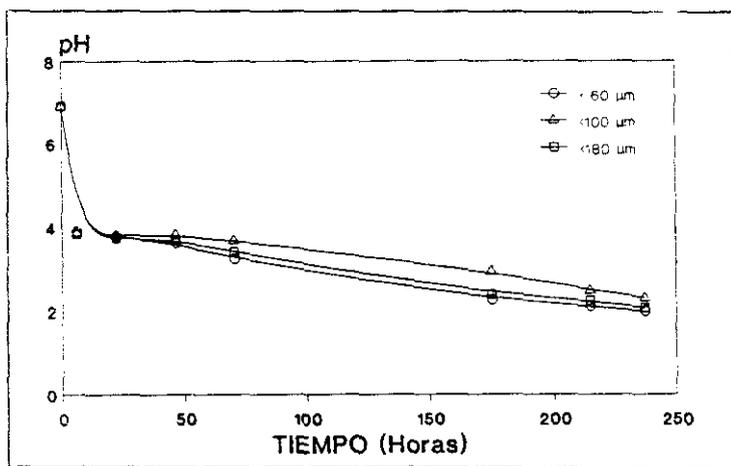


Figura 55. Influencia del tamaño de partícula: Evolución del pH en función del tamaño de partícula del mineral.

Influencia del tipo de inóculo

Finalmente, se estudió la influencia de inocular con uno u otro cultivo en el proceso de disolución del uranio. Para ello se realizó una serie de ensayos en los que un mismo medio nutriente (D2) con mineral de la mina FE se inoculó con sendos cultivos naturales crecidos sobre medio D2 durante días (ensayo 1), sobre medio D2 durante meses (ensayo 2), y sobre la propia agua de mina durante también días (ensayo 3).

De los tres casos ensayados (figura 56), todos ellos con un 5% de densidad de pulpa y un tamaño de partícula $< 180 \mu\text{m}$, hay que destacar los altos rendimientos alcanzados en los ensayos 2 y 3 frente a los obtenidos en el ensayo 1. Obsérvese, en éste último caso, el aumento del período de inducción y la evolución del pH en relación a los otros dos casos (figura 57).

Estos resultados pueden explicarse sólo si se considera que la población microbiana existente en cada uno de los inóculos era distinta. Es fácil suponer que al adaptar el cultivo natural (agua de mina) a un medio nutriente de laboratorio (medio D2), algunos de los microorganismos presentes en el mismo se potenciarían a expensas de otros, alcanzándose un estado de equilibrio con el tiempo (meses). Ahora bien, si el cambio de medios se produce en un corto espacio de tiempo (días), esa adaptación está condicionada por factores medioambientales que pueden influir negativamente retardando el inicio de la actividad bacteriana.

Un hecho importante que hay que resaltar es el comportamiento diferente que se tiene entre el ensayo 2 y el ensayo 3. Si bien las recuperaciones finales tienden a igualarse, durante las primeras 100 horas la cinética del proceso está más favorecida cuando se emplea el cultivo adaptado al medio nutriente D2 durante meses. Este comportamiento se debe a que las bacterias adaptadas durante largo tiempo a este medio han funcionado mejor como consecuencia de que la transferencia de células de un medio de cultivo (agua de mina) a otro con una composición

diferente (medio D2) produce una disminución en el rendimiento hasta que se inicia la multiplicación y, por consiguiente, un retardo en el proceso de disolución del uranio.

No obstante, se puede decir que durante las operaciones de lixiviación se producen cambios de las diversas variables medioambientales de forma que los estudios con cultivos naturales desarrollados sobre aguas de mina proporcionarán más información de las condiciones de lixiviación. Aunque también es cierto que si se quiere realizar la inoculación en los montones, a menos que se disponga de una gran cantidad de cultivo natural a partir de esas aguas de mina, será necesario alcanzar un compromiso entre utilizar estos cultivos u otros crecidos en el laboratorio, aunque desarrollados forzosamente en medios económicos, como se comentará más adelante.

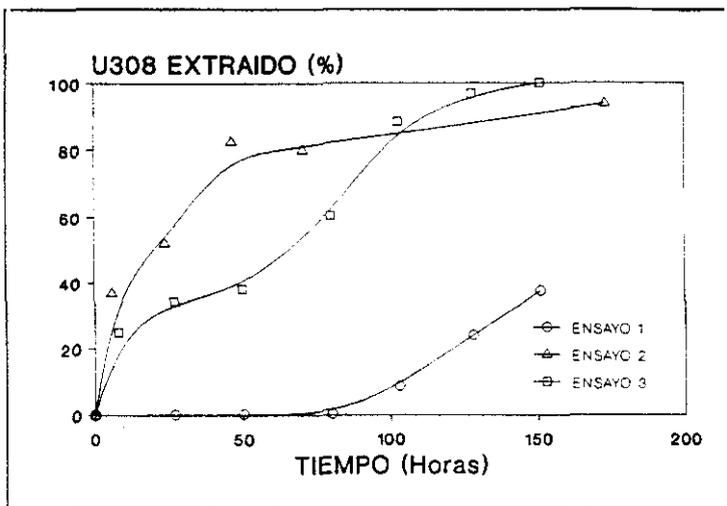


Figura 56. Influencia del tipo de inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con distintos cultivos bacterianos (D.P.:5% y 35°C).

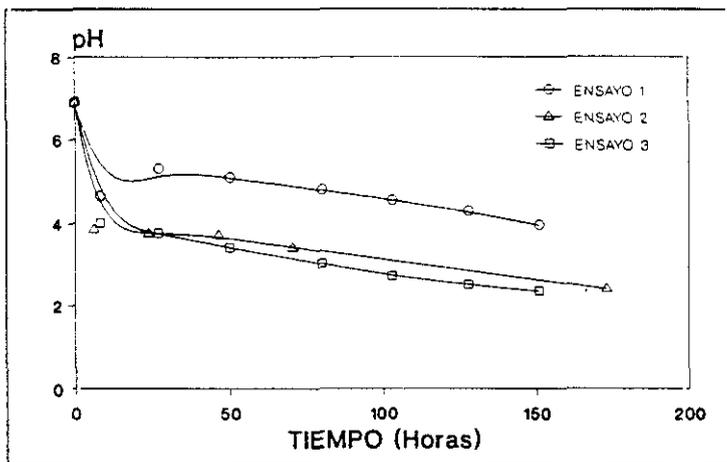


Figura 57. Influencia del tipo de inóculo: Evolución del pH en función del tipo de inóculo empleado.

Ensayos de estudio de variables

La elección de una densidad de pulpa del 5%, un tamaño de partícula menor de $180\mu\text{m}$ y un inóculo natural adaptado a un medio nutriente diluido durante meses nos permitió realizar el estudio de variables que a continuación se comenta.

Influencia de la aireación y del aporte de dióxido de carbono

Debido a que los microorganismos biolixivantes son aerobios, necesitan un aporte continuo de oxígeno y por tanto la disponibilidad de este elemento puede llegar a ser un factor limitante del proceso cuando su velocidad de reemplazamiento sea menor que la de su utilización como aceptor final electrónico por el metabolismo bacteriano.

Por otro lado, el medio debe de aportar también un nivel mínimo de CO_2 , ya que este compuesto es muy importante en la actividad de las bacterias al obtener a partir de él el carbono celular. Normalmente, el contenido de dióxido de carbono en la atmósfera (0.03%) puede ser suficiente para éstos propósitos (50).

En el medio ácido donde tiene lugar la lixiviación de sulfuros, la solubilidad del oxígeno y el dióxido de carbono es baja, por lo que es necesaria una velocidad de transferencia de materia máxima para que este factor no sea controlante en el crecimiento de los microorganismos. Todo ello implica que es necesario estudiar el efecto del aporte de O_2 y CO_2 cuando se quieren definir las mejores condiciones para el ataque del mineral.

Para el estudio de esta variable, se hizo llegar a cada matraz, a través de un conducto flexible, una corriente de aire o de aire más anhídrido carbónico. Se realizaron cuatro experimentos: uno sin aporte directo de gases, otro con sólo aire (0.5 L/min.) y finalmente otros

dos con aire (0.5 L/min.) y con CO₂ (1% y 5% en volumen). Los resultados obtenidos, a pesar de todo, no mostraron una mejora del rendimiento en relación al ensayo de disolución del uranio sin aporte directo de gases (figura 58). La evolución del pH para todos los experimentos fue muy parecida, tal y como aparece reflejado en la figura 59.

La explicación a este hecho debe estar relacionada con que el oxígeno y CO₂ contenidos en un ambiente sin aporte forzado de gases son suficientes para propiciar, en un sistema agitado, una adecuada transferencia de materia. El porqué los resultados con aireación fueron incluso ligeramente peores podría ser debido al hecho de que una agitación excesiva, en este caso neumática, pudo provocar fenómenos de rozamiento y atrición que a través del "stress" generado en las bacterias pudieran dar lugar a un menor rendimiento en su acción.

No obstante, esta falta de influencia de la aireación no debe ser un impedimento para ensayar posteriormente esta variable en los ensayos en columna, pues a diferencia de los ensayos en incubador, en este caso el sólido se encuentra estático y, por tanto, la necesidad de hacer llegar oxígeno al sistema puede ser mayor. En este sentido y a nivel de una aplicación práctica como es la lixiviación en montones, la disponibilidad, particularmente, de O₂ y CO₂, puede ser un problema, si no se facilita adecuadamente durante la construcción de ese montón el transporte gaseoso a través del mineral. Se ha visto (50), que el método de aplicación de la solución lixivante, la cantidad de finos presentes en el mineral y su grado de compactación pueden influir en la cantidad de oxígeno que es capaz de penetrar en el sistema. Finalmente, en la lixiviación en montones no se presentan problemas de rozamiento o atrición.

En definitiva, la creciente preocupación existente a nivel industrial por mejorar las extracciones de uranio está haciendo considerar, cada vez más, la posibilidad de inyectar aire en el interior de las eras (160,161).

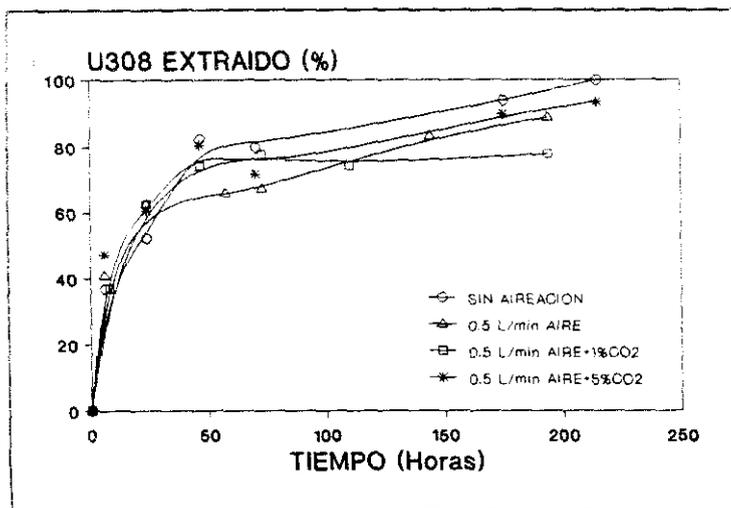


Figura 58. Influencia de la aireación y del aporte de CO_2 ; Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados no aireados y con distintos tipos de aireación (DP:5% y 35°C).

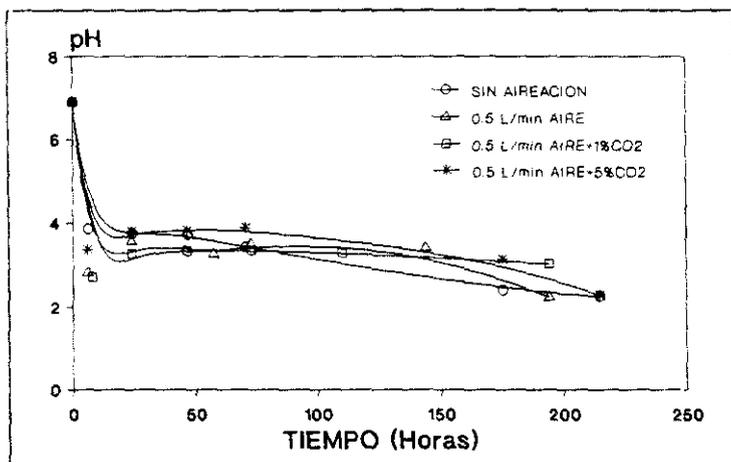


Figura 59. Influencia de la aireación y del aporte de CO_2 ; Evolución del pH en función del tipo de aireación.

Influencia del medio nutriente

Otro de los factores que afecta a la actividad bacteriana y, por consiguiente, al proceso de disolución de los minerales de uranio, es la composición química del medio nutriente. Recordemos que dichos nutrientes facilitan los principios básicos necesarios para el desarrollo de las bacterias.

Considerando factores de tipo económico, es deseable identificar los nutrientes mínimos necesarios que se deben añadir a la solución lixivante para producir el medio de lixiviación ideal, tanto desde un punto de vista biológico como práctico. Normalmente, el medio utilizado en estudios de laboratorio, el 9K, es demasiado caro como para usarlo en operaciones extractivas a gran escala (124). Además, estudios recientes (101,105,120) han indicado que este medio contiene concentraciones excesivas de fosfato, magnesio y amonio y que *T.ferrooxidans* es activo en medios considerablemente más diluidos, lo cual redundaría en que el consumo de reactivos sería menor.

La caracterización del mineral de la mina FE puso de manifiesto la existencia en el mismo de nutrientes esenciales en forma de fosfato cálcico y de filosilicatos (con abundancia de Mg y K). Indudablemente, éstos compuestos favorecerán el crecimiento bacteriano y reducirán la necesidad de su aporte al sistema.

En la Tabla XIII queda reflejada la composición química de todos los medios nutrientes utilizados en este estudio. También se muestra en la Tabla XIV el análisis químico del agua de rfo que se empleó como medio de lixiviación durante alguna parte de la experimentación.

Las condiciones experimentales en éstos ensayos fueron: 5% de densidad de pulpa (mineral de FE con el medio nutriente), 35°C e inoculados con 5 ml de cultivo natural.

Tabla XIII. Composición química de los medios nutrientes (g/L).

Sales Nutrientes	Medio D1	Medio D2	Medio Norris	Medio 9K
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.01	0.06	0.20	3.00
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01	0.06	0.40	0.50
K_2HPO_4	0.01	0.02	0.10	0.50
KCl	0.01	0.02	0.10	0.10
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	0.014

Tabla XIV. Composición química del agua de río (g/L).

Sales Nutrientes	Agua de río
NH_4^+	0.0008
SO_4^{2-}	0.0150
PO_4^{3-}	0.0001
Cl^-	0.0140
NO_3^-	0.0003

El estudio realizado ha mostrado un mejor comportamiento de los medio diluidos en sales nutrientes (medios D1 y D2 y agua de río) frente a aquéllos más concentrados (medios Norris y 9K), tal como aparece reflejado en la figura 60. En todos los casos estudiados se ha observado una tendencia muy parecida en la evolución del pH (figura 61). No obstante, los medios más concentrados produjeron una mayor cantidad de ácido, lo que indica una actividad bacteriana más acusada en estos casos. Entonces, la explicación a que en estos ensayos la recuperación de uranio sea menor es que los medios nutrientes más concentrados en sales, pese a crear las condiciones idóneas para el crecimiento bacteriano, favorecen la precipitación de hierro férrico como jarosita, evitando de esta forma el mecanismo indirecto de ataque de los minerales de uranio. Este es un

caso en el que las mejores condiciones de crecimiento bacteriano no se corresponden con la extracción metálica máxima.

Aunque se tiene noticia de casos (10,149,152) en los que la adición de concentraciones importantes de nutrientes bacterianos aumentó el porcentaje de uranio extraído, estos medios pueden causar graves problemas en el funcionamiento del sistema, pues la posibilidad de precipitación de sales está más favorecida. Esta situación puede ocasionar la destrucción de la permeabilidad de la era, con la consiguiente formación de bolsas de mineral sin atacar. Así, se ha comprobado (143) que el medio 9K produce mayor cantidad de precipitados inorgánicos que un medio bajo en fosfato. Se ha sugerido (14) también que los fosfatos pueden inhibir la extracción del uranio, pero también es cierto que éstos son esenciales para la oxidación del Fe^{2+} (162).

A nivel industrial, las minas que utilizan la lixiviación bacteriana han evitado añadir nutrientes a las soluciones lixiviantes por temor a causar taponamientos en los montones debido a la formación de precipitados tipo jarosita (99). Esto obliga a disponer de materiales naturales que proporcionen los nutrientes necesarios para que la lixiviación en montón no se paralice.

Este estudio se amplió con ensayos en los que se utilizó como medios de lixiviación el agua de corta (agua de mina) y la mezcla refinado-agua de río (compuesta, parcialmente, por líquidos procedentes de la extracción con disolventes orgánicos de la instalación industrial); sin embargo, dada la elevada acidez de ambos medios y la ausencia casi total de lixiviación bacteriana lo que ocurría era la disolución química, casi instantánea, del uranio contenido.

Por tanto, parece que el mineral de FE es capaz de aportar los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano como se desprende del ensayo realizado con agua destilada. Esto viene a corroborar algo que ya se había comentado, es decir, que en las operaciones comerciales de lixiviación, los minerales proporcionan los nutrientes básicos esenciales para sustentar una adecuada actividad bacteriana (94).

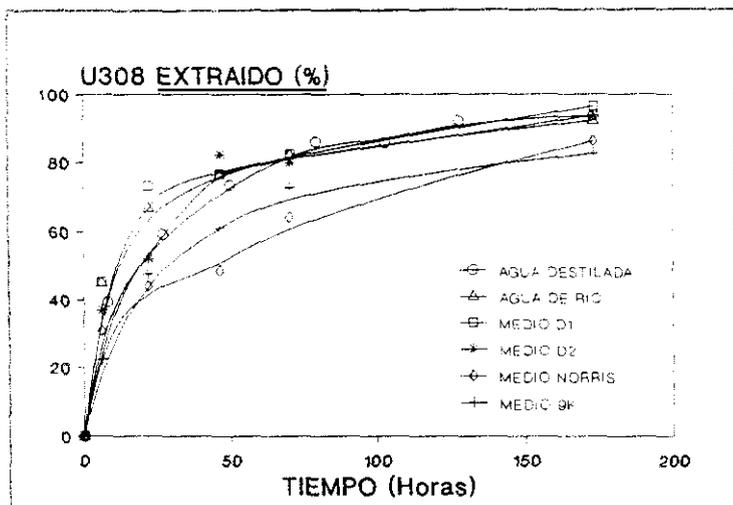


Figura 60. Influencia del medio nutriente: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados utilizando diferentes medios nutrientes (D.P.: 5% y 35°C).

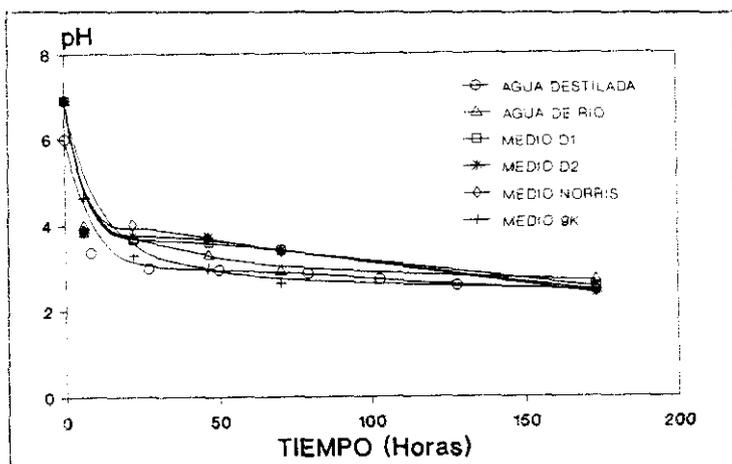


Figura 61. Influencia del medio nutriente: Evolución del pH para los distintos medios nutrientes ensayados.

Influencia de la concentración de ión ferroso

Como hemos visto, en el proceso de disolución del mineral es decisiva la presencia de hierro. El verdadero oxidante del uranio es el Fe^{3+} , el cual se genera microbiológicamente a partir de piritas y del Fe^{2+} en solución, por lo que, además de controlar el contenido de sulfuros de hierro del mineral, es preciso saber, también, la influencia del hierro contenido en las soluciones de partida, pues su presencia puede disminuir adicionalmente las necesidades de pirita en la materia prima. Así pues, la oxidación del hierro ferroso necesita optimizarse para lograr la máxima velocidad de extracción del uranio (50,154).

Las condiciones experimentales en esta serie de ensayos fueron las siguientes: mineral de $\text{Fe} < 180 \mu\text{m}$ con medio D2 a un 5% de densidad de pulpa, a 35°C e inoculados con 5 ml de cultivo natural. Finalmente, se utilizaron tres concentraciones de ión ferroso: 2, 5 y 10 g/L.

Se comprobó que aumentando la concentración de Fe^{2+} de 2 a 10 g/L no se obtiene una mejora en el rendimiento final del proceso. Incluso, respecto al ensayo sin Fe^{2+} , la mejora en el proceso de extracción del uranio (figura 62) resulta insignificante. Tan sólo en los primeros instantes, existió una aceleración del proceso que disminuyó pasadas las 50 horas. Esta evolución coincidió con una bajada brusca del pH (figura 63) que posteriormente volvió a subir.

Lo que ocurrió en el sistema puede explicarse de la siguiente manera: en los ensayos con Fe^{2+} , la actividad bacteriana, en los primeros instantes, estuvo altamente favorecida, lo que dio lugar a la formación de Fe^{3+} y a una disminución del pH; en estas condiciones, la cinética de disolución del mineral estuvo también favorecida. Sin embargo, esta actividad bacteriana produjo una gran cantidad de ión férrico que precipitó en parte como jarosita, como se desprende de la correspondiente disminución de la concentración de Fe total en solución (figura 64). Este hecho indujo el bloqueo de las partículas de mineral, el cual impidió el contacto con la solución lixivian-

te y paralizó el proceso de disolución del uranio. A partir de las 50 horas y hasta su finalización, en los tres ensayos con Fe^{2+} no se disolvió más uranio, lo cual coincidió con una subida del pH y con la precipitación del oxidante Fe^{3+} . Así pues, la adición de Fe^{2+} sólo aceleró el proceso de disolución del uranio a tiempos cortos, produciendo, en tiempos mayores, efectos adversos.

Estudios similares (74) han establecido que sólo se requieren pequeñas cantidades de hierro para lograr un efecto máximo sobre la solubilización del uranio. Así, si el mineral contiene suficiente hierro, la adición de sulfato ferroso tiene muy poca influencia. Además, en los ensayos en incubador hay agitación, frente a una situación estática del mineral en los procesos industriales; así, el aumento de la concentración de Fe^{2+} en las aguas de riego podría aumentar la posibilidad de formación y deposición de precipitados tipo jarositas que bloquearían las vías de percolación del líquido lixivante en el montón de mineral.

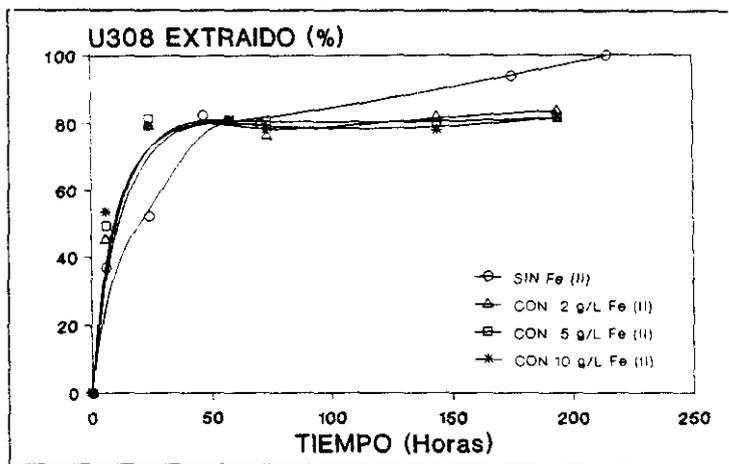


Figura 62. Influencia de la concentración de ión ferroso: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados sin adición de ión ferroso y con 2, 5 y 10 g/L de Fe^{2+} como sulfato ferroso (5% de densidad de pulpa y 35°C).

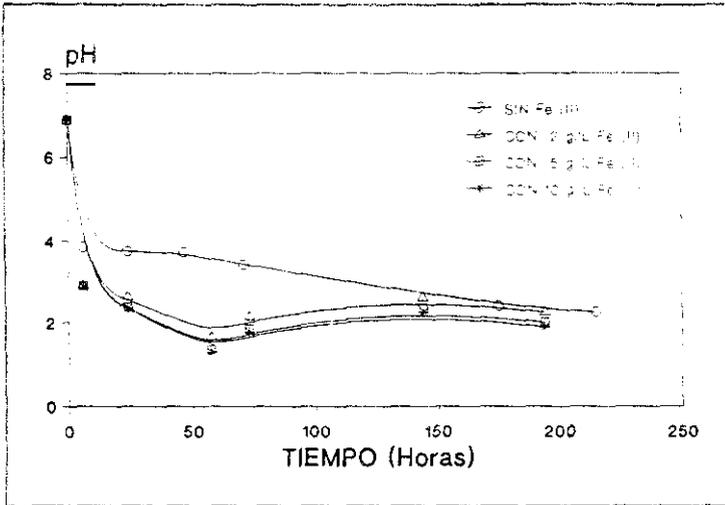


Figura 63. Influencia de la concentración de ión ferroso: Evolución del pH en función de la $[Fe^{2+}]$ inicial.

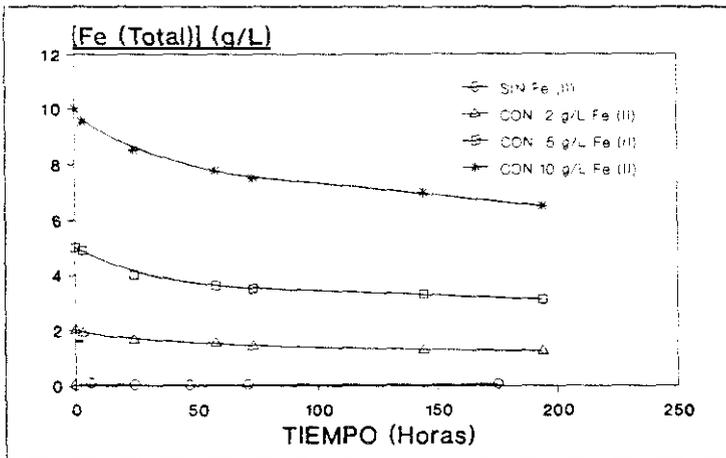
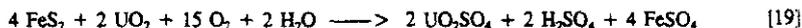


Figura 64. Influencia de la concentración de ión ferroso: Cantidad de hierro disuelto en función de la $[Fe^{2+}]$ inicial.

Influencia de la adición de pirita

El contenido de pirita en el mineral es decisivo puesto que de ella proviene el verdadero oxidante del uranio (Fe^{3+}).

En la lixiviación del uranio, la cantidad de pirita que debe oxidarse, para proporcionar el ácido y el oxidante necesarios para la solubilización del metal, es relativamente pequeña. Como ya se ha comentado, gran parte del uranio está presente como pechblenda, en cuyo caso la cantidad teórica de pirita requerida para solubilizar el uranio es solamente dos veces el porcentaje en moles del UO_2 presente, ya que la reacción global es:



Por lo tanto, la necesidad de pirita en exceso con relación a esta cantidad será debida al consumo de ácido y oxidante por la roca encajante.

Los ensayos realizados estuvieron encaminados a determinar el tipo de mineral más adecuado en función de su contenido en pirita. Anteriormente, se había discutido la posibilidad de mejorar el proceso de biolixiviación del mineral de uranio mediante la adición externa de este sulfuro. Se trataba por tanto de saber si el mineral era deficitario en pirita o si, por el contrario, aportaba a los microorganismos la cantidad necesaria de la misma. Con objeto de comprobar este extremo, se realizaron distintos ensayos utilizando el mineral de la mina FE al que se fue añadiendo diferentes cantidades de pirita procedente de Río Tinto Minera, S.A.

Se realizó, para ello, una nueva serie de experimentos en las condiciones ya reseñadas, es decir, densidad de pulpa del 5% a una temperatura de 35°C y utilizando como inóculo el

cultivo natural. Finalmente, los ensayos se diferenciaron entre sí por una mayor o menor adición de pirita: 1, 2, 3 ó 6% del mineral de uranio atacado.

De las cuatro posibilidades ensayadas tan sólo la adición de un 6% de pirita parece favorecer el proceso de disolución (figura 65). La explicación a este hecho se puede encontrar en la figura 66 en la que se observa un aumento de la cantidad de hierro disuelto al aumentar la cantidad de pirita en el medio. Esto fue así porque efectivamente hubo una mayor cantidad relativa del sulfuro pero esencialmente por una mayor actividad bacteriana, tal y como se desprende de las curvas de pH, que aunque indican una evolución parecida en todos los casos estudiados (figura 67), al inicio la presencia de pirita disminuye el pH como consecuencia de la

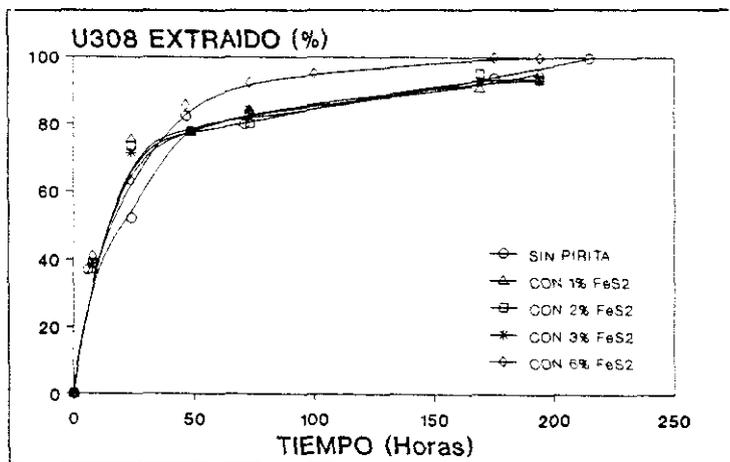


Figura 65. Influencia de la adición de pirita: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados sin adición y con 1, 2, 3 y 6% de FeS_2 como pirita de Río Tinto (5% de densidad de pulpa y $35^\circ C$).

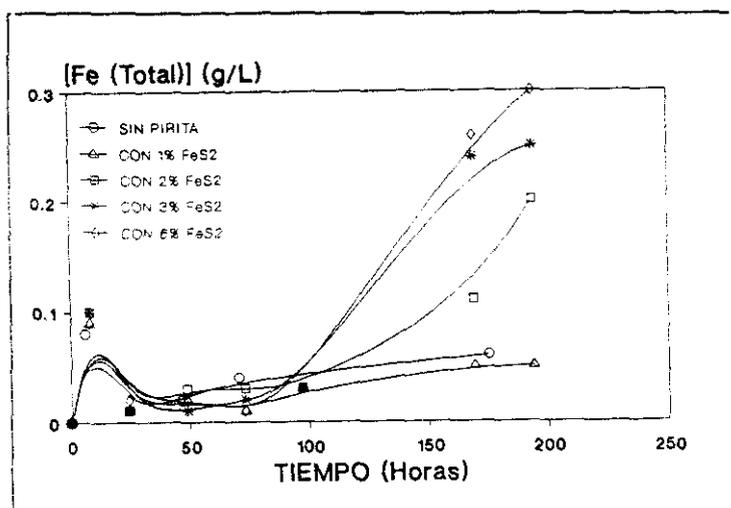


Figura 66. Influencia de la adición de pirita: Cantidad de hierro disuelto para las distintas adiciones de pirita.

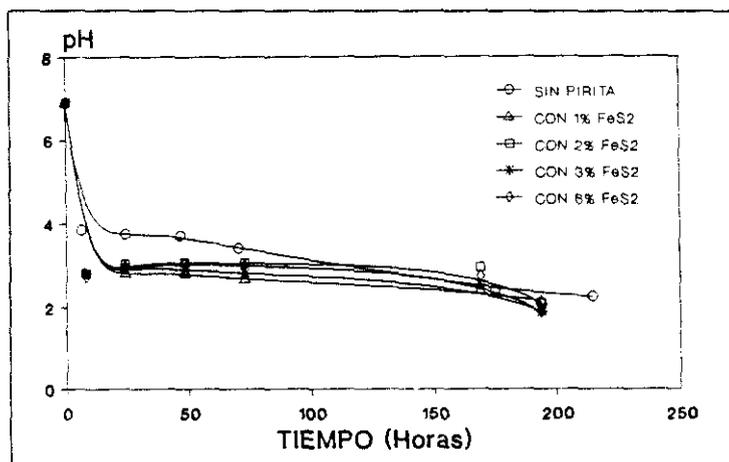


Figura 67. Influencia de la adición de pirita: Evolución del pH para las distintas adiciones de pirita.

formación de ácido sulfúrico de acuerdo con la ecuación [19]. Esto estaría apoyado por el hecho de que la disolución de la pirita se debe, principalmente, a la acción bacteriana, ya que en el proceso químico de lixiviación con ácido sulfúrico, la pirita es casi inerte [18].

Nuevamente aparece el mismo efecto que teníamos con el Fe^{2+} : el proceso de disolución del uranio, en los primeros instantes, está favorecido, aunque en menor proporción, por la adición de la de pirita. Sin embargo, contrariamente a aquéllos ensayos, éstos continúan disolviendo uranio después de transcurridas las 50 horas. Es decir, los microorganismos actúan sobre la pirita reponiendo la cantidad de Fe^{3+} en solución, cosa que no ocurría al utilizar ión ferroso.

En definitiva, la cantidad de pirita existente en el mineral de la mina FE, un 4%, parece suficiente para sustentar el proceso de lixiviación con microorganismos. Si bien, no hay que olvidar que, a diferencia de lo que ocurre en las operaciones industriales, la reducción de tamaño a la que se somete al mineral previamente a éstos ensayos agitados produce una liberalización muy importante de las partículas de pirita contenidas y por lo tanto su puesta a disposición de las bacterias en unas condiciones que no se tienen en la lixiviación en montones.

En sistemas estáticos, contrariamente a lo que ocurría con un aumento de la concentración de Fe^{2+} , una adición de pirita al mineral puede tener una influencia favorable en el rendimiento de extracción del uranio. Para ello hay tres motivos: porque actúa como fuente de energía para los microorganismos implicados, como materia prima para la producción de los medios lixiviantes requeridos en este tipo de procesos y, si el tamaño de partícula es el adecuado, favoreciendo la percolación del líquido lixivante.

Influencia del pH

Como ya se comentó, los iones hidrógeno juegan un papel importante en el mecanismo de obtención de energía del *T.ferrooxidans*, ya que la oxidación biológica del ión ferroso y de los sulfuros metálicos depende de los movimientos de protones y electrones en el microorganismo y entre este y el medio.

Las bacterias que toman parte en la lixiviación del uranio se desarrollan en medios con pH comprendido entre 1.5 y 3.0; por tanto, éste es un parámetro impuesto por ellas, con lo que es necesario determinar su valor más adecuado dentro del citado intervalo. En cualquier caso, no debe olvidarse que el pH tiene, además, una importancia grande desde el punto de vista de las reacciones químicas.

Las condiciones de experimentación fueron: densidad de pulpa del 5%, 35°C de temperatura, empleándose un cultivo natural y fijándose un intervalo de variación del pH entre 1.5 y 3.0 (1.5; 2.0; 2.5; y 3.0).

Adicionalmente, se pudo comprobar que existe una clara diferencia entre los ensayos en que se ajusta el pH y aquellos que se realizan dejando evolucionar libremente el mismo (figura 68). Mientras que en los primeros la curva de disolución del uranio es típicamente de naturaleza química y, por tanto, muy rápida, en los segundos, la curva evoluciona de una manera menos pronunciada de acuerdo con la participación del proceso microbiológico. Sin embargo, esto no significa en absoluto que trabajando a pH 1.5 no aparezcan especies microbianas que influyan en el proceso. Es más, necesariamente deben estar presentes, ya que, como se mencionó anteriormente, la pirita es prácticamente inerte en medio ácido y sólo la existencia de especies hierro-oxidantes (*T.ferrooxidans* ó *L.ferrooxidans*) podría explicar el ataque a minerales de uranio tetravalentes por la formación de Fe^{3+} a partir de la pirita. En este sentido, a pH 1.5, es más probable encontrar bacterias del tipo *Leptospirillum* que *T.ferrooxidans*, debido a su mayor tolerancia ácida (60).

Ahora bien, frente a la ventaja que supone obtener a pH bajo la misma extracción de uranio en un tiempo más corto, se contrapone un hecho de marcada naturaleza económica. Así, mientras el proceso a pH libre transcurre sin consumo externo de ácido, a pH ajustado se tiene un consumo que puede ser mayor o menor en función del propio pH de trabajo (figura 69). Ateniéndonos a esto y en función de los resultados obtenidos, el pH óptimo, que produjo un buen rendimiento final junto con un consumo bajo de ácido, fue el 2.5. Otros trabajos (94,151,163) han establecido el pH óptimo para la lixiviación del uranio a partir de pizarras en valores próximos a 1.8-2.0. En cualquier caso, se requiere que el pH se mantenga próximo a 2, no sólo para favorecer la actividad bacteriana, sino también para evitar la precipitación de sales de hierro.

En el proceso de disolución de los minerales de uranio existen dos efectos competitivos relacionados con el pH del medio. Por un lado, existen componentes en la ganga que consumen ácido; por otro, los microorganismos son capaces de atacar, directa o indirectamente, la pirita y el azufre elemental produciendo ácido sulfúrico. Si la cantidad de ácido producida es menor que la necesaria para disolver la ganga mineral, el U(VI) no se disolverá a menos que se añada ácido externamente. Además, se ha comprobado (70) que *T.ferrooxidans* es activo sólo después de la neutralización del carbonato.

Cuando la roca matriz tenga un comportamiento ácido, como es el caso del cuarzo, el consumo de ácido por la roca será bajo y de esta forma se favorecerá el proceso de disolución del uranio. No obstante, aunque la reactividad de la ganga, a excepción del caso de los carbonatos, es baja, se ha encontrado, que bajo ciertas condiciones, algunos minerales (filosilicatos, sulfuros, etc.) reaccionan con el líquido y se disuelven ligeramente durante la lixiviación, debiendo ser considerados como consumidores de ácido (41,101,162).

Por lo que hemos podido comprobar con la experimentación, la ganga del mineral de la mina FE tiene un comportamiento ácido y, además, el proceso de biolixiviación es capaz de sustentarse sin la adición de H_2SO_4 . Es decir, el consumo de ácido por el mineral, que redundará en los costes de operación, puede reducirse o, incluso, evitarse.

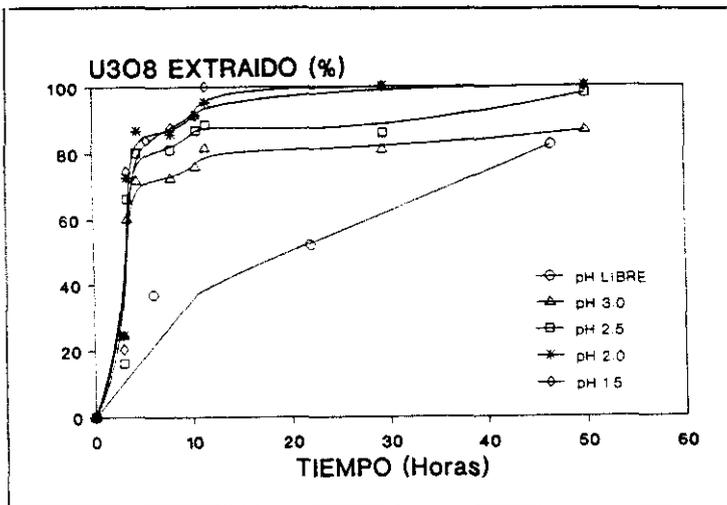


Figura 68. Influencia del pH: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados dejando evolucionar el pH del medio y ajustando el mismo (D.P.: 5% y $35^\circ C$).

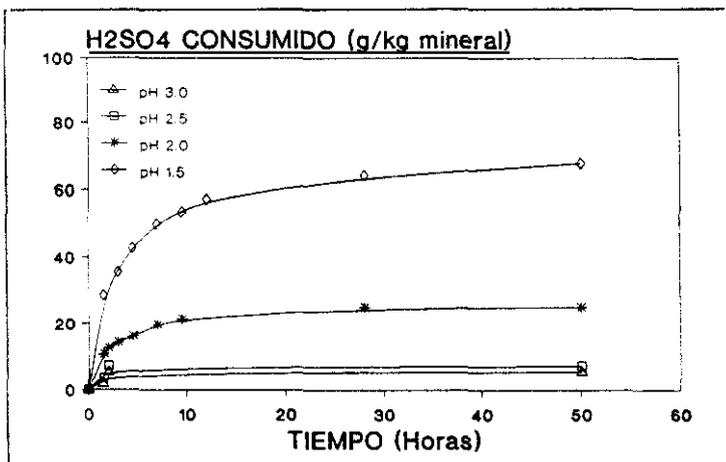


Figura 69. Influencia del pH: Consumo de ácido sulfúrico en función del pH de trabajo.

Influencia de la temperatura

Esta variable es decisiva en los procesos en los que intervienen seres vivos. La temperatura puede afectarles de muy distinta manera dependiendo de ellos mismos y de los niveles térmicos alcanzados.

Cuando aumenta la temperatura, hay dos efectos competitivos:

- * Las reacciones químicas y enzimáticas se producen a mayor velocidad y el crecimiento se acelera (activación).
- * Las proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares pueden quedar inactivados irreversiblemente (desnaturalización).

Cuando la temperatura disminuye:

- * Las células bacterianas pueden sufrir cambios físicos; por ejemplo, los ácidos grasos de la membrana citoplasmática son fluidos o semi-fluidos entre 15 y 23°C. En este estado, el oxígeno y otros nutrientes pueden cruzar libremente dicha membrana. Sin embargo, cuando la temperatura disminuye, los ácidos grasos llegan a ser más viscosos, aumentando su rigidez la membrana citoplasmática, en cuyo caso se reduce la permeabilidad con respecto al paso de nutrientes celulares y gases (99).
- * Si la biolixiviación del uranio se efectúa a una temperatura entre 0 y 5°C, o ligeramente superiores, se requiere un cultivo psicrófilo de *T.ferrooxidans*.

Así, es obvio que en la biolixiviación de cualquier sustrato mineral, la temperatura ha de ser la adecuada para el óptimo desarrollo de los microorganismos. Por ello, dentro del intervalo de temperaturas en que los microorganismos pueden desarrollarse [bajas (0-30°C) para los microorganismos **psicrófilos**, moderadas (5-43°C) para los **mesófilos** y altas (25-90°C) para los **termófilos**] es necesario estudiar aquellos valores en torno a los cuales la cinética del proceso

está más favorecida. Debido a esto, se efectuaron seis ensayos a 15, 25, 30, 35, 40 y 45°C, con el mineral de la mina FE y en las condiciones citadas con anterioridad, es decir, con medio D2 a un 5% de densidad de pulpa y utilizando como inóculo un cultivo natural.

En la figura 70 se han representado los resultados obtenidos a las distintas temperaturas. Se observa que el proceso de disolución del uranio, con el cultivo natural, estuvo más favorecido cuando se trabajó a 35 ó 40°C, con un comportamiento muy parecido, que cuando se trabajó a las otras temperaturas. Es decir, al aumentar la temperatura, la cantidad de uranio disuelto fue mayor, si bien la eficacia del cultivo natural disminuyó a 45°C. Las curvas de disolución del uranio siguen la misma evolución a lo largo del tiempo, aumentando la velocidad de extracción del U_3O_8 al aumentar la temperatura de 15 a 40°C.

De acuerdo a Stephens y MacDonald (164), la disolución química del uranio se mejora cuando la temperatura aumenta y eso parece comprobarse trabajando a 45°C. Sin embargo, a las temperaturas ensayadas y en presencia de microorganismos, se comprobó que la componente biológica tuvo una mayor participación en la recuperación del uranio, ya fuera directa o indirectamente.

La evolución del pH confirmó una baja actividad bacteriana, y, por consiguiente, una baja producción de ácido sulfúrico, a 15°C (figura 71), en contraste con lo que ocurrió a 30°C en donde se produjo una mayor cantidad de ácido debido a una mayor actividad bacteriana.

Estos resultados están de acuerdo con los datos bibliográficos (151,165), que indican que si bien la temperatura óptima para el crecimiento del *Thiobacillus ferrooxidans* (la especie preponderante en el cultivo utilizado) es aproximadamente de 28°C, la temperatura óptima para el proceso de oxidación bioquímica es de 35°C, mientras que a temperaturas superiores a 40°C la oxidación bacteriana comienza a disminuir (94).

En operaciones industriales, la temperatura en el interior del montón puede alcanzar los 50°C (68,162) o, incluso, temperaturas superiores (69). La fuente energética es la oxidación biológica y química del mineral. Sin embargo, ese calor generado no puede regularse y, en consecuencia, un excesivo aumento de la temperatura, obviamente, paralizará parte de la actividad bacteriana, aunque igualmente acelerará las reacciones químicas. Así pues, la temperatura del lecho, debida a éstas reacciones exotérmicas, puede ser un factor controlante en algunas operaciones comerciales. Las fluctuaciones de temperatura en una era, como resultado de los cambios de estación, pueden dar lugar a cambios en la población microbiana correspondiente, favoreciendo el desarrollo de las bacterias mesófilas o termófilas según el caso (87). En Francia, por ejemplo, después de diez años de investigación en el campo de la biolixiviación, se ha abandonado toda esperanza de aplicación debido a que la temperatura media del país era demasiado baja (95). Sin embargo, la decisión adoptada en Francia puede parecer un poco drástica sobre todo cuando países con temperaturas más bajas, como puede ser el caso de Canadá y Hungría, están aplicando la lixiviación bacteriana con éxito (105,106). Además, como el cuerpo de mineral es poco conductor, la pérdida de calor es pequeña; de esta forma, la temperatura en el interior de un montón es independiente de la temperatura externa, lo que permite trabajar a éstos sistemas en continuo, incluso durante los meses de invierno (106).

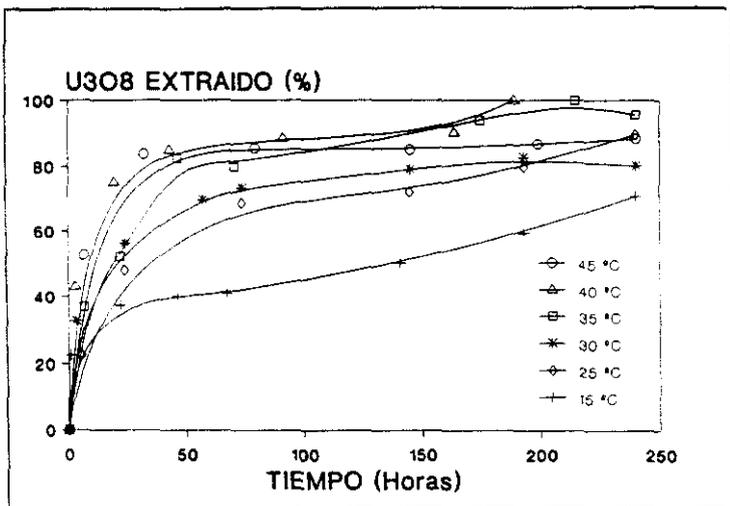


Figura 70. Influencia de la temperatura: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados a las temperaturas de 15, 25, 30, 35, 40 y 45 °C (D.P.: 5%).

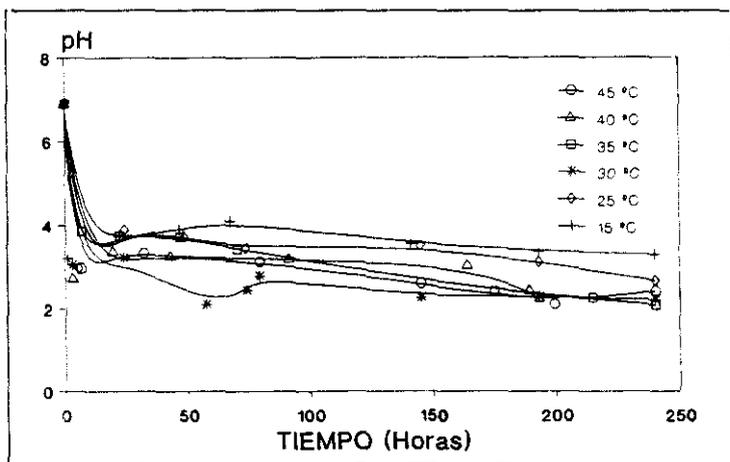


Figura 71. Influencia de la temperatura: Evolución del pH para las distintas temperaturas de trabajo.

5.1.2. Ensayos en columnas

Como se ha comentado, la lixiviación estática en columnas, con o sin recirculación del líquido lixivante, simula la lixiviación en montón o en escombrera. Así pues, los resultados obtenidos en éstas condiciones serán extrapolables, con alguna corrección, a los que se den en la situación real.

El estudio realizado en incubador con el cultivo natural puso de manifiesto las características del proceso de lixiviación del mineral de uranio de la mina FE, al ensayar diferentes condiciones que pueden influir en el proceso a nivel industrial. Sin embargo, no debemos olvidar que, lejos de la situación ideal, el patrón de crecimiento bacteriano en un montón es cambiante y puede variar ampliamente de unas zonas a otras del mismo.

Junto a esto, la forma de operar en un ensayo dinámico dista mucho del modo como se hace en la lixiviación estática. Surgen así los ensayos en columnas que, además de establecer un paralelismo con la situación industrial, ofrecen la posibilidad de comprobar la aplicabilidad de los resultados obtenidos en ensayos dinámicos.

Evidentemente, al considerar este nuevo método de trabajo, muy diferente al que utilizamos anteriormente (distinta relación sólido-líquido, distinto tamaño de partícula, etc.), variables que en los ensayos dinámicos no tenían influencia son importantes en éste caso. En este sentido, una propiedad importante de la roca matriz es su **permeabilidad**, la cual determina la velocidad a la que las soluciones pueden percolar a través del mineral y la velocidad de difusión del aire cuando el mineral no está inundado. Hay que tener presente que una permeabilidad deficiente puede ser el resultado de los métodos de construcción de la era o de la degradación del mineral durante su ataque o más exactamente de ambos a la vez. Así, el estudio realizado en

columnas debe considerar necesariamente los aspectos relacionados con una buena percolación del líquido lixivante a través del mineral.

En cuanto a la **forma de riego**, al considerar las dos posibilidades de trabajo: continuo o discontinuo, existen diferentes tendencias. Sin embargo, se cree que un riego discontinuo favorece la disolución del uranio. En este método, la solución de ataque se bombea intermitentemente a la superficie de la era y se deja percolar antes de volver a regar. Esto conduce a un efecto de capilaridad inverso que permite la lixiviación de los minerales de tamaño grueso. Durante el riego, las fuerzas de capilaridad arrastran al líquido lixivante dentro de la masa mineral. Cuando cesa el riego, el líquido escurre del capilar y permanece en la superficie exterior. Con un nuevo riego, se arrastra el uranio disuelto y comienza nuevamente el proceso con la introducción de más líquido fresco en el capilar. Así, el riego discontinuo puede ser más efectivo para minerales gruesos que el continuo, debido a que el escurrido y secado de los capilares será considerablemente más rápido que la simple difusión iónica a través de un capilar estático lleno de fluido. Por tanto, la alternancia de períodos de regado y secado ayuda a lixiviar partículas gruesas y a eliminar de su superficie sales solubles, además de aumentar la difusión de oxígeno y dióxido de carbono a la superficie mineral, lugar en donde se localizan muchas de las bacterias activas. Este hecho nos decidió a utilizar un riego discontinuo en todos los ensayos en columnas, de tal forma que, además de simular la práctica industrial, se está favoreciendo el crecimiento bacteriano al permitir el desarrollo de los microorganismos en un medio con la humedad adecuada y al impedir que se produzca el arrastre de los mismos. Obviamente la frecuencia entre riego y riego debe ser también considerada. Diverson estudios realizados (152) han demostrado que la frecuencia de riego de mineral, en presencia de bacterias, está más favorecida cuando se riega diariamente que si se hace semanalmente.

A nivel industrial, la amplitud de éstos períodos (ciclos de riego) viene determinada por la velocidad de evaporación y por la concentración de uranio en la fase líquida de salida (50). Cuando éstos factores llegan a ser críticos, se debe volver a regar la era. En época de buen tiempo hay evaporación y, en cualquier estación, hay posibilidad de filtración a través del lecho. Zortman (166) establece que cerca del 5 al 10% de la solución añadida por medio de aspersores se pierde por evaporación. Para reducir éstas pérdidas se ha propuesto distribuir la solución mediante goteo; sin embargo, este sistema es más costoso que el de los aspersores. Por consiguiente, en los ensayos en columnas, será interesante conocer el tiempo durante el que es posible mantener unas condiciones medioambientales idóneas sin tener que volver a regar.

Por su parte, la velocidad de riego debe elegirse en función de la permeabilidad del mineral. Una velocidad demasiado alta aumenta el nivel de agua y previene la aireación, con el peligro añadido de que se desborde por los laterales del montón. Las pilas industriales operan en el intervalo de $40\text{-}60\text{ cm}^3\cdot\text{semana}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ (95). Cordero y col. (167) encontraron que alterando la velocidad de percolación de $34\text{ cm}^3\cdot\text{semana}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ a $340\text{ cm}^3\cdot\text{semana}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$, la extracción de uranio sólo aumentó del 55.7% al 59%.

A nivel de laboratorio hay dos métodos de alimentar la solución de riego. En un caso, el lixivante se añade a la columna a la misma velocidad que en una era, lo que produce soluciones pobres cuando la columna de laboratorio es significativamente más corta que el montón (146). En el otro, la solución se añade a la columna en base al peso de mineral dentro de la misma. Esto produce soluciones comparables a las de la explotación comercial. Así pues, el segundo método es preferido porque produce excelentes correlaciones entre extracciones y volúmenes de solución usados por peso de mineral durante un período de tiempo dado.

Otro aspecto importante en la biolixiviación estática es la presencia de pirita, ya que determina la eficacia del ataque de los minerales de uranio tetravalentes. De manera que además de estar en cantidad suficiente debe encontrarse liberada para que sea susceptible al ataque bacteriano. En definitiva, será muy importante establecer el grado de trituración óptimo del mineral para el cual se producen las condiciones oxidantes necesarias para alcanzar los rendimientos de extracción de uranio máximos.

Planificación de los ensayos

En los ensayos estáticos con mineral, trabajando con cultivos naturales, se emplearon columnas de tres dimensiones diferentes (Tabla VIII). Las condiciones de operación en cada uno de los ensayos están reflejadas en las Tablas XV, XVI y XVII.

Tabla XV. Condiciones de operación en los diferentes ensayos de biolixiviación en columnas de vidrio: a) en relación al sólido; y b) en relación al líquido.

a)

ENSAYO	CANTIDAD DE MINERAL (kg)	L/S ^(a) (L/kg)	T.P. ^(b) (cm)	D _{int.} /T.P. ^(c)	PIRITA ^(d) AÑADIDA (%)
V-1	1	2.0	<0.6	8.3	-
V-2	1	2.0	<0.6	8.3	-
V-3	1	2.0	<0.6	8.3	-
V-4	1	2.0	<0.6	8.3	-
V-5	3	0.67	<0.6	11.6	1
V-6	3	0.67	<1.5	4.7	1
V-7	3	0.67	<0.6	11.6	1
V-8	3	0.67	<0.6	11.6	1
V-9	3	0.67	<1.5	4.3	-
V-10	3	0.67	<1.5	4.3	-

^(a) Relación cantidad de líquido de riego a cantidad de sólido.

^(b) Tamaño de partícula del mineral.

^(c) Relación diámetro interno de la columna a tamaño de partícula del mineral.

^(d) Pirita de Río Tinto con un tamaño de partícula <180 μ m.

b)

ENSAYO	CAUDAL (L/h)	FRECUENCIA RIEGO (h/d)	TIPO DE CULTIVO	INOCULO (L)	LIQUIDO DE RIEGO
V-1	0.10	6	Ninguno	-	ENUSA(pH=1.3)
V-2	0.10	6	Natural	0.1	ENUSA(pH=1.3)
V-3	0.30	2	Natural	0.1	ENUSA(pH=1.3)
V-4	0.10	6	Natural	0.1	ENUSA(pH=1.3)
V-5	0.45	4	Ninguno	-	D2 (pH=7.3)
V-6	0.45	4	Natural	0.2	D2 (pH=7.3)
V-7	0.45	4	Natural	0.2	D2 (pH=7.3)
V-8	0.45	1	Natural	0.2	D2 (pH=7.3)
V-9	0.45	4	Natural	0.2	D2 (pH=7.3)
V-10	0.12	4	Natural	0.2	D2 (pH=7.3)

Tabla XVI. Condiciones de operación en los diferentes ensayos de biolixiviación en columnas de metacrilato: a) en relación al sólido; y b) en relación al líquido.

a)

ENSAYO	CANTIDAD DE MINERAL (kg)	L/S ^(b) (L/kg)	T.P (cm) ^(c)	D _{int.} /T.P. ^(d)	PIRITA ^(e) AÑADIDA (%)
MET-1	20	0.5	<3	4.8	-
MET-2	20	0.5	<3	4.8	-
MET-3	20	-	<3	4.8	-
MET-4	20	0.5	<3	4.8	3
MET-5	30	0.67	<5	3.9	-
MET-6	30	0.67	<5	3.9	-

^(b) Relación cantidad de líquido riego a cantidad de sólido.

^(c) Tamaño de partícula del mineral.

^(d) Relación diámetro interno de la columna a tamaño de partícula del mineral.

^(e) Pirita de Río Tinto con un tamaño de partícula <0.5 cm.

b)

ENSAYO	CAUDAL (L/h)	FRECUENCIA RIEGO (h/d)	TIPO DE CULTIVO	INOCULO (L)	MODO DE RIEGO ^(f)
MET-1	1.1	6	Natural	1	Recirculando
MET-2	0.3	6	Natural	1	Recirculando
MET-3	0.3	2	Natural	1	Sin recircular
MET-4	1.1	6	Natural	1	Recirculando
MET-5	1.7	4	Natural	2	Recirculando
MET-6	1.7	4	Ninguno	-	Recirculando

^(f) En todos los casos se empleó como líquido de riego el medio D2 de pH=7.3.

Tabla XVII. Condiciones de operación en los diferentes ensayos de biodegradación en columnas de PVC.

ENSAYO (COLUMNA)	CANTIDAD DE MINERAL (kg)	TIPO DE CULTIVO	INOCULO (l)	TIPO DE RIEGO	AIREACION	PIRITA AÑADIDA (%)
PVC-1 (I)	136	Natural	2,5	D2 (pH=7,5)	S ^{int}	-
PVC-2 (I)	137	Natural	2,5	D2 (pH=7,5)	S ^{int}	5,300
PVC-3 (I)	149	Ninguno	-	D2 (pH=7,5) ¹⁰	S ^{int}	-
PVC-4 (I)	145	Ninguno	-	D2 (pH=7,5) ¹⁰	No	-
PVC-5 (I)	155	Ninguno	-	ENSUSA (pH=2,0)	No	-
PVC-6 (I)	139	Natural	2,5	D2 (pH=7,5)	No	-
PVC-7 (II)	150	Ninguno	-	D2 (pH=7,5)	No	-
PVC-8 (II)	150	Ninguno	-	ENSUSA (pH=2,0)	No	-
PVC-9 (II)	150	Natural	2,3 ¹⁰	D2 (pH=7,5)	No	-
PVC-10 (II)	150	T.f.	2,3 ¹⁰	D2 (pH=7,5)	No	-
PVC-11 (II)	150	T.f.+T.tb.	2,3 ¹⁰	D2 (pH=7,5)	No	-
PVC-12 (II)	150	T.f.+T.tb.+L.f.	2,3 ¹⁰	D2 (pH=7,5)	No	-

¹⁰ A los 75 días se efectuó una segunda inoculación con 2 L de cultivo por columna.

¹¹ Con la adición de alcohol (1%) durante los primeros 15 días.

¹² A una presión de 0,3 kg/cm² durante 24 h/d.

¹³ Pirita de Río Tinto con un tamaño de partícula <0,5 cm.

Columnas de vidrio

Los primeros ensayos en columna se realizaron en condiciones similares a las utilizadas en la explotación de Ciudad Rodrigo. Para ello, se empleó como líquido de riego una mezcla compuesta por agua de río y un refinado (procedente de la planta de extracción con disolventes orgánicos), con un pH próximo a 1.3.

Se pudo comprobar que dada la elevada acidez de la solución de riego, la modificación de las distintas variables no afectaba al proceso de disolución del uranio, ya que se produjo, fundamentalmente, una disolución química del mineral. En la figura 72 se recogen los resultados correspondientes a los distintos ensayos realizados. Así, cuando se estudiaron variables como: la *actividad bacteriana*, al considerar un ensayo inoculado (V-2) y otro sin inocular (V-1); la *frecuencia de riego*, al variar ésta de 6 h/d (V-2) a 2 h/d (V-3) manteniendo, en ambos casos, un caudal final de 0.60 L/d; ó la *adición de pirita* al considerar la adición de un 1% (V-4) frente a un ensayo sin pirita (V-2), no se observaron claras diferencias en cuanto a la extracción de uranio.

En todos ellos, se tuvo una disolución inicial del uranio muy rápida, alcanzándose recuperaciones del 60% en los primeros cinco días; a partir de entonces y hasta la conclusión de los experimentos, se produjo una disolución menos pronunciada, con una extracción final del 80-90% de U_3O_8 después de algo más de 20 días de experimentación. Así pues, puede decirse que, a este pH, se tuvo, principalmente, una disolución química del uranio contenido en el mineral y la adición de un cultivo bacteriano aceleró sólo ligeramente la cinética del proceso.

En estos casos, dado que el líquido de riego de entrada contenía hierro en solución (figura 73), en su mayor parte como hierro férrico, la actuación bacteriana no fue necesaria, tal y como se confirma con el estudio de las curvas de evolución del pH (figura 74). Además, es probable que se haya producido un efecto adverso de las aminas recicladas de la etapa de extracción con disolventes sobre las bacterias hierro-oxidantes, ya que, según estudios realizados al respecto (100), las aminas terciarias inhiben la actividad bacteriana al disminuir la velocidad de oxidación del hierro.

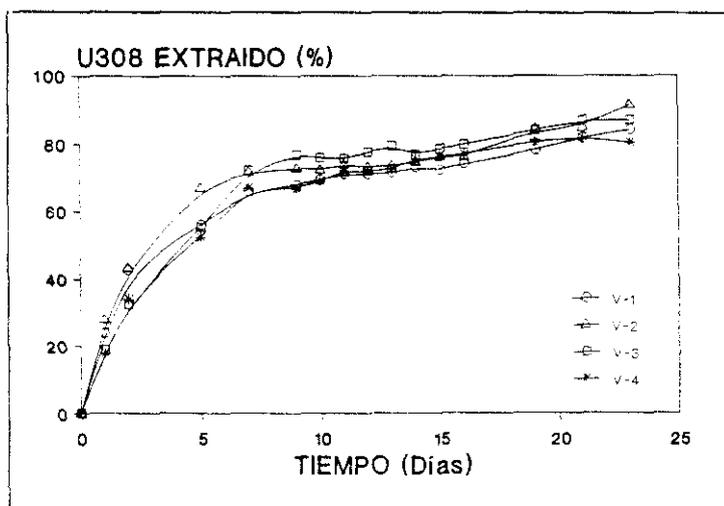


Figura 72. Comparación del % de U_3O_8 disuelto al variar distintas condiciones del proceso (Tabla XV). Utilizando en todos los ensayos la mezcla compuesta por agua de río y un refinado de $pH=1.3$ y mineral de $FE < 6 \text{ mm}$.

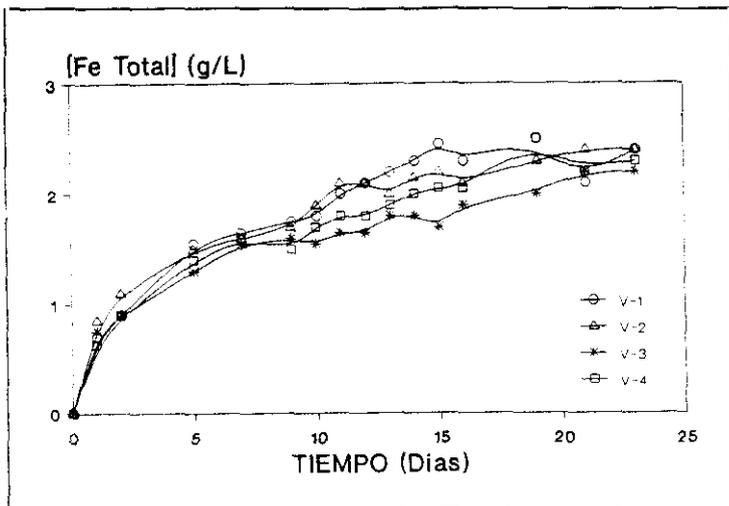


Figura 73. Cantidad de hierro disuelto en los ensayos representados en la figura 72.

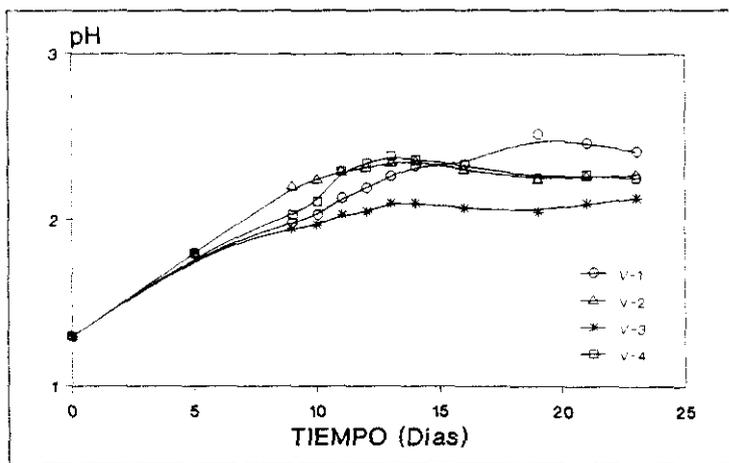


Figura 74. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 72.

De acuerdo con estos resultados y debido a la necesidad de evaluar el proceso microbiológico en toda su extensión, se realizó una segunda serie de experimentos (V-5 a V-10) en los que se utilizó como líquido de riego un medio nutriente muy diluido en sales minerales (medio D2) con un pH neutro.

VARIABLES como la *actividad bacteriana*, al comparar los ensayos inoculado (V-7) y no inoculado (V-5), o la *frecuencia de riego* (4 h/d para V-7 y 1 h/d para V-8, con un caudal de 0.45 L/h), establecieron claras diferencias en el proceso de disolución (figura 75). No obstante, la cantidad de uranio solubilizada no fue muy importante como resultado de una pobre producción de hierro en solución (figura 76) y, por consiguiente, de una baja actividad bacteriana, como se desprende de la evolución del pH en éstos ensayos (figura 77).

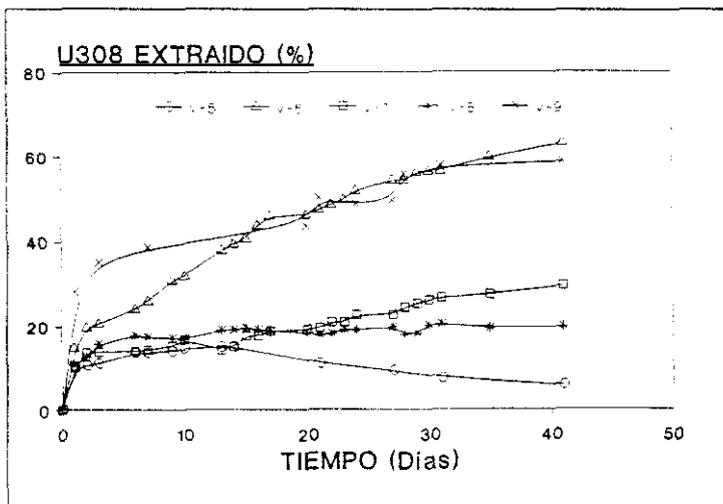


Figura 75. Comparación del % de U_3O_8 disuelto al variar distintas condiciones del proceso (Tabla XV). Utilizando en todos los ensayos el medio D2 de pH=7.3 y un caudal de riego de 0.45 L/h.

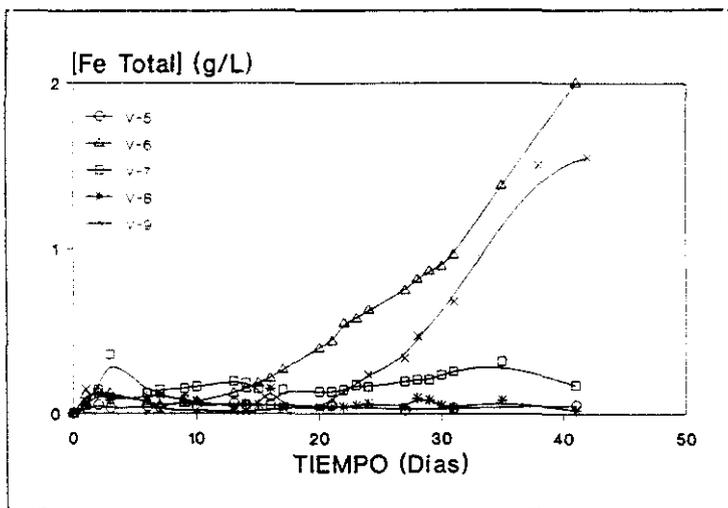


Figura 76. Cantidad de hierro disuelto en los ensayos representados en la figura 75.

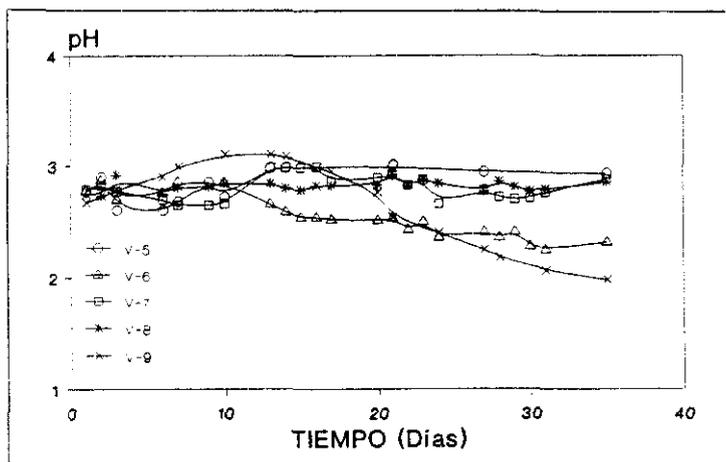


Figura 77. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 75.

En los tres casos apuntados pudimos observar un comportamiento muy parecido al considerar los primeros quince días. Se obtuvo un porcentaje de recuperación de uranio del 10% a los dos días de iniciados los experimentos, que se correspondía con la disolución química del uranio hexavalente; las condiciones ácidas, aún partiendo de un lixivante de pH neutro, fueron suficientes para lograr dicha solubilización. Pasada la etapa de cinética rápida, se produjo un estancamiento en el proceso de disolución del uranio, hasta los 15 días anteriormente referidos, que estaría relacionado con un período de inducción en los ensayos inoculados. Después de este tiempo, aparecieron diferencias entre los distintos ensayos, asociadas con el comienzo de la actividad bacteriana lo que favoreció la disolución de la pirita y la subsiguiente solubilización del uranio tetravalente. La tendencia del ensayo no inoculado a disminuir el contenido de U_3O_8 con el tiempo, se debió a la deposición, en la columna, del uranio en solución; recordemos que todos estos ensayos se realizaron con recirculación del líquido lixivante. A esta precipitación del uranio contribuyeron las condiciones débilmente ácidas del ensayo.

En los ensayos anteriormente comentados se produjeron problemas asociados a una percolación muy lenta, con la consiguiente inundación del mineral (obsérvese la columna 2 en la figura 45). Esta situación, obviamente, afectó a la actividad bacteriana, lo que condujo a variar la relación diámetro interno de columna/tamaño de partícula. Se encontró que una relación próxima a 5 (V-6) está más favorecida que una cercana a 12 (V-7), tal y como aparece reflejado en los resultados de la figura 75. Cuando dicha relación se redujo a 5, el proceso de disolución se aceleró notablemente, como consecuencia de una mayor cantidad de hierro en solución (probablemente como hierro férrico) y de una mayor actividad bacteriana (disminución del pH) (figuras 76 y 77). De manera que cuando el uranio hexavalente se hubo disuelto, inmediatamente después se inició la disolución del uranio tetravalente. Esto demuestra que los factores de diseño de una pila de mineral (sobre todo en lo que a tamaño de partícula se refiere) pueden afectar notablemente al proceso de biolixiviación.

En situaciones industriales, la mayoría de las veces no se toman precauciones especiales en la preparación de la pila de mineral; sin embargo, se debería prestar más atención a la forma de apilar el mineral. El mineral debe quedar lo más suelto posible, utilizando en la carga de las eras sistemas que no la compriman, puesto que así se evita, en gran medida, la segregación de los tamaños gruesos. Cameron (95) refiere que los montones portugueses se construían a mano y que se le incorporaban sistemas de drenaje que, aunque rudimentarios, favorecían la percolación; mientras, en Rum Jungle (Australia), se utilizó la ayuda de camiones, que circulaban al azar, reduciendo a finos los 2 m superiores del montón. Evidentemente, estas dos situaciones extremas no son las más adecuadas y, por tanto, habrá que ir a una solución que aporte una buena consolidación del montón y que evite, al mismo tiempo, una compactación excesiva del mineral. En la instalación de Ciudad Rodrigo, este problema se ha tratado de evitar mediante el arado con un rejón profundo (51). Otras técnicas han utilizado (98,166) desde el uso de explosivos, para aflojar el mineral, hasta la inyección de soluciones a través de tubos interiores perforados o el empleo de mineral aglomerado.

Nuevamente se volvió a estudiar la influencia de la adición de pirita al medio (figura 75). Se encontró que con un 1% de pirita añadida (V-6) no se obtenía mejora alguna en el proceso de disolución del uranio con respecto al ensayo sin pirita (V-9), es decir, el comportamiento fue similar al que se tuvo cuando se empleó como líquido de riego la mezcla de agua de río y refinado. Así, la evolución de las curvas de extracción de hierro (figura 76) y las de pH (figura 77) fueron similares en ambos casos. Por consiguiente, se puede decir que el tamaño de partícula ensayado fue capaz de liberar las partículas de pirita contenidas en el mineral de FE susceptibles del ataque bacteriano, siendo innecesaria la adición externa de pirita.

Finalmente, se estudió la influencia que tiene el caudal de riego en el proceso de disolución del uranio (figura 78). Se observó que la cinética de disolución del uranio estuvo más favorecida cuando se empleó un caudal de 0.45 L/h (V-9) que cuando se utilizó otro de 0.12 L/h (V-10). Pese a todo, la cantidad de hierro en solución (figura 79) y la evolución del pH (figura 80) no marcaron diferencias apreciables. Esto podría estar indicando que, cuando se empleó un caudal bajo, la capacidad de solubilizar el uranio tetravalente, disuelto por la acción bacteriana, fue insuficiente en contraste con la obtenida cuando se utilizó una velocidad de riego mayor. Precisamente, las diferencias entre ambos ensayos comenzaron a manifestarse una vez que el uranio hexavalente se hubo disuelto (después de los primeros cinco días). A los 30 días, la cantidad de U_3O_8 extraído fue un 10% superior en el ensayo V-9 (con un máximo del 60%); a partir de ese instante, el sistema no disolvió más uranio pese a seguir aumentando la concentración de hierro en solución, probablemente como consecuencia de la inaccesibilidad de la solución de ataque al mineral o por bloqueo de su superficie por compuestos de reacción insolubles.

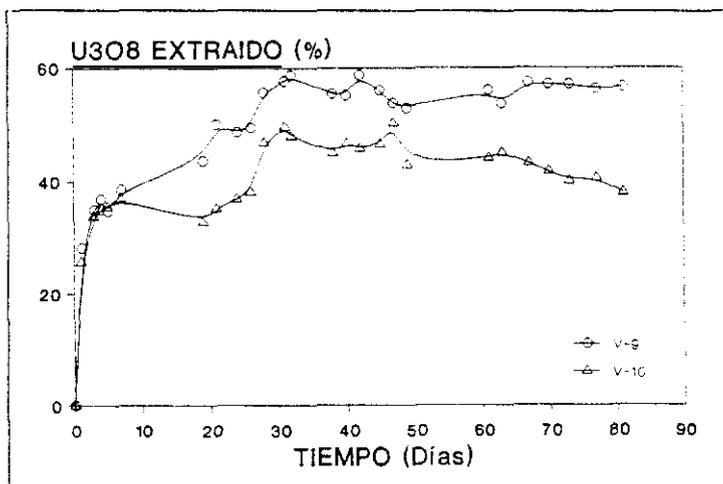


Figura 78. Comparación del % de U_3O_8 disuelto al variar el caudal de riego de 0.45 L/h (V-9) a 0.12 L/h (V-10), utilizando como líquido de riego el medio D2 de pH=7.3 y regando 4 h/d.

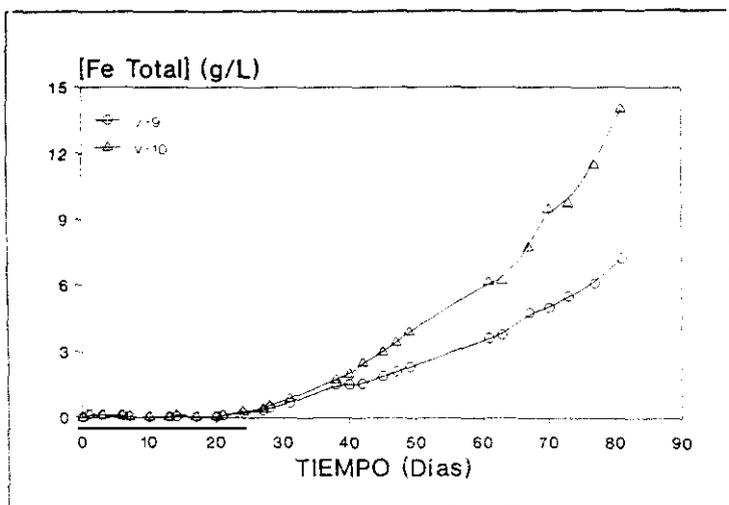


Figura 79. Cantidad de hierro disuelto en los ensayos representados en la figura 78.

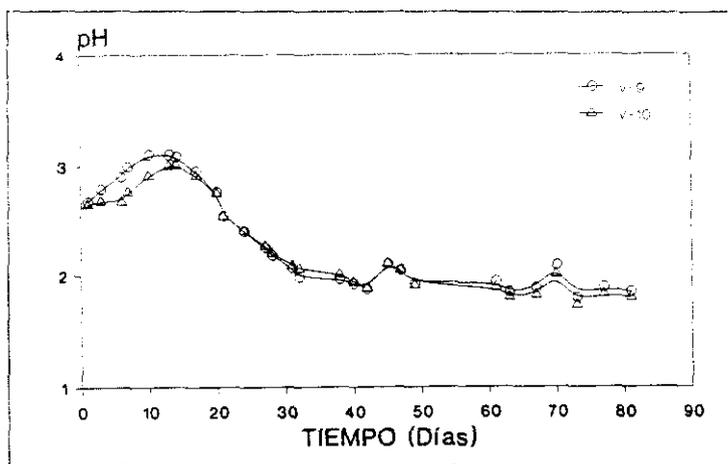


Figura 80. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 78.

Columnas de metacrilato

En los ensayos en columnas de vidrio habíamos visto que una de las variables que más influye en la experimentación es la relación diámetro interno de columna/tamaño de partícula del mineral. Por lo tanto, se continuó utilizando una relación similar (próxima a 5).

En éste caso, se empleó un mineral alterado que posea un 5% de humedad. Como ya se comentó, una de las formas de mejorar la percolación del líquido es mediante la utilización de mineral aglomerado. De esta forma, el mineral resultante tiene una permeabilidad mayor que el mineral crudo y las soluciones percolan más uniformemente, es decir, el beneficio que se obtiene con la aglomeración es que se utiliza un mineral fino que, de otra forma, causaría graves problemas en el sistema. Así, con minerales que tenían finos y bastantes carbonatos, se comprobó (140) que una aglomeración previa de finos y gruesos, con un 10% de agua, daba un lecho uniforme de mineral. En función de esto y de la propia humedad detectada en este mineral, en nuestro caso se observó una cierta aglomeración.

Las condiciones estudiadas en éstos ensayos -caudal de riego (*caudal*) (1.14 L/h en MET-1 y 0.27 L/h en MET-2) y *adición de pirita* (1% de FeS₂ en MET-4 frente a no adición de pirita en MET-1)- no mostraron diferencias en relación al rendimiento final de extracción. Estos experimentos revelaron un comportamiento muy parecido en la extracción de uranio (figura 81): muy rápida en los primeros instantes (se alcanzan recuperaciones del 60-70% en algo menos de 15 días), a partir de los cuales se tuvo una disolución lenta. Si bien, inicialmente (primeros 20-30 días), se observa una mayor velocidad de disolución en el sistema en el que se riega con menor caudal (MET-2) y con adición de pirita (MET-4).

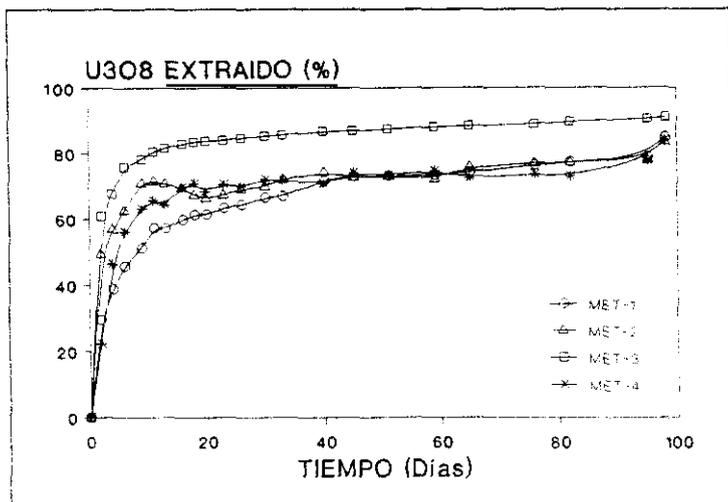


Figura 81. Comparación del % de U_3O_8 disuelto al variar distintas condiciones del proceso (Tabla XVI). Se utilizó en todos los ensayos el medio D2 de pH 7.3, como líquido de riego y mineral de FE < 3 cm.

En cualquier caso, en estos ensayos con recirculación, parte del uranio que estábamos extrayendo se retenía en la columna; para recuperarlo, el último riego se realizaba con líquido fresco, de ahí ese salto final en el porcentaje de uranio. Estas operaciones de lavado, después de acabados los ensayos de lixiviación, produjeron cantidades de uranio significativas, indicando que la solución que quedaba retenida en la columna contenía concentraciones de uranio altas.

Sin embargo, fue más significativa la mejora del proceso de disolución del uranio cuando se trabajó en sistemas sin recirculación del líquido lixivante (MET-3 frente a MET-2). El estudio de este factor nos permitiría abordar más fácilmente los ensayos en columnas de grandes dimensiones. Hasta entonces, siempre habíamos operado recirculando el propio efluente; así pues, se trataba ahora de averiguar si trabajando con líquido de riego fresco (sin recircular) se obtenía una mejora substancial en el proceso de extracción. Los resultados experimentales así lo indicaron (figura 81). La evolución del pH fue similar en ambos ensayos, aunque los valores de la columna MET-3 fueron más oscilantes (figura 82). Por su parte, las concentraciones de hierro en solución (figura 83), sobre todo en los sistemas recirculados, llegaron a ser altas (10-30 g/L) y, en su mayor parte como Fe^{3+} (figura 84), lo que está de acuerdo con la gráfica de potencial (figura 85). En cuanto a los valores de Eh alcanzados, fueron los adecuados, según el diagrama Eh-pH para la disolución de la pechblenda (figura 2).

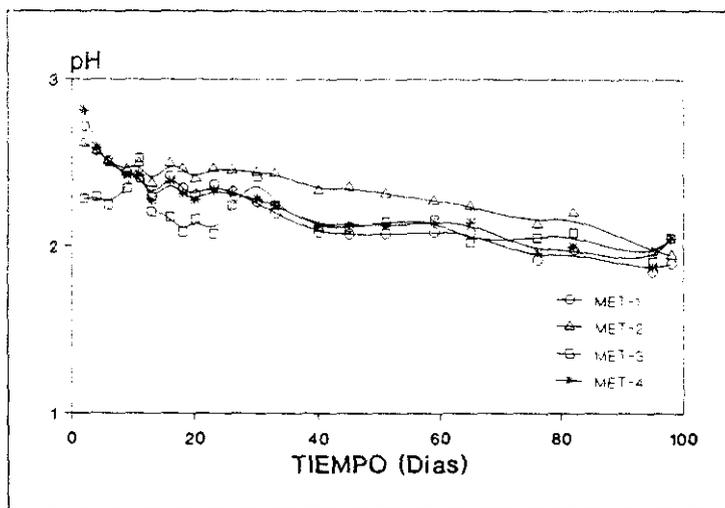


Figura 82. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 81.

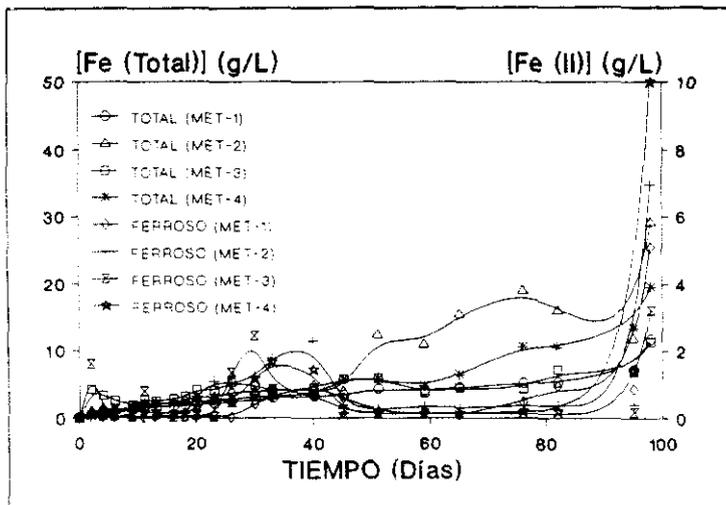


Figura 83. Cantidad de hierro disuelto en los ensayos representados en la figura 81.

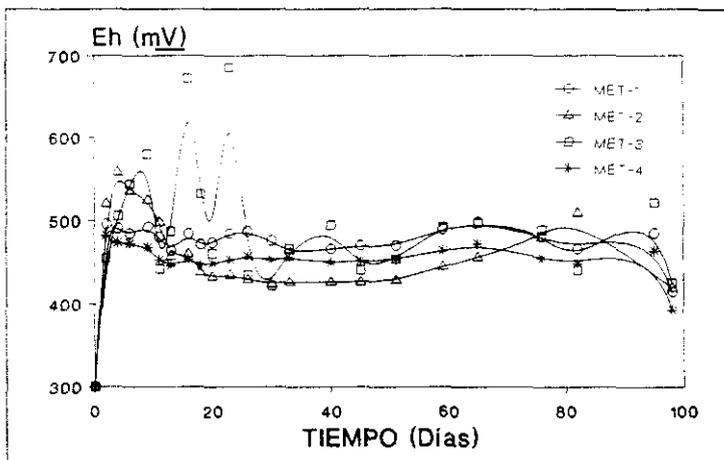


Figura 84. Evolución del Eh en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 81.

Como se disponía de columnas de distintas dimensiones, se comprobó el efecto del tamaño de partícula en un proceso de este tipo. No obstante y de forma rigurosa, lo que influye, tal y como vimos anteriormente, es la relación diámetro interno de la columna/tamaño de partícula del mineral. Se pudo comprobar que, en los primeros 60 días, con un tamaño de partícula del mineral menor de 5 cm (MET-5) se obtenía una mayor extracción de uranio que con un tamaño de partícula menor de 3 cm (MET-1), si bien, la cantidad final de uranio recuperada fue la misma en ambos casos (figura 85). Los demás parámetros controlados en el proceso, pH (figura 86), cantidad de hierro en solución, como hierro total y Fe^{2+} (figuras 87) y potencial (figura 88) no mostraron grandes diferencias. De esta forma se comprobó que al disminuir el tamaño de partícula del mineral, en este caso de ley baja, se produjo un efecto adverso en el proceso de disolución del uranio como consecuencia de una mayor cantidad de roca encajante expuesta al ataque; no obstante, como la relación diámetro interno/tamaño de partícula fue muy parecida en ambos casos, no se establecieron diferencias al final de los experimentos.

Se ha observado (167) que la granulometría del mineral influye de forma distinta dependiendo de las características del mismo. Así, en minerales en los que la distribución del uranio estaba concentrada en los tamaños finos, las granulometrías más gruesas dieron solubilizaciones iguales o superiores; mientras que en aquellos otros que tenían un fracción importante de uranio en los tamaños gruesos, una reducción del tamaño de partícula se tradujo en mayores rendimientos de lixiviación. Esto explicaría el comportamiento de nuestro mineral, ya que, como dijimos anteriormente, el mineral de FE se caracteriza por presentar las partículas de pechblenda concentradas en la fracción fina (117).

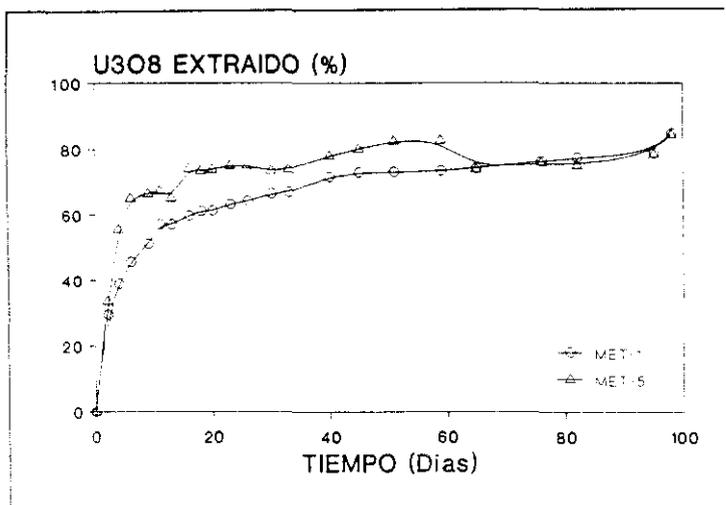


Figura 85. Comparación del % de U_3O_8 disuelto al variar el tamaño de partícula del mineral de <3 cm (MET-1) a <5 cm (MET-5), utilizando como líquido de riego el medio D2 de $pH=7.3$ y recirculando el mismo.

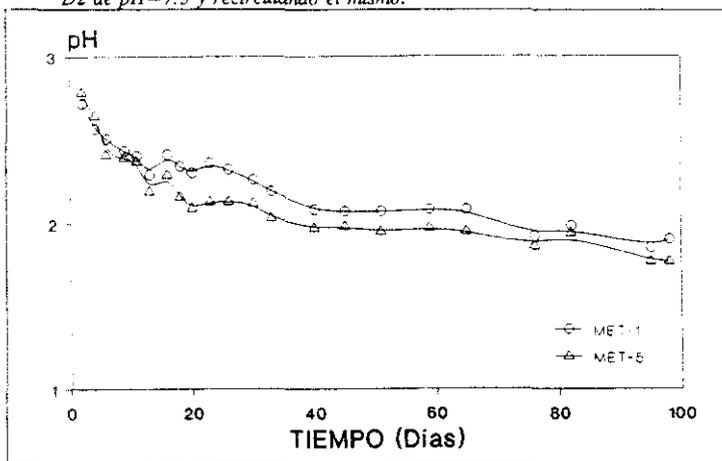


Figura 86. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 85.

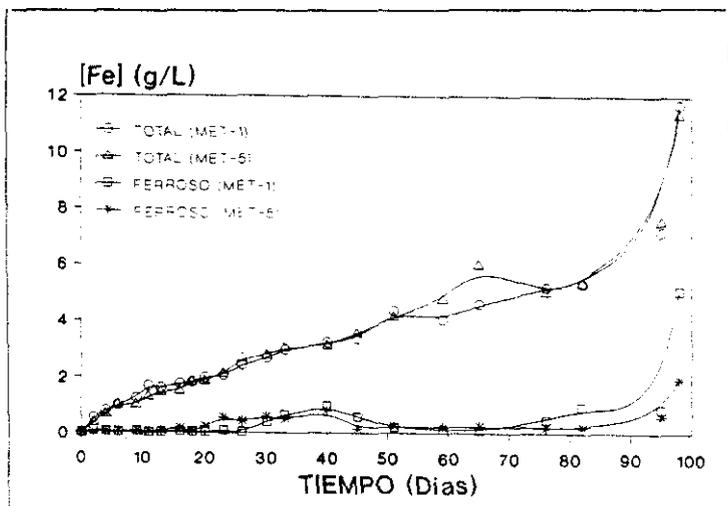


Figura 87. Cantidad de hierro disuelto (total y ferroso) en los ensayos representados en la figura 85.

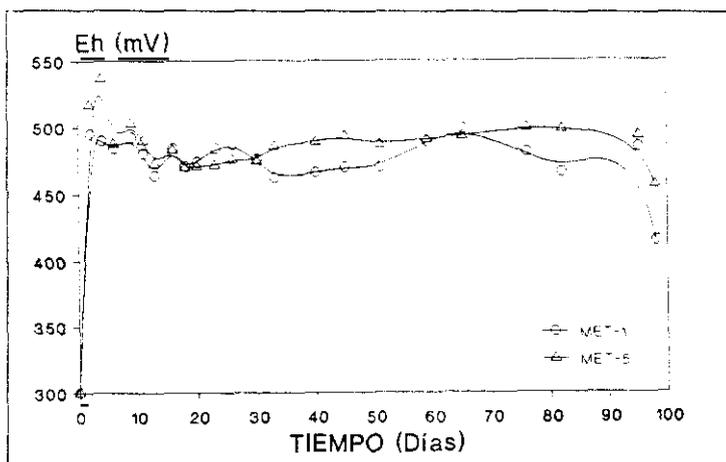


Figura 88. Evolución del Eh en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 85.

Finalmente, se estudió nuevamente, como en los incubadores, la influencia de la actividad bacteriana. Para ello, se realizaron dos ensayos: uno inoculado (MET-5) y otro sin inocular, con un 2% de alcohol como bactericida y habiéndose esterilizado el mineral previamente en la estufa (MET-6). Los resultados experimentales (figura 89) confirmaron un aumento de la extracción de uranio en el ensayo inoculado frente al no inoculado, que llegó a ser un 20% superior a los 20 días de iniciado el experimento. Estas diferencias se pudieron explicar tanto por la mayor cantidad de hierro en solución (figura 90), como por la evolución de las curvas de pH (figura 91) y potencial (figura 92), es decir, por la actividad bacteriana en el sistema. En este sentido, en la figura 93 se puede observar una imagen de las dos columnas una vez finalizado el experimento; mientras que en la fotografía del ensayo inoculado aparecen una gran cantidad de productos de oxidación (amarillentos) resultantes de la oxidación bacteriana, en la del ensayo no inoculado logramos ver muy pocos de estos productos; como consecuencia, el deterioro producido en el material original fue mayor en la columna inoculada.

Sin embargo, volviendo a la figura 89, vemos que existió un aumento anómalo en la recuperación de uranio en el ensayo no inoculado, que se produjo a partir de los 80 días de iniciado el experimento y que hizo que la extracción final de uranio fuera equiparable a la del ensayo inoculado. Esto estaría indicando que en ese momento debió de haber una contaminación o un cierto desarrollo bacteriano en el ensayo no inoculado, lo cual se acompañó con una disminución del pH y con un aumento del Eh del líquido de riego (figuras 91 y 92). Además, el desarrollo bacteriano produjo también una mayor cantidad de Fe^{3+} , en detrimento del Fe^{2+} en disolución (figura 90). Obsérvese que hasta los 80 días, la mayor parte del hierro producido en el ensayo no inoculado estuvo como Fe^{2+} , es decir, no existió una participación del proceso microbiológico; fue a partir de ese momento cuando la concentración de Fe^{3+} en disolución comenzó a aumentar. Por el contrario, para el resto de ensayos inoculados se observó ese efecto microbiano desde los primeros instantes de iniciado el experimento, lo que se tradujo en una

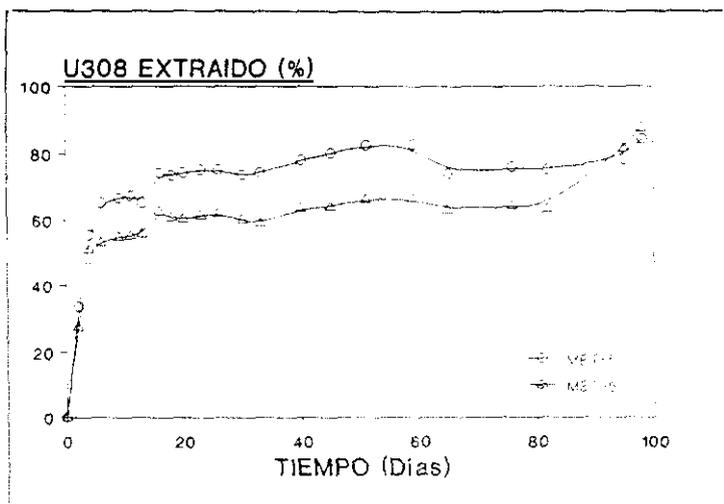


Figura 89. Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados (MET-5) y no inoculados (MET-6), utilizando como líquido de riego el medio 2 de $pH=7.3$ y recirculando el mismo.

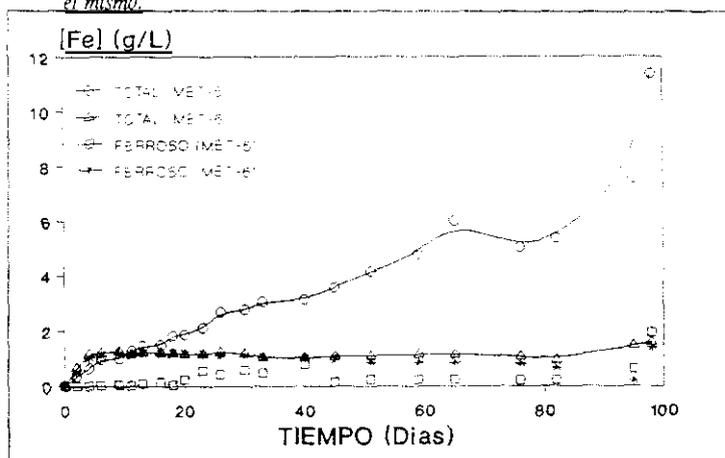


Figura 90. Cantidad de hierro disuelto (total y ferroso) en los ensayos representados en la figura 89.

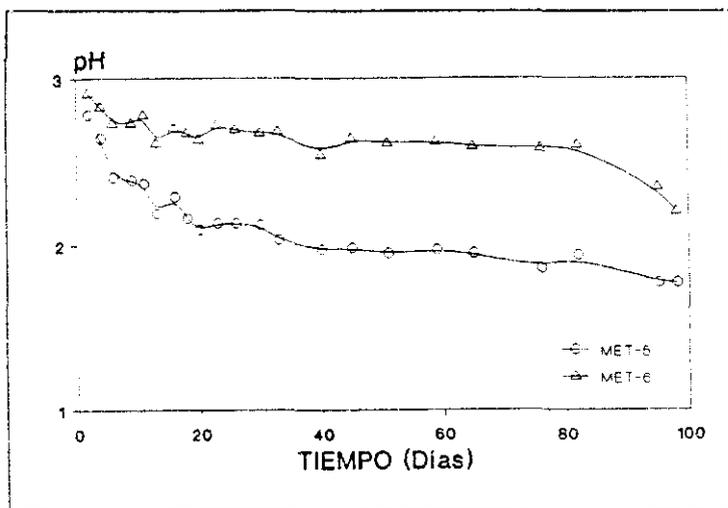


Figura 91. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 89.

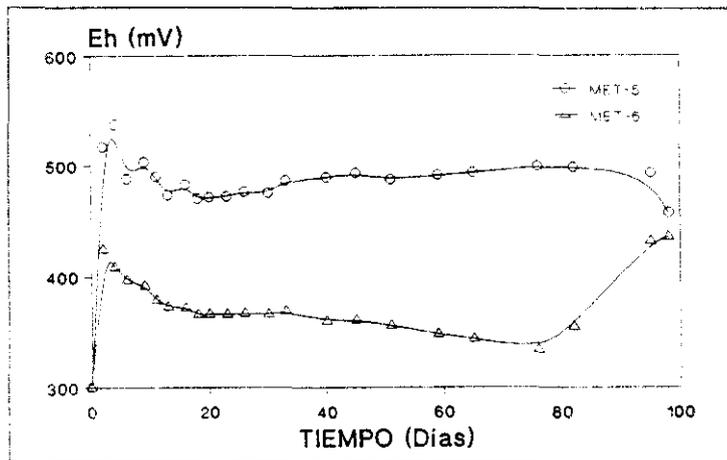


Figura 92. Evolución del Eh en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 89.

disminución del contenido de Fe^{2+} en disolución, como consecuencia de su transformación microbiológica en Fe^{3+} , que fue la especie predominante en el sistema $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$.

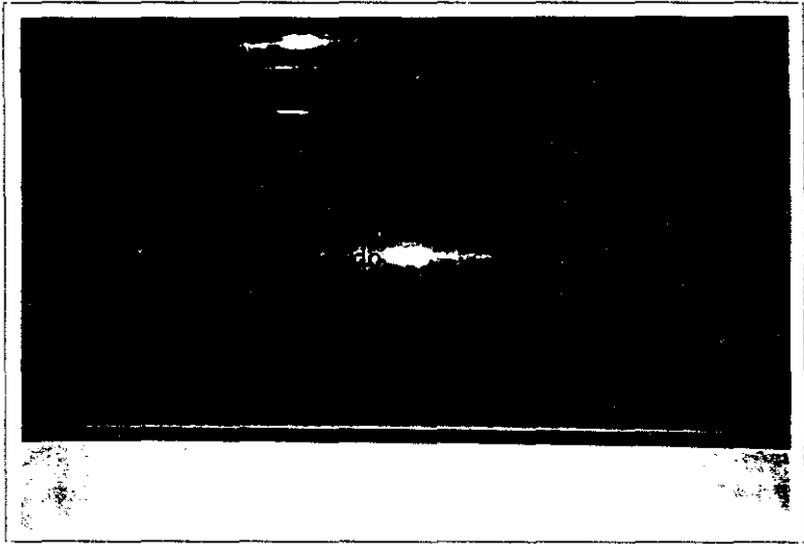


Figura 93. *Influencia de la actividad bacteriana: aspecto final de las columnas MET-5 y MET-6.*

Columnas de PVC (I)

En una nueva aproximación a las condiciones de trabajo industriales, el estudio con cultivos naturales se completó trabajando en columnas de grandes dimensiones y con mineral alterado. Las condiciones de operación se fijaron en función de los ensayos anteriores en columnas. De esta forma se decidió el uso de una relación diámetro interno de la columna/tamaño de partícula próxima a 5 y la utilización de líquido de riego fresco (sin recirculación).

De acuerdo con la planificación de ensayos, establecida en la Tabla XVII, los aspectos a estudiar pueden resumirse en los tres puntos siguientes:

- Estudio de la adición de pirita en sistemas aireados (al comparar la columna PVC-1 con la PVC-2).

- Estudio de la actividad bacteriana en sistemas aireados y no aireados (al comparar la columna PVC-1 con la PVC-3 y la PVC-6 con la PVC-4, respectivamente).

- Estudio de la aireación en sistemas inoculados y no inoculados (al comparar la columna PVC-1 con la PVC-6 y la columna PVC-3 con la PVC-4, respectivamente).

En estos estudios se tomará como referencia la columna regada con el líquido de la explotación comercial de ENUSA (PVC-5), por considerarse el nexo de unión de estos ensayos con el proceso real que se tiene en las eras de mineral.

Estudio de la adición de pirita

La adición de pirita como complemento al mineral de uranio de FE ya se había considerado con anterioridad. En los ensayos en incubador se establecía que: *tan sólo la adición de un 6% de pirita parece favorecer el proceso de disolución del uranio*. Posteriormente, se volvió a ensayar esta variable en columnas de pequeñas dimensiones, aunque empleando relaciones de pirita bajas (del 1% y 3%). Para completar la experimentación, se realizó un ensayo en columna aireada de grandes dimensiones con la adición de un 5.3% de pirita.

En la figura 94 se recogen los resultados experimentales correspondientes a la extracción de uranio para los ensayos aireados con (columna PVC-2) y sin adición de pirita (columna PVC-1), representados frente al ensayo PVC-5 que, recordemos, no se aireaba. Hay que señalar que, en los tres casos, las curvas de disolución del uranio siguieron una trayectoria muy parecida; destaca otra vez un primer tramo de la curva donde la disolución de uranio fue muy rápida (se alcanzaron recuperaciones del 70-80% en algo menos de 20 días), para después disminuir drásticamente la cinética del proceso. Sin embargo, existió un mejor comportamiento de los ensayos inoculados y aireados frente al ensayo que utilizó como líquido de riego el de la instalación de ENUSA. No obstante, la presencia de pirita no pareció mejorar el proceso de lixiviación.

En cualquier caso, sí se establecieron claras diferencias en cuanto a la cantidad de hierro en solución (figura 95), que fue mucho mayor en el ensayo que contenía pirita que en los otros dos casos apuntados. Por su parte, las curvas de evolución del pH (figura 96) y del potencial redox (figura 97) fueron muy parecidas en los dos ensayos inoculados, con valores de pH próximos a 2.0, e incluso inferiores, a lo largo de toda la experimentación; y con potenciales de

oxidación-reducción que subieron rápidamente hasta 700 mV para después estabilizarse en torno a ese valor. Estas curvas contrastan con las obtenidas en el ensayo PVC-5, en el que el pH tendió a subir paulatinamente desde 2.0 hasta un valor próximo a 3.0, donde se mantuvo, y en el que el potencial (Eh), contrariamente, tendió a bajar desde 530 mV hasta valores cercanos a 350 mV. Fue evidente que el líquido de riego de ENUSA, aún partiendo de condiciones oxidantes, debió producir efectos negativos en el desarrollo bacteriano, tal y como ya indicamos al discutir los ensayos realizados en columnas de vidrio, todo lo cual se reflejó en el pH y Eh.

Pese a que no se encontraron grandes diferencias entre estos ensayos, probablemente como consecuencia de que se atacaba un mineral sensiblemente alterado, si hay que destacar dos hechos. Primero, que las condiciones oxidantes alcanzadas en los ensayos inoculados y aireados, partiendo de una solución de riego con un pH neutro y un Eh de oxidación bajo, son las óptimas para que la extracción tenga lugar. Se ha establecido (14,110,150,154) que las soluciones lixiviantes más efectivas se producen cuando el potencial redox es alto y se mantiene próximo a 750 mV y cuando el pH es cercano a 2.0, con un potencial de oxidación mínimo de 390 mV para pasar el uranio de la forma tetravalente a la hexavalente. Durante la oxidación del hierro ferroso por *T.ferrooxidans*, cabe esperar que el potencial redox aumente hacia el del sistema Fe^{3+}/Fe^{2+} , que es de +747 mV a 25°C. En realidad, este valor rara vez se alcanza, excepto a bajas concentraciones de hierro o a alta acidez, porque el hierro precipita en el medio como jarosita, de tal forma que se han medido valores de Eh entre +340 y +540 mV durante la extracción de uranio por *Thiobacillus ferrooxidans* (62,89). Y, segundo, las altas concentraciones de hierro alcanzadas en el ensayo con pirita (concentraciones de 80 g/L) son un buen indicativo del potencial oxidante que es posible alcanzar en este tipo de sistemas, circunstancia ésta que reafirma la importancia del mecanismo indirecto en la solubilización del uranio.

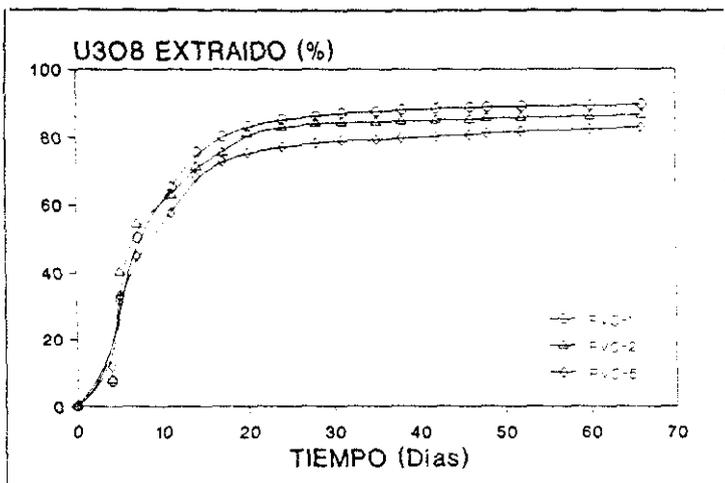


Figura 94. Influencia de la adición de pirita: Comparación del % de U_3O_8 disueltos en ensayos inoculados con la adición de un 5.3% de pirita (PVC-2) y sin la adición de pirita (PVC-1), con medio D2 de $pH=7.5$ como líquido de riego, junto con el ensayo no inoculado que utiliza la mezcla de agua de río y refinado de $pH=2.0$ (PVC-5).

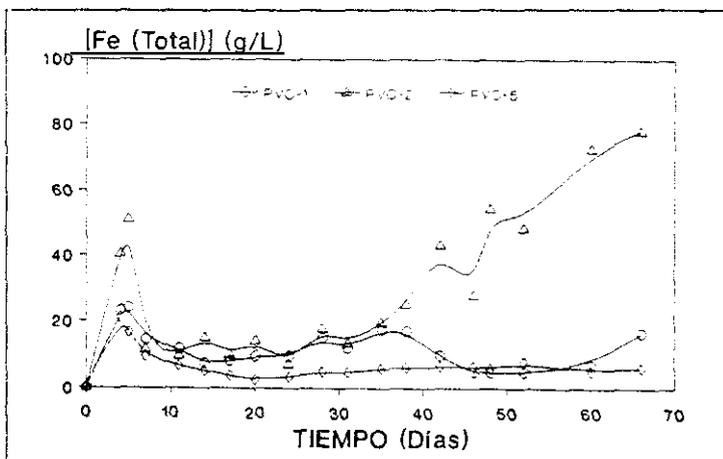


Figura 95. Cantidad de hierro disueltos en los ensayos representados en la figura 94.

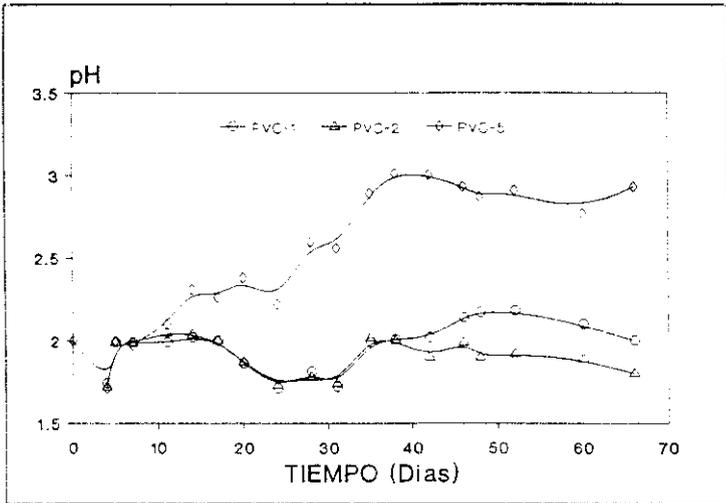


Figura 96. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 94.

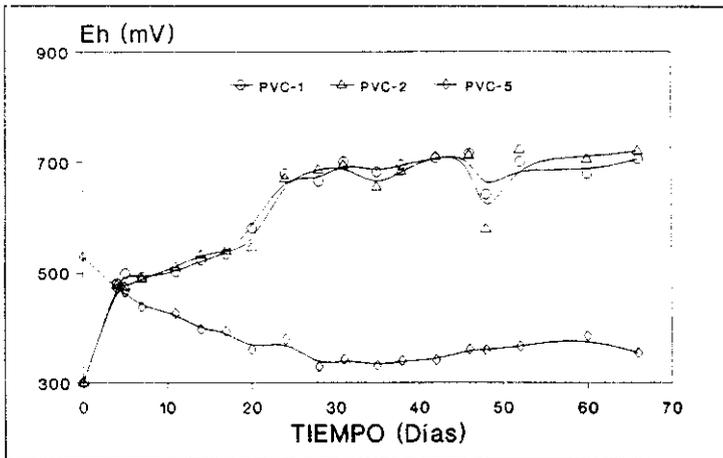


Figura 97. Evolución del Eh en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 94.

Estudio de la actividad bacteriana

La actividad bacteriana fue otra de las variables que se consideró. Su estudio se realizó en sistemas aireados y no aireados.

Para el caso de sistemas aireados, la disolución del uranio fue más efectiva en el ensayo inoculado (PVC-1) que en el no inoculado (PVC-3) y en la columna PVC-5, en las que el comportamiento fue casi idéntico (figura 98). Se observaron, además, diferencias en cuanto a la cantidad de hierro disuelto durante estos experimentos, tanto en forma de hierro total como de hierro ferroso (figuras 99 y 100, respectivamente). La variación del pH (figura 101) fue similar en los ensayos inoculado y no inoculado; no así el potencial redox (figura 102), alcanzándose

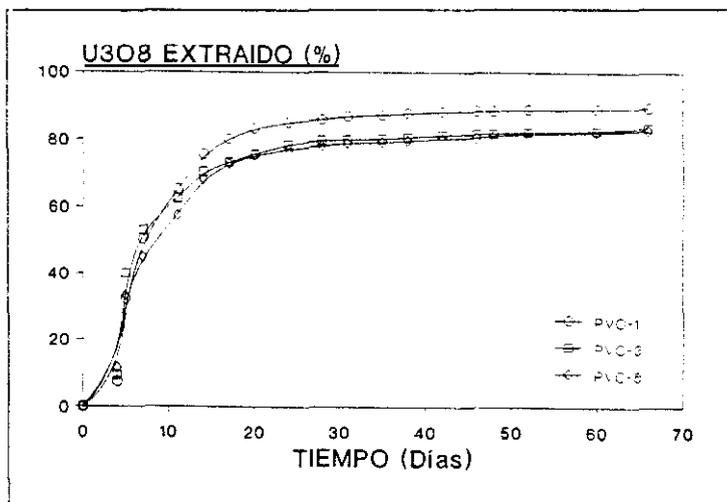


Figura 98. *Influencia de la actividad bacteriana: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos aireados inoculados (PVC-1) y no inoculados (PVC-3), con medio D2 de pH=7.5 como líquido de riego, junto con el ensayo no inoculado, sin airear, que utiliza la mezcla de agua de río y refinado de pH=2.0 (PVC-5).*

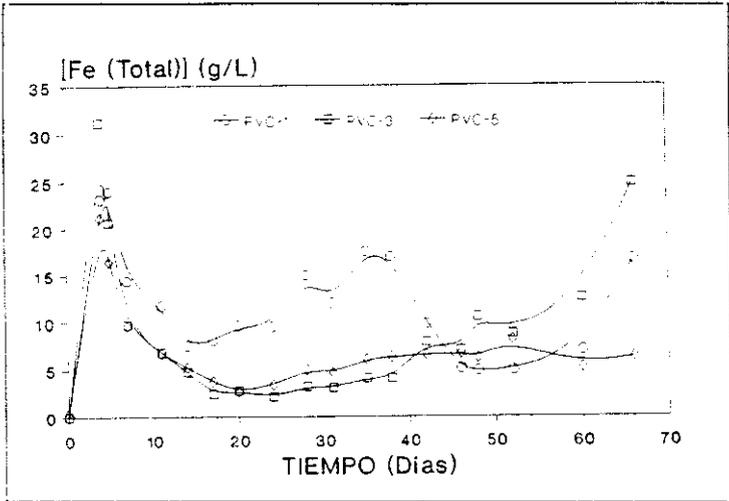


Figura 99. Cantidad de hierro total disuelto en los ensayos representados en la figura 98.

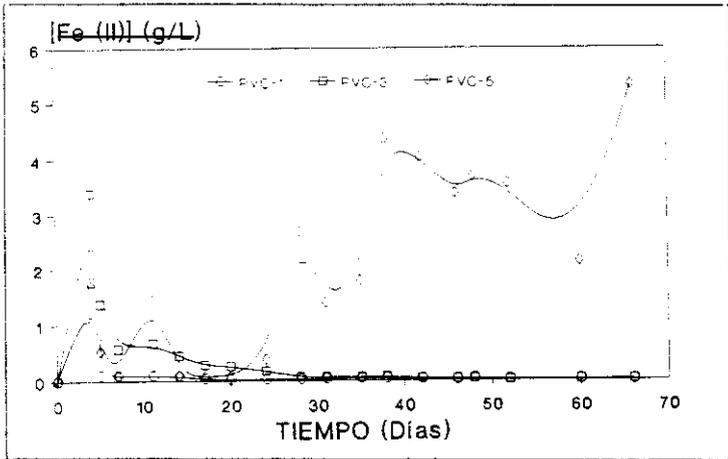


Figura 100. Cantidad de hierro ferroso disuelto en los ensayos representados en la figura 98.

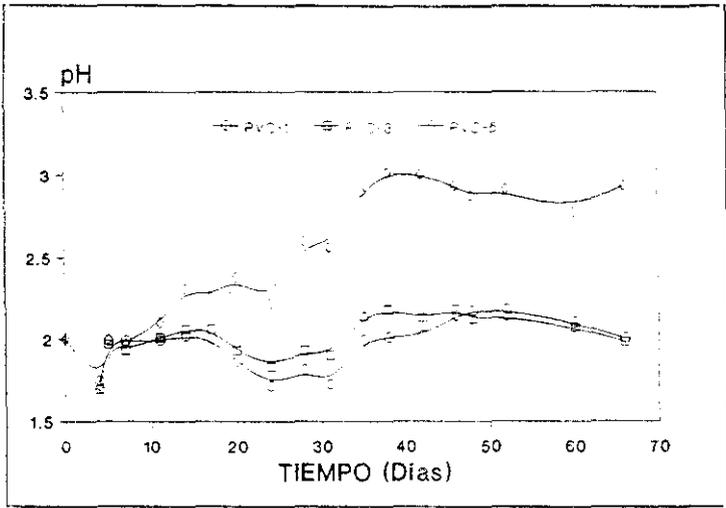


Figura 101. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 98.

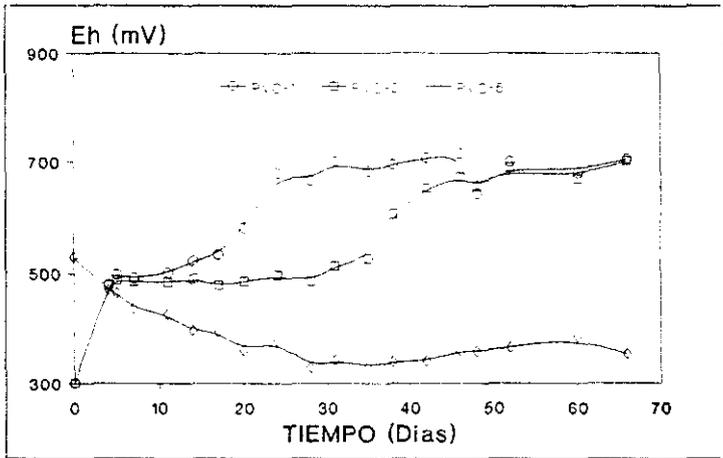


Figura 102. Evolución del Eh en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 98.

antes condiciones oxidantes más fuertes en el ensayo inoculado que en el no inoculado, de acuerdo, por otra parte, con la evolución del hierro en solución. Esto pudo ocurrir debido al empleo, en el ensayo no inoculado, de una solución alcohólica, como bactericida, durante sólo las dos primeras semanas de experimentación. Sin embargo, tras un período de estabilización del Eh en torno a 500 mV se alcanzó, rápidamente, un potencial próximo a 700 mV, probablemente, como consecuencia de la participación en el proceso de una población microbiana establecida desde el comienzo de la experimentación que perdió durante la adición de alcohol al medio, momentáneamente, su potencial oxidante. Esto se confirmó con las observaciones microscópicas realizadas de las últimas muestras de líquido extraído de las columnas en las que se detectaron, tanto para los ensayos inoculados como para los no inoculados, poblaciones de microorganismos muy densas, en contraposición con lo ocurrido en el ensayo PVC-5 donde la cantidad de células, al finalizar la experimentación, fue muy pequeña.

Los resultados del estudio de la actividad bacteriana en sistemas no aireados quedan reflejados en la figura 103. En ella, se observa que en el ensayo inoculado (PVC-6) se obtuvieron recuperaciones de uranio mayores que en el ensayo PVC-5 y, a su vez, superiores a las que se obtuvieron en el ensayo no inoculado (columna PVC-4). La cantidad de hierro disuelta, como en casos anteriores, fue muy importante durante los primeros momentos de la experimentación y a la finalización de la misma (figura 104). No obstante, durante el ensayo en la columna PVC-4 se pasó por una etapa intermedia donde la cantidad de hierro en solución fue relativamente baja (≤ 2 g/L), lo que podría explicar la menor recuperación del uranio como consecuencia de unas condiciones oxidantes peores en el sistema. El pH, tanto para el ensayo inoculado como para el no inoculado, evolucionó manteniéndose en valores más bajos a los alcanzados en el ensayo PVC-5 (figura 105), si bien la actividad bacteriana tuvo una mayor participación obviamente en el ensayo inoculado. Lo mismo ocurrió con el Eh, pero con el efecto opuesto, siendo mayor para los ensayos inoculado y no inoculado que para el ensayo PVC-5 (figura 106).

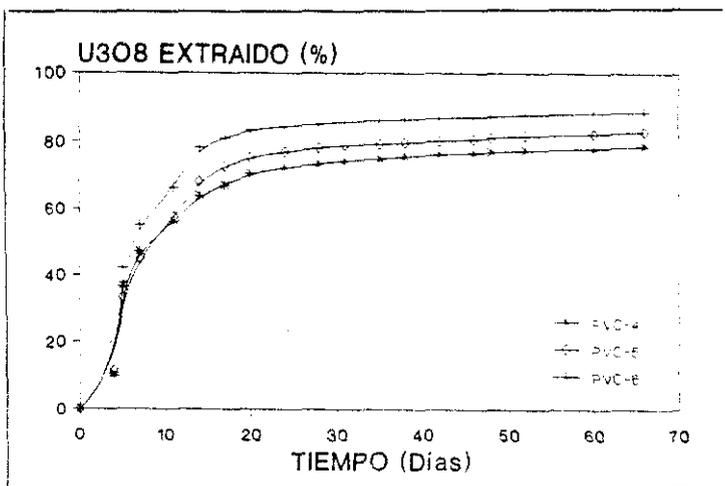


Figura 103. *Influencia de la actividad bacteriana: Comparación del % de U_3O_8 disueltos en ensayos no aireados inoculados (PVC-6) y no inoculados (PVC-4), con medio D2 de pH=7.5 como líquido de riego, junto con el ensayo no inoculado que utiliza la mezcla de agua de río y refinado de pH=2.0 (PVC-5).*

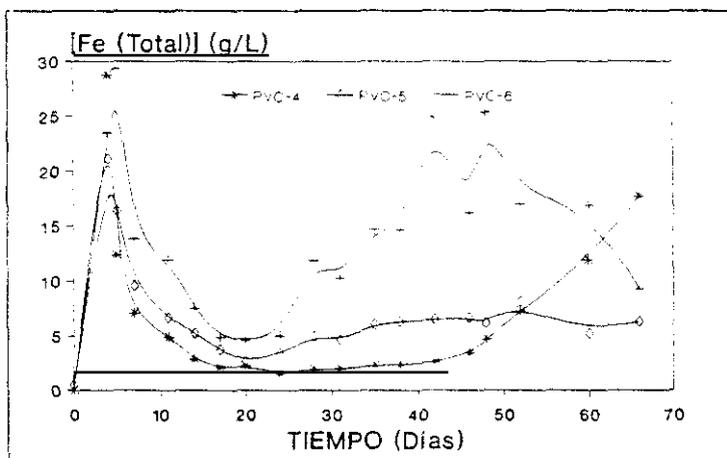


Figura 104. *Cantidad de hierro disueltos en los ensayos representados en la figura 103.*

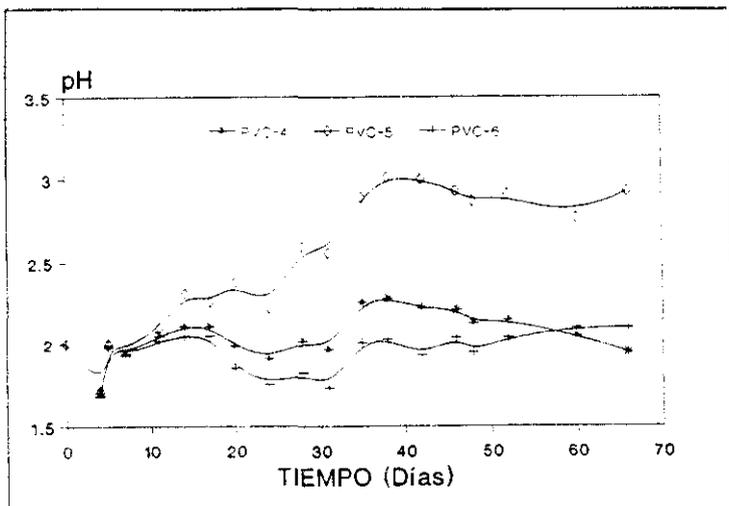


Figura 105. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 103.

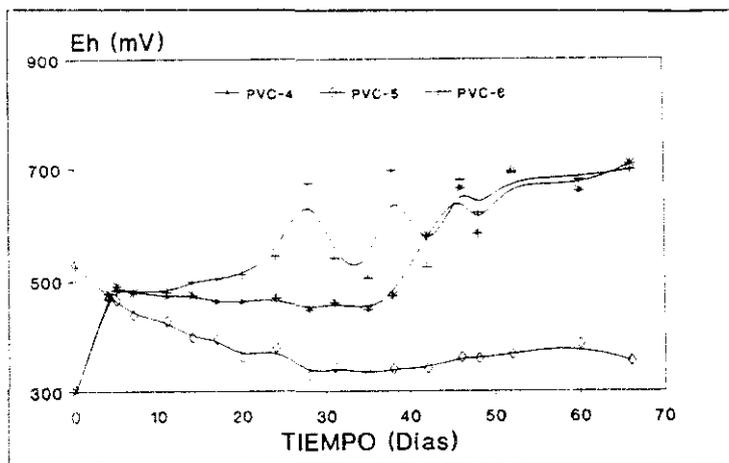


Figura 106. Evolución del Eh en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 103.

Estudio de la aireación

Aunque ya se hizo un primer intento de estudiar esta variable a escala de laboratorio, las dificultades encontradas en los ensayos dinámicos no reflejaron de una forma real lo que podría estar ocurriendo en una pila de mineral. Sin embargo, se apuntó la posibilidad de que al aumentar de escala, como consecuencia de la inmovilidad del mineral, podrían eliminarse los problemas antes referidos.

El estudio de la aireación en columnas de PVC se llevó a cabo tanto en sistemas inoculados como no inoculados.

La utilización de la aireación en sistemas inoculados no produjo mejoras apreciables en el proceso de disolución del uranio. Sin embargo, en ambos casos, la cinética de recuperación del metal resultó ser más rápida que la de la columna PVC-5 (figura 107). La cantidad de hierro en solución fue mayor en los ensayos inoculados (figura 108), en los que, a diferencia del realizado con el líquido de ENUSA, se encontraba, principalmente, como hierro férrico (figura 109). Y la evolución del pH volvió a mostrar una gran similitud entre los dos ensayos inoculados, que contrasta con la subida rápida del pH en el ensayo PVC-5 (figura 110). En cuanto al potencial redox, se debe recalcar que las condiciones oxidantes en el ensayo no aireado fueron menos estables, a lo largo del ensayo, que en el ensayo aireado, lo que produjo subidas y bajadas bruscas de potencial en los tiempos en los que la cantidad de hierro en disolución evoluciona de igual forma. No obstante, el comportamiento de ambos ensayos, por lo que al Eh se refiere, fue siempre muy favorable en comparación a lo que ocurrió con el ensayo PVC-5 (figura 111).

Por último, el efecto de la aireación en sistemas no inoculados queda reflejado en la figura 112. En ella, se observa que las diferencias de extracción de uranio comenzaron a hacerse notar a un tiempo más corto (al cabo de los 10 primeros días de experimentación), si bien, ambos

ensayos mantuvieron esa diferencia hasta su finalización. En este caso, el comportamiento del ensayo PVC-5 fue similar al del ensayo no inoculado aireado. La evolución del hierro en solución, con una subida brusca al inicio de la experimentación, a la que siguió una bajada pronunciada y una zona de estabilización que comenzó a subir de nuevo en los últimos instantes, fue algo que se repitió en los tres ensayos considerados (figura 113). En cuanto al pH (figura 114), la evolución en los ensayos no inoculados fue muy parecida, dejándose notar, lo que se había comentado anteriormente, la presencia de una población bacteriana establecida de antemano. Finalmente, las curvas de evolución del potencial redox sirvieron de confirmación de este hecho, pues parecen indicar que las condiciones oxidantes óptimas (700 mV aproximadamente) se alcanzaron antes en el sistema aireado que en el no aireado, es decir, la población bacteriana comenzaría a desarrollarse antes en aquél sistema que en éste (figura 115).

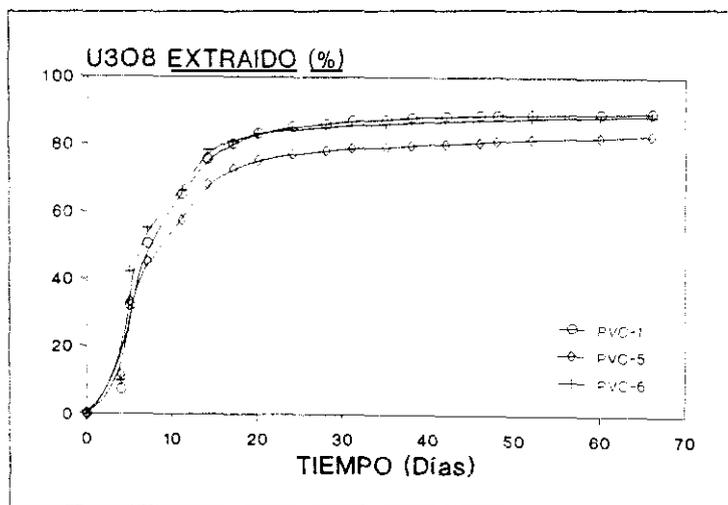


Figura 107. Influencia de la aireación: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados, aireados (PVC-1) y no aireados (PVC-6), con medio D2 de pH=7.5 como líquido de riego, junto con la mezcla de agua de río y refinado de pH=2.0 (PVC-5).

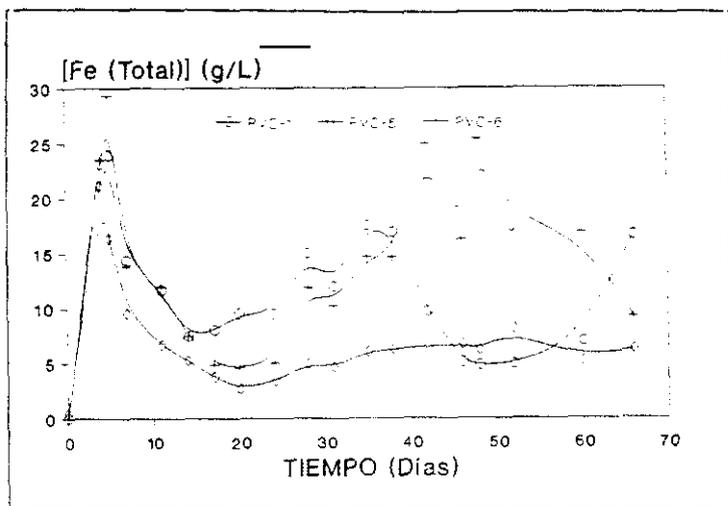


Figura 108. Cantidad de hierro total disuelto en los ensayos representados en la figura 107.

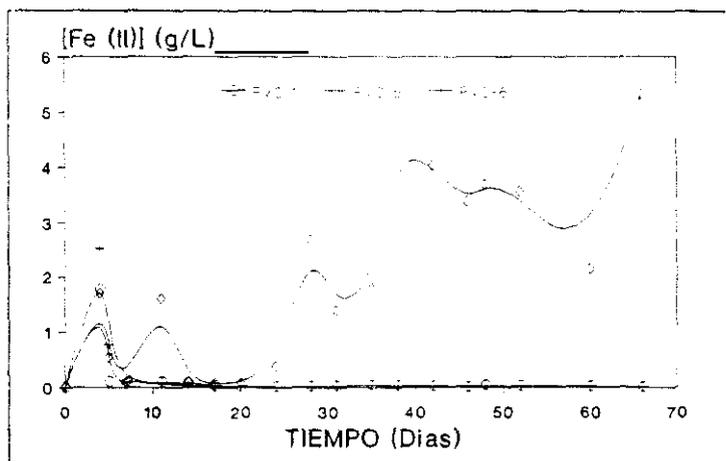


Figura 109. Cantidad de hierro ferroso disuelto en los ensayos representados en la figura 107.

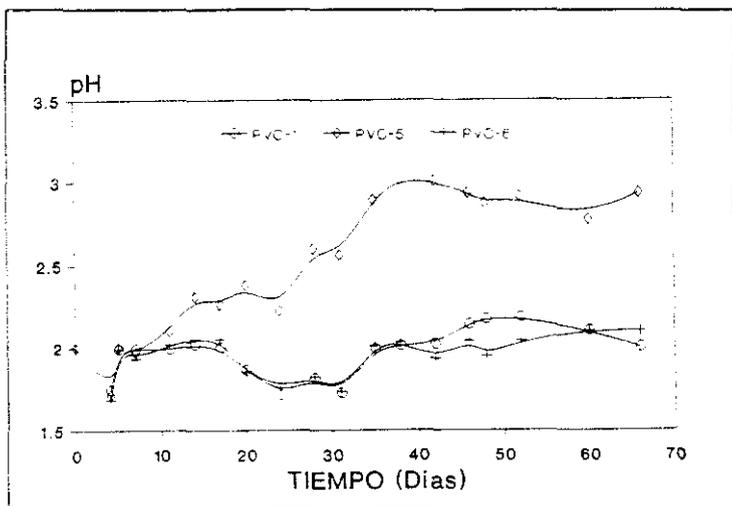


Figura 110. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 107.

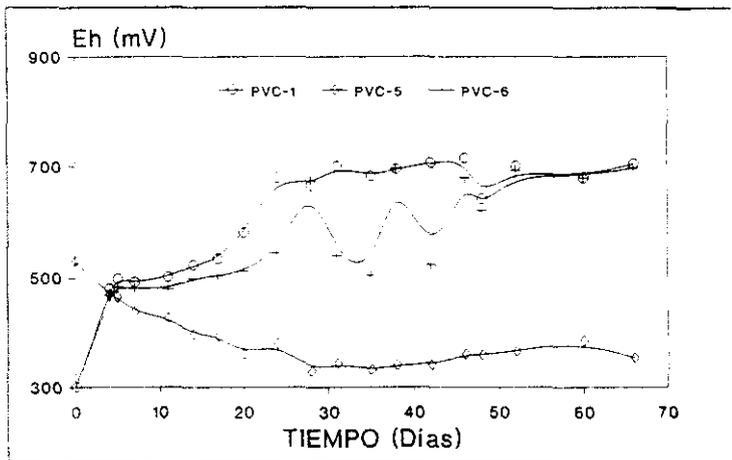


Figura 111. Evolución del Eh en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 107.

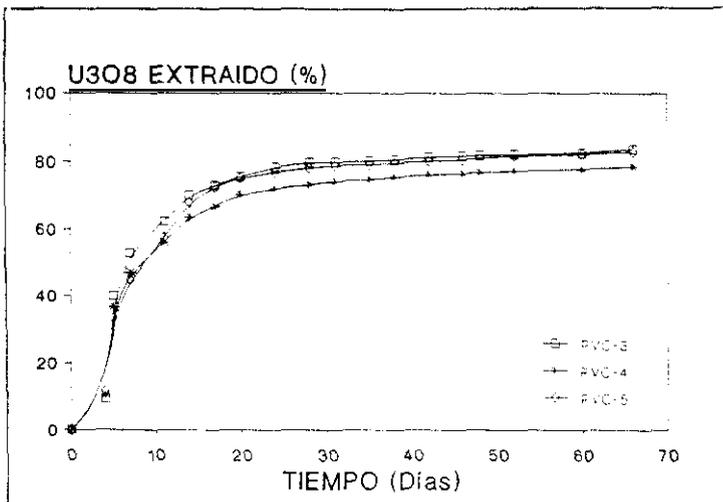


Figura 112. Influencia de la aireación: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos no inoculados, aireados (PVC-3) y no aireados (PVC-4), con medio D2 de pH=7.5 como líquido de riego, junto con la mezcla de agua de río y refinado de pH=2.0 (PVC-5).

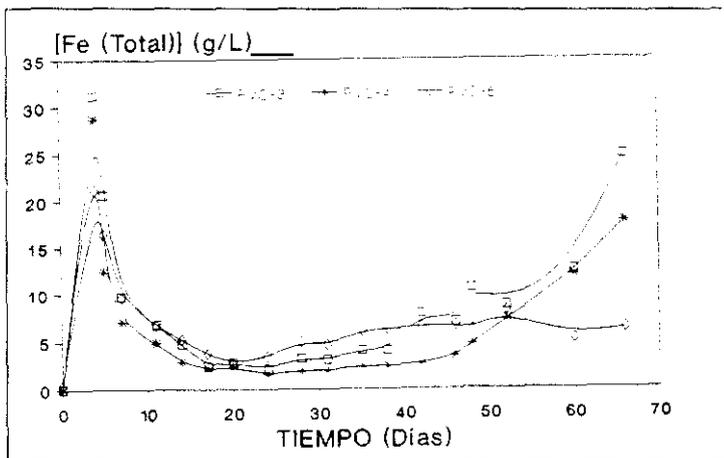


Figura 113. Cantidad de hierro disuelto en los ensayos representados en la figura 112.

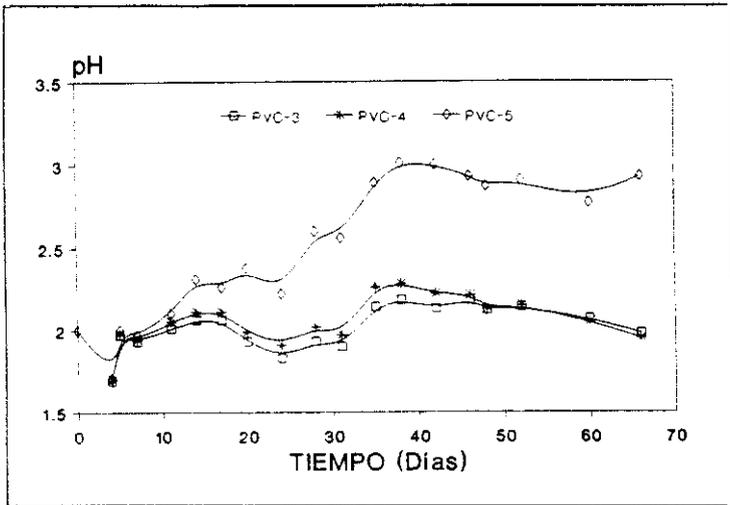


Figura 114. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 112.

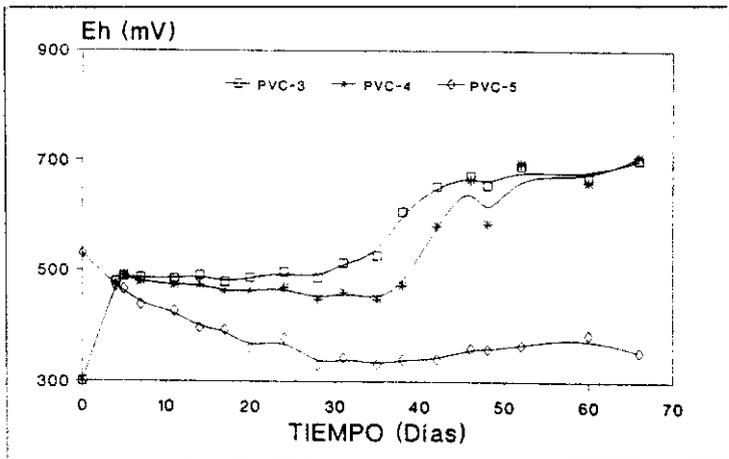


Figura 115. Evolución del Eh en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 112.

El proceso de disolución del uranio

Como se acaba de exponer, el proceso de disolución del uranio, utilizando un mineral alterado, se caracteriza por una alta velocidad de extracción en el período inicial (6 días), transcurrido el cual se establecen diferencias entre los ensayos realizados al variar las condiciones de experimentación (figura 116). De forma general, no obstante, a los 20 días se alcanzan recuperaciones del 70-80%, para, posteriormente, disminuir drásticamente la cinética de disolución del uranio. Asimismo, en todos los casos, la evolución de la concentración de U_3O_8 sigue la misma pauta: unas concentraciones muy altas (del orden de los 10 g/L) al inicio de la experimentación que van disminuyendo exponencialmente a lo largo del experimento hasta alcanzar valores muy pequeños y constantes al final (figura 117). Además, existe una correlación directa de este parámetro con la variación del hierro en solución, esto es, con las condiciones oxidantes y, por lo tanto, con la actividad bacteriana del proceso que se refleja también en los valores de Eh y pH.

No obstante las pautas generales antes establecidas, se observan las siguientes diferencias:

- Los mejores resultados corresponden a sistemas aireados e inoculados (PVC-1), a sistemas no aireados pero inoculados (PVC-6) y a sistemas aireados con un 5.3% de pirita (PVC-2).

- Seguidamente hay un comportamiento muy parecido entre el sistema aireado pero no inoculado (PVC-3) y el que utiliza el líquido de riego de la instalación de ENUSA (PVC-5).

- Finalmente, los peores resultados se alcanzan en sistemas no aireados y no inoculados (PVC-4). La mejora obtenida frente a éste último con un sistema inoculado y aireado llega a ser superior al 10%.

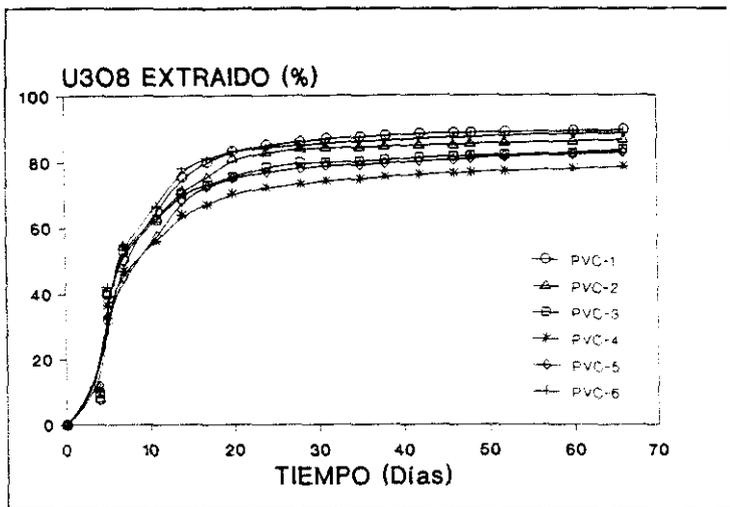


Figura 116. Comparación del % de U_3O_8 disuelto en los diferentes ensayos en columnas de PVC (I).

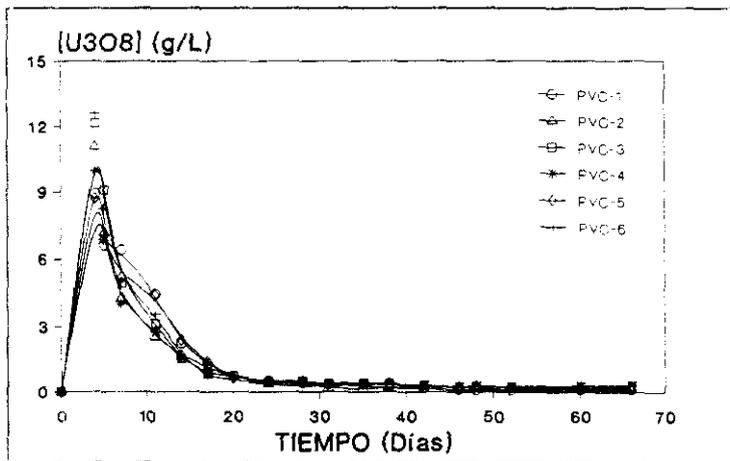


Figura 117. Variación de la concentración de U_3O_8 con el tiempo para los distintos ensayos en columnas de PVC (I).

Para interpretar más clara y completamente todos los resultados obtenidos en el proceso de lixiviación del mineral, por lo que a la extracción de uranio se refiere, a continuación se realiza un análisis global de los mismos.

De acuerdo con la bibliografía (168), el proceso de lixiviación puede dividirse conceptualmente en cuatro fases básicas. Durante la primera (5 a 10 días iniciales), los minerales de uranio son solubilizados por el ácido sulfúrico diluido. Esta fase está, generalmente, controlada por la reacción química entre los minerales y dicho ácido. La bacteria no está activa aún y se encuentra bajo condiciones oxidantes débiles.

Durante la segunda fase, del quinto al trigésimo día (el tiempo podría variar de acuerdo a las operaciones de lixiviación), el proceso está controlado por fenómenos de difusión de reactivos y la velocidad de lixiviación disminuye. La oxidación aún es débil. Al final de esta segunda fase la bacteria comienza a proliferar.

En la tercera fase, la bacteria ha crecido, el Fe^{2+} es oxidado a Fe^{3+} , el pH aumenta y el potencial cambia rápidamente de 400 a 700 mV. El U(IV) es oxidado a U(VI) y es simultáneamente solubilizado, mejorando la velocidad de lixiviación. Esta etapa dura más o menos otros 15 días.

En la cuarta fase, el U(IV) todavía accesible se sigue oxidando; el proceso está controlado nuevamente por la superficie expuesta y por la difusión del lixivante dentro del mineral. La velocidad de lixiviación disminuye gradualmente. Esta disminución en la velocidad de extracción también puede atribuirse al agotamiento de uranio en el mineral.

Ahora bien, si la lixiviación se realiza con una solución que contenga la bacteria activa y suficiente Fe(III) para la oxidación de U(IV) a U(VI), las primeras tres fases llegan a ser difíciles

de separar. La velocidad de extracción del uranio será inicialmente más alta. Sin embargo, después de un tiempo suficiente, la recuperación global de uranio será similar en el caso de la cuarta fase.

Así pues, las velocidades de extracción de uranio, en las primeras etapas de la lixiviación, aumentan al aumentar las condiciones oxidantes iniciales de la solución. Una relación Fe^{3+}/Fe^{2+} alta favorece la disolución del uranio. Sin embargo, concentraciones más altas de 3 g/L de Fe^{3+} no tienen un efecto significativo. Se ha establecido (28,45) que una concentración de Fe^{3+} próxima a 1-2 g/L es, normalmente, adecuada y suficiente para la disolución efectiva del uranio tetravalente, con un requerimiento mínimo de 0.5 g/L (110).

La explicación de lo que ocurrió en nuestro sistema podría resumirse de la siguiente forma: la gran cantidad de hierro que se produjo al comienzo de la experimentación, fundamentalmente en estado férrico, como consecuencia de la alteración previa que sufrió el mineral, creó las condiciones oxidantes necesarias para que la disolución del uranio fuera, inicialmente, muy rápida. El potencial de oxidación también dependió de las condiciones de trabajo de partida, lo que estableció diferencias entre los distintos ensayos. Además, por la propia alteración del mineral, había una cierta cantidad de U(IV) transformada en U(VI), cuya extracción en medio ácido tuvo una cinética muy alta. Como consecuencia de ambos hechos, las curvas de disolución de uranio presentaron una primera zona con una pendiente muy pronunciada y en la que la extracción de uranio fue muy rápida.

La presencia de un segundo período donde la cinética disminuyó notablemente confirma lo que ya se había comentado. La baja velocidad de lixiviación durante esta fase parece indicar que el proceso estuvo controlado por la superficie expuesta al ataque y por la difusión de reactivos al interior del mineral, puesto que las concentraciones de Fe^{3+} , a lo largo de los experimentos, superan fácilmente los 1-2 g/L necesarios para que la lixiviación del U(IV) sea efectiva. Por tanto,

se trató de un problema de superficie de ataque, o bien, de mala accesibilidad de la solución lixiviante a los lugares en los que se encontraba el U(IV) sin atacar.

A todo lo dicho, además, contribuyeron las altas temperaturas alcanzadas durante la realización de esta experimentación, las cuales oscilaron entre los 30 y 35°C en el interior de las columnas (estos ensayos se realizaron durante los meses de verano).

En definitiva, la cinética de disolución del uranio se produjo en dos fases (figura 118): la *fase inicial*, representada por la línea OA, que se caracterizó por una alta velocidad de disolución del uranio y que puede expresarse por una ley parabólica; con el tiempo, la cantidad de uranio disponible fue menor, la reactividad de la pechblenda disminuyó pronunciadamente y la velocidad de disolución estuvo representada por una línea recta de pendiente suave, como AB.

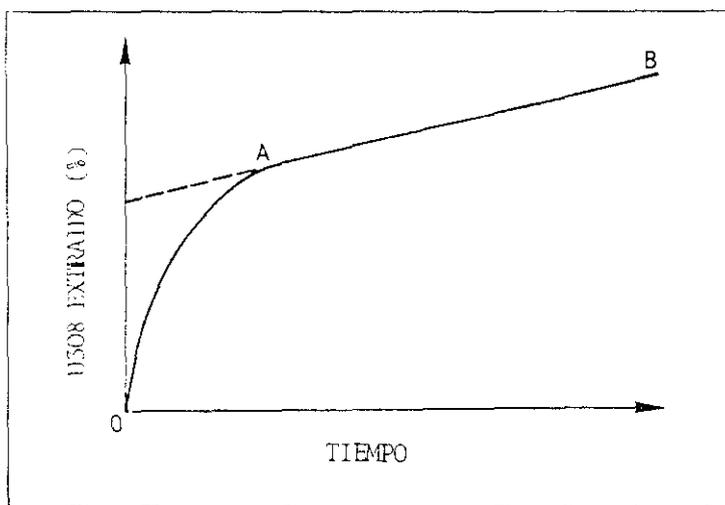


Figura 118. Curva representativa de la disolución de la pechblenda por Fe^{3+} , en presencia de bacterias, para un mineral alterado.

En términos prácticos esto significa que la primera fase de disolución sólo puede ser reestablecida por remolienda del residuo de lixiviación. Sin embargo, en la lixiviación estática (in-situ, en escombrera ó en montón) la remolienda del mineral es obviamente impensable, ya que se requieren tiempos de lixiviación largos para lograr recuperaciones de uranio aceptables. Además, la presencia de minerales no atacados puede ser debida a la existencia de especies mineralógicas resistentes a las condiciones de ataque. Así, se han dado casos (29) en los que a pesar de realizarse una gran reducción de tamaño del mineral, aún quedaban residuos con un alto contenido en uranio después del ataque, lo que hizo suponer que existía una asociación íntima entre el uranio y algún constituyente de la ganga (limonitas) que resultaba inaccesible a la solución de ataque. Por consiguiente, el rendimiento máximo de recuperación económico, en el proceso estudiado, se sitúa en valores próximos al 85 % de U_3O_8 extraído.

La cinética del proceso en columna puede ser estudiada según los trabajos de Jacobson y Murphy (135), los cuales asumen que la recuperación R es proporcional al contenido en peso de metal lixiviable, P_0 , que no incluye la fracción no soluble que por cualquier circunstancia no está expuesta o no reacciona con el lixivante. La recuperación de una fracción dejará por lixiviar un peso P_t , que en función del tiempo vendrá dada por:

$$R = (dP_t/dt) = -K \cdot P_t \quad [20]$$

donde la constante K viene expresada en una unidad de tiempo inverso. Integrando esta ecuación desde P_0 , a $t=0$, a P_t , a un tiempo t , la fracción de P_0 que queda por lixiviar, f_t , viene dada por:

$$f_t = (P_t/P_0) = e^{-Kt} \quad [21]$$

y la fracción lixiviada, f , en el tiempo t será igual a:

$$f = 1 - (P_t/P_0) = (P/P_0) = 1 - e^{-Kt} \quad [22]$$

donde P es el peso de metal extraído en el tiempo t , es decir, $P_0 - P_t$. Así:

$$\ln (1-f) = -Kt \quad [23]$$

o, lo que es lo mismo:

$$\log (1-f) = -K't \quad [24]$$

Así, para el caso que nos ocupa, la representación semilogarítmica de $1-f$ frente al tiempo se ajusta, para cada una de las columnas, a dos rectas de diferente pendiente de acuerdo con las figuras 119, 120, 121, 122, 123 y 124. En la Tabla XVIII se recogen los valores de las pendientes correspondientes a cada una de las fases. En ella podemos comprobar como la cinética del proceso varía de unas columnas a otras, fundamentalmente debido a la 1ª fase, es decir, durante la actuación bacteriana. En la 2ª fase, la cinética del proceso es muy parecida en todos los casos, lo que significaría que estaría controlada por la superficie expuesta al ataque y por la accesibilidad de la solución lixivante. Esto estaría de acuerdo con lo discutido anteriormente donde se refiere el mecanismo de disolución del uranio a través de varias etapas. En este caso, durante las dos semanas iniciales se estarían produciendo las tres fases iniciales del proceso de disolución. A partir de este momento, el mecanismo cambia como lo demuestra ese cambio en las pendientes en las figuras 119 a 124.

Tabla XVIII. Valores de las pendientes (K'), obtenidas a partir de la ecuación [24], para las columnas ensayadas.

COLUMNA	PVC-1	PVC-2	PVC-3	PVC-4	PVC-5	PVC-6
1ª FASE	0.299	0.277	0.250	0.212	0.248	0.279
2ª FASE	0.024	0.018	0.023	0.022	0.025	0.020

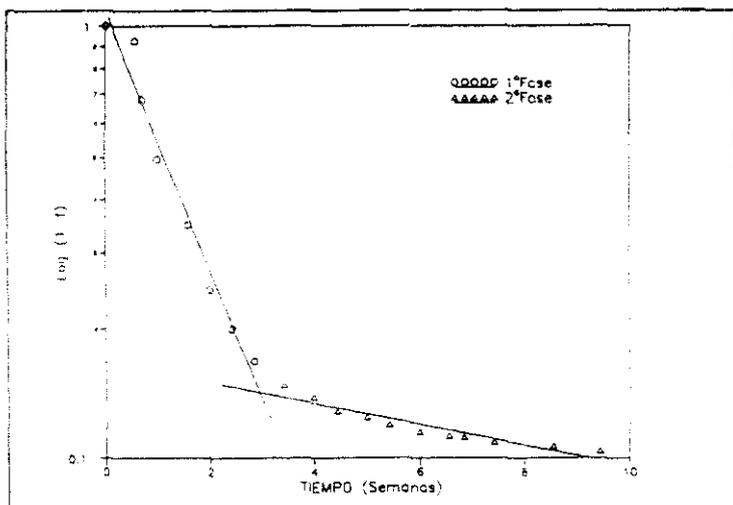


Figura 119. Representación semilogarítmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-1.

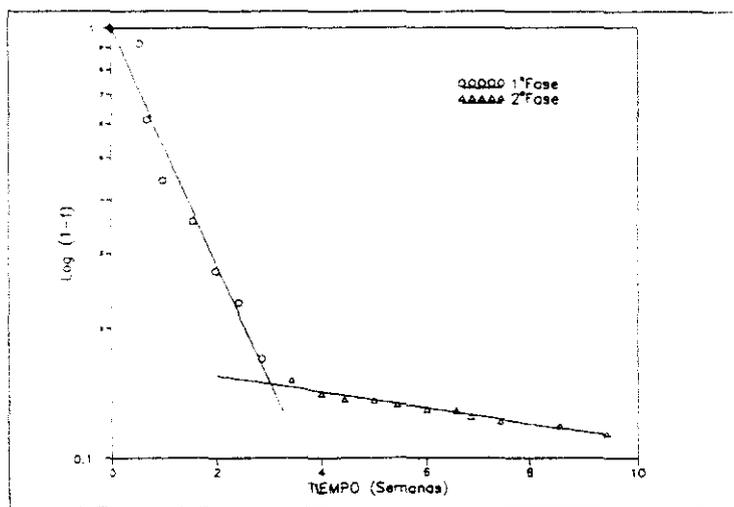


Figura 120. Representación semilogarítmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-2.

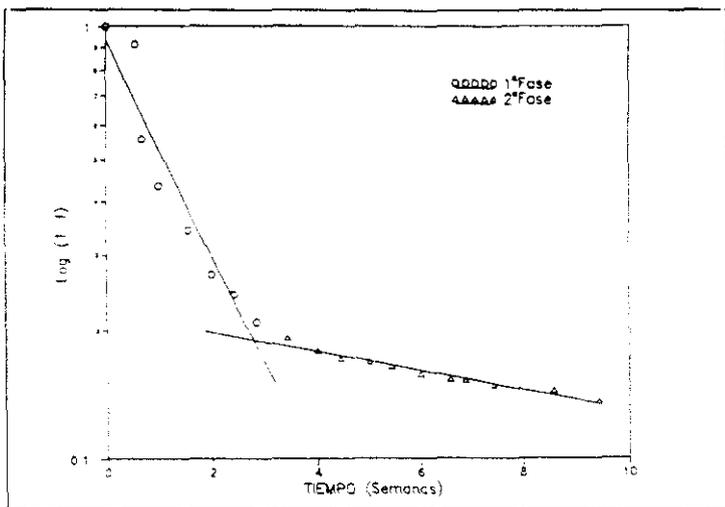


Figura 121. Representación semilogarítmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-3.

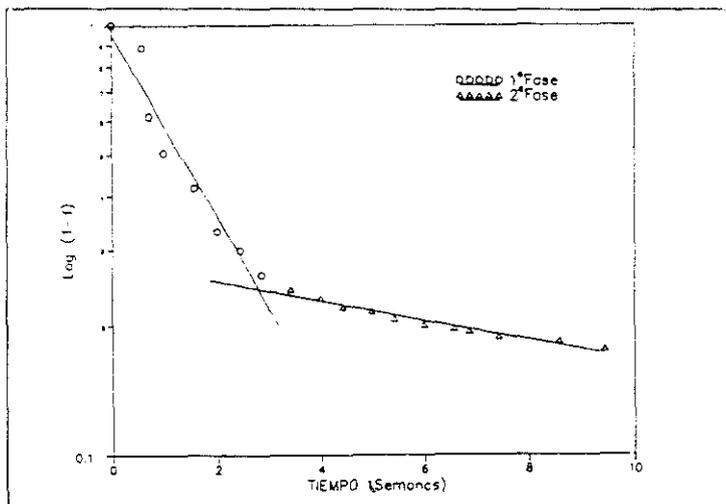


Figura 122. Representación semilogarítmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-4.

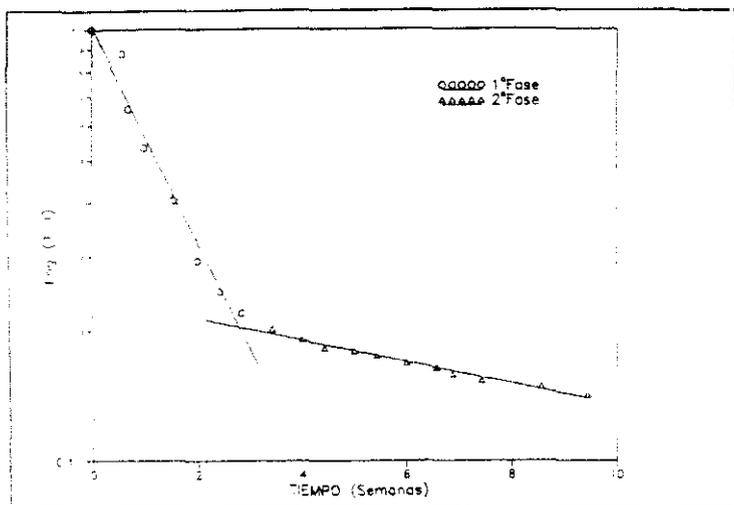


Figura 123. Representación semilogarítmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-5.

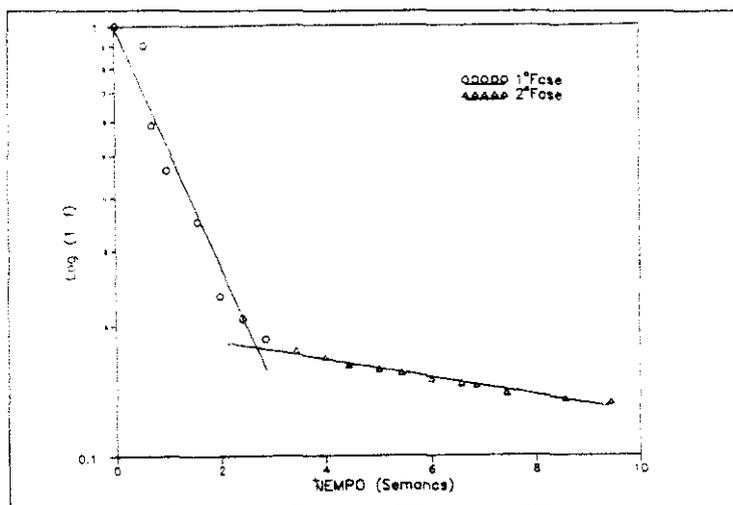


Figura 124. Representación semilogarítmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-5.

Desde otro punto de vista, el único tratamiento cuantitativo correspondiente a las cinéticas de disolución del uranio por lixiviación en montón se debe a Cordero y col. (167). Ellos encontraron que, en los casos en los que la extracción es eficiente, las curvas son hiperbólicas y están descritas por una ecuación general del tipo:

$$y = t/(A+B.t) \quad [25]$$

donde: $y = \%U_3O_8$ extraído, $t =$ tiempo (semanas), y A y B son constantes que dependen del mineral. Usualmente, A tiene valores entre 0.01 y 0.03, y B entre 0.01 y 1.0. Dicha ecuación puede ser reajustada para dar una ecuación lineal:

$$(t/y) = A + B.t \quad [26]$$

Así se ha comprobado (167) que, en la representación de éstos datos, existe una estrecha correlación entre ensayos realizados con 150 kg de mineral y los resultados obtenidos en era.

Con este propósito, se realizó la representación de la ecuación [26] para los casos estudiados. En las figuras 125 y 126 se recogen los resultados obtenidos en cada una de las columnas, observándose un comportamiento lineal de acuerdo con la ecuación [26]. Los valores de A y B fueron, en cada caso, los mostrados en la Tabla XIX, los cuales se calcularon a partir de las pendientes y ordenadas en el origen de las líneas correspondientes.

Tabla XIX. Valores de A y B , obtenidos a partir de la ecuación [26], para las columnas ensayadas.

COLUMNA	PVC-1	PVC-2	PVC-3	PVC-4	PVC-5	PVC-6
A (Semanas/ $\%U_3O_8$)	0.0080	0.0066	0.0068	0.0085	0.0087	0.0062
B ($1/\%U_3O_8$)	0.0101	0.0107	0.0112	0.0118	0.0110	0.0105

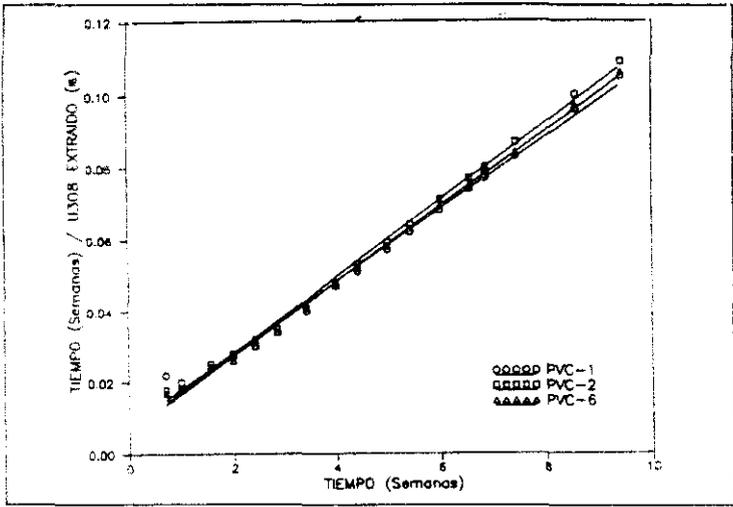


Figura 125. Representación de $(t/\%U_3O_8)$ frente al tiempo para los ensayos inoculados.

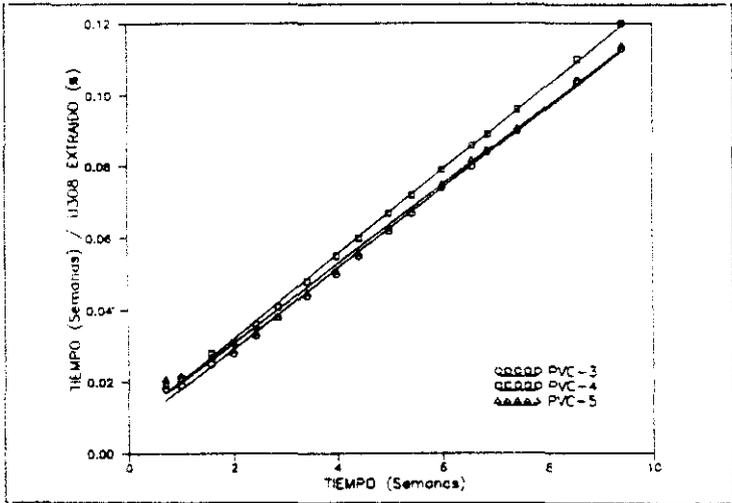


Figura 126. Representación de $(t/\%U_3O_8)$ frente al tiempo para los ensayos no inoculados.

5.2. Ensayos con cultivos puros

En un principio se aceptó que *Thiobacillus ferrooxidans* era el principal microorganismo que catalizaba la lixiviación bacteriana, en ambientes naturales a temperaturas próximas a 40°C (60,155,169). No obstante, este punto de vista se modificó más tarde al haberse establecido que junto a *Thiobacillus ferrooxidans*, también *Thiobacillus thiooxidans* contribuía a la lixiviación bacteriana de sulfuros (64). Por último, hoy se acepta que, en sistemas naturales, la biolixiviación es debida a *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* y otros microbios acidófilos, aún por definir (49). Si bien, a temperatura ambiente, las tres especies nombradas en primer lugar son las más importantes. A pesar de todo, este crecimiento simbiótico es un fenómeno complejo que en la actualidad no se conoce totalmente.

Como ya se ha comentado, el cultivo natural, procedente del agua de mina de la instalación de Saelices el Chico, contenía éstas tres especies microbianas entre los componentes de su población. Así pues, para conocer la participación de éstos microorganismos, tanto en cultivos puros como en mezclas, en el proceso de disolución del uranio, se desarrollaron una serie de experimentos preliminares en incubador que, al igual que con el cultivo natural, se completaron con ensayos en columnas.

5.2.1. Ensayos en incubador

Planificación de los ensayos

El estudio de la influencia de distintos parámetros en el proceso de disolución del uranio, a nivel de ensayos en incubador con cultivos naturales, reflejó que la variable que más influencia tenía en el proceso era la temperatura. Así pues, se eligió a ésta como la variable que nos permitiese establecer las condiciones óptimas de funcionamiento de cada uno de los cultivos aislados, tanto puros como en mezclas, para, posteriormente, comparar los resultados obtenidos con los del cultivo natural.

De esta forma, las condiciones de partida de todos los ensayos fueron las mismas que entonces, esto es:

* Densidad de pulpa: 5% (5 g de mineral de la mina FE no alterado (<180µm), con 95 ml de medio D2 y 5 ml de inóculo).

* pH: Se le dejó evolucionar libremente y se midió con papel tornasol para evitar contaminaciones en los cultivos puros.

* Inóculo: Cultivos puros

Thiobacillus ferrooxidans

Thiobacillus thiooxidans

Leptospirillum ferrooxidans

Cultivos mixtos

Binarios:

T.ferrooxidans con *T.thiooxidans*

T.ferrooxidans con *L.ferrooxidans*

T.thiooxidans con *L.ferrooxidans*

Ternario:

T.ferrooxidans con *T.thiooxidans* y *L.ferrooxidans*

* Condiciones asépticas, para evitar la contaminación de los cultivos.

* Ensayos por duplicado.

La única variable que se modificó, junto con el tipo de cultivo, fue la temperatura la cual se fijó en 15, 25, 30, 35, 40, y 45°C, para cada uno de los ensayos.

Influencia de la temperatura

Durante las operaciones de biolixiviación en montones tienen lugar, normalmente, cambios de temperatura de unas zonas a otras del mismo que pueden afectar de manera distinta a la flora existente, favoreciendo la actuación de determinados cultivos bacterianos y, de esta manera, acelerando, en mayor o menor medida, el proceso de disolución de los metales contenidos.

Cada especie microbiana se caracteriza, entre otras cosas, por presentar un intervalo de temperatura de crecimiento bien definido, el cual está determinado por una **temperatura mínima**, por debajo de la cual no se produce la actividad biológica, por una **temperatura óptima** a la que el desarrollo bacteriano es el más rápido y por una **temperatura máxima** por encima de la cual no es posible el crecimiento (figura 127). Aunque éstas tres temperaturas son, generalmente, características de cada tipo de organismo, pueden modificarse por distintos factores ambientales y nutricionales.

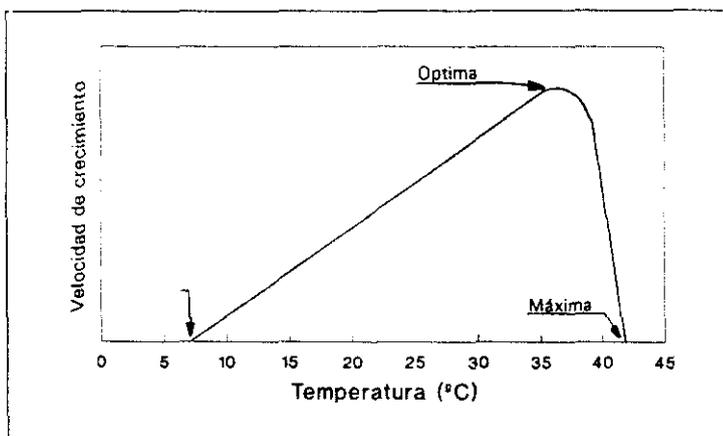


Figura 127. Efecto de la temperatura sobre la velocidad de crecimiento de las bacterias.

**** *Thiobacillus ferrooxidans*:** En la figura 128 se ha representado el efecto de la temperatura sobre la capacidad de biolixiviación de un cultivo puro de *Thiobacillus ferrooxidans* aislado a partir del cultivo natural. En ella, se comprueba una mejor actividad del cultivo cuando opera a temperaturas inferiores a 35°C. con una temperatura óptima próxima a éste valor. Esto está de acuerdo con otras referencias bibliográficas (92,94,163,169,170) que establecen el carácter mesófilo de la bacteria *T.ferrooxidans*, con una temperatura óptima entre 25 y 35°C, o entre 30 y 35°C. El hecho de que esta temperatura no se haya definido con precisión, se debe a que está sujeta a variaciones fisiológicas entre cultivos y a que depende, además, de las condiciones medioambientales existentes; así, se ha comprobado que al aumentar el pH, la temperatura óptima se incrementa, siendo de 33°C a pH 2.5 y de 30°C a pH 1.5 (171). Lo cual viene apoyado por el hecho de que al aumentar el pH, la adherencia del uranio a los componentes celulares es menor y, por consiguiente, también su toxicidad (72).

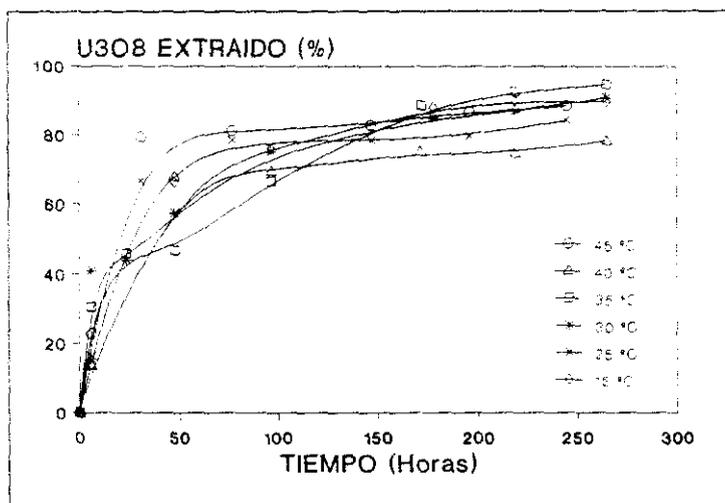


Figura 128. Influencia de la temperatura: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con un cultivo puro de *Thiobacillus ferrooxidans* a las temperaturas de 15, 25, 30, 35, 40 y 45°C.

En los procesos de lixiviación bacteriana, las condiciones de lixiviación óptimas se pueden establecer de dos maneras diferentes: desde una perspectiva microbiológica, tratando de conseguir las condiciones idóneas para el desarrollo bacteriano, o bien considerando la mejora del proceso desde el punto de vista metalúrgico y tendiendo a que la cinética del proceso de disolución metálica sea máxima.

Normalmente, la temperatura óptima para el desarrollo de un cultivo dado coincide con la velocidad máxima de extracción metálica, de acuerdo con el modelo de Monod. En este caso, la valoración que se haga del proceso, ya sea microbiológica ó metalúrgica, es indistinta, puesto que entre ambos tratamientos existe una total correspondencia. No obstante, por las propias características del proceso de biolixiviación, esto no siempre es así y puede ocurrir que siendo la actividad bacteriana máxima, el proceso de disolución del mineral de uranio, en condiciones similares, no alcance los rendimientos más favorables, como consecuencia, principalmente, de la formación de precipitados tipo jarosita, como ya se ha comentado anteriormente.

Sin embargo, se ha comprobado que trabajando con el mineral de FE, cuando se utiliza como medio lixivante uno diluido en sales como el medio D2, a diferencia de lo que ocurre con los medios concentrados, las condiciones desfavorables, en cuanto a la precipitación de compuestos secundarios, se eliminan y puede considerarse que la cinética de extracción del uranio coincide con el desarrollo bacteriano a lo largo del proceso.

Así pues, a continuación se hará referencia a la temperatura óptima, para cada uno de los cultivos aislados, como aquélla a la que la lixiviación microbiológica del mineral está más favorecida y, por consiguiente, la misma debe ser una medida de la actividad bacteriana reinante durante el proceso.

El efecto de la temperatura para cada uno de los cultivos utilizados, fue el siguiente:

Por su parte, la temperatura máxima del *T.ferrooxidans*, según estudios bibliográficos (170,171), es aproximadamente de 42-43°C, aunque algunas cepas ya muestran inhibición a partir de los 37°C (172). En el otro extremo, la temperatura mínima no está perfectamente definida; no obstante, se ha demostrado (171) que la oxidación del hierro ocurre a temperaturas tan bajas como 5 ó 6°C, mostrando un crecimiento substancial incluso a temperaturas tan bajas como 4°C (173). Así, por lo que al cultivo puro de *T.ferrooxidans* estudiado se refiere, el comportamiento a 40°C, con una extracción más baja, parece indicar una temperatura máxima de crecimiento próxima a este valor, si bien a 45°C se observan recuperaciones de metal algo superiores, como consecuencia, probablemente, de un efecto químico mayor. Por el otro lado, a 15°C, la bacteria ha crecido perfectamente, lo que indica tolerancia a temperaturas incluso aún más bajas. En éste sentido, se han aislado cultivos psicrófilos puros de *T.ferrooxidans*, capaces de desarrollarse a 8°C, con recuperaciones de uranio del 98% (101,105,174).

** *Thiobacillus thiooxidans*: El cultivo puro de *Thiobacillus thiooxidans* dió lugar, por lo general, a unas recuperaciones de uranio más bajas que las obtenidas con el cultivo de *T.ferrooxidans*, en las mismas condiciones y a las diferentes temperaturas ensayadas (figura 129). Esto fue debido a que los cultivos puros de *T.thiooxidans*, generalmente, son más sensibles a metales en solución que los cultivos puros de *T.ferrooxidans* y *L.ferrooxidans* (175); además, en cultivos puros, *T.thiooxidans* es incapaz de oxidar la pirita (176). A la vista de la figura, parece que la temperatura óptima de crecimiento del cultivo se situó en valores próximos a los 25°C, mostrando una sensibilidad mayor que el *T.ferrooxidans* a temperaturas superiores a 30°C y a temperaturas próximas a 15°C. Esto está de acuerdo con la bibliografía (169,176) que establece que *T.thiooxidans* tiene una temperatura óptima próxima a los 30°C. No obstante, a 40°C la actuación del cultivo estuvo favorecida con respecto a las temperaturas de 30 y 35°C. La literatura (172) establece que el *Thiobacillus thiooxidans*, una bacteria acidófila que oxida el

azufre, no crece incluso a 40°C, por lo que la solubilización del uranio se habría producido más por un mecanismo químico que por uno biológico. Esto también parece ocurrir a 45°C donde debe existir ese efecto complementario (biológico y químico) pero sólo durante las primeras 30 horas, pasadas las cuales se debió producir una disminución de la actividad biológica, llegando incluso a la muerte bacteriana, tal y como se comentará más adelante.

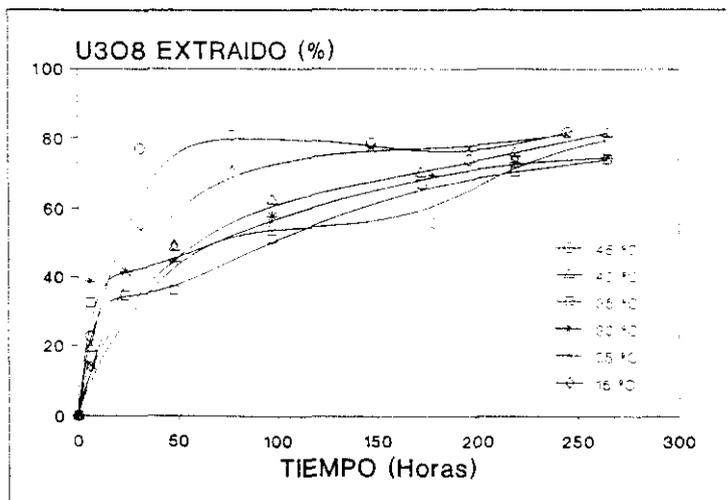


Figura 129. Influencia de la temperatura: Comparación del % de U₃O₈ disuelto en ensayos inoculados con un cultivo puro de *Thiobacillus thiooxidans* a las temperaturas de 15, 25, 30, 35, 40 y 45°C.

**** *Leptospirillum ferrooxidans*:** Los ensayos realizados con el cultivo puro de *L.ferrooxidans* mostraron los peores resultados (figura 130). La explicación de esto hubo que buscarla en la propia naturaleza del microorganismo, el cual necesita, para subsistir, ambientes ácidos (más ácidos incluso que el *T.ferrooxidans*); dado que la experimentación se llevó a cabo dejando evolucionar libremente el pH, con objeto de evitar la disolución química del mineral,

parece lógico pensar que el microorganismo no logró acomodarse al medio. Así, la aparición de un período de inducción en la mayor parte de los ensayos estaría indicando una adaptación previa del cultivo, que parece ser menor para una temperatura de 25°C. Es decir, el cultivo de *L.ferrooxidans*, en estas condiciones, tendría una temperatura óptima próxima a este valor. De la misma forma que para *T.thiooxidans*, el comportamiento del cultivo a 40°C fue similar al comportamiento a 25°C probablemente por la superposición de efectos biológicos y químicos y, por consiguiente, esta fue más favorable que las otras temperaturas intermedias, 30 y 35°C; la evolución a 45°C fue similar a los casos de otras bacterias anteriormente descritos, con un aporte importante del mecanismo químico, también a esta temperatura. Aunque no se ha determinado la temperatura óptima para muchos cultivos de esta especie, en algunos está próxima a los 30°C (176).

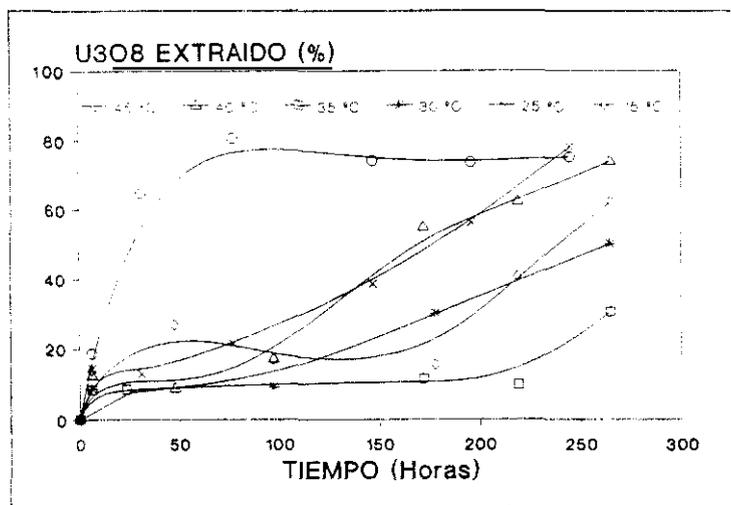


Figura 130. Influencia de la temperatura: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con un cultivo puro de *Leptospirillum ferrooxidans* a las temperaturas de 15, 25, 30, 35, 40 y 45°C.

Otro aspecto a considerar es la capacidad de oxidación de compuestos inorgánicos; *L.ferrooxidans*, a diferencia de *T.ferrooxidans*, sólo es capaz de crecer con facilidad en sistemas donde está presente el Fe^{2+} (169). Dado que crece con dificultad sobre sulfuros metálicos, la existencia de pirita en el mineral no constituye una fuente de energía primaria para dicho microorganismo, siendo necesaria la presencia de otras especies para alcanzar un buen desarrollo bacteriano. Especies compatibles con *L.ferrooxidans* pueden ayudar produciendo hierro ferroso y actuar en el proceso de disolución del uranio, como se mostrará posteriormente

En opinión de algunos autores (173), las bacterias del género *Leptospirillum* pueden usarse con igual éxito que *T.ferrooxidans*. En algunos casos, el uso de especies *leptospirilli* parece ser preferible debido a sus características bioquímicas, ya que la concentración de hierro férrico que inhibe el crecimiento de *leptospirilli* es diez veces más alta que para *T.ferrooxidans* (42 frente a 3.1 mM de Fe^{3+}) (173,175). En adición, la alta tolerancia ácida de bacterias tipo *Leptospirillum* puede favorecer su crecimiento en estos ambientes pues su pH óptimo se sitúa en valores más bajos que para el *T.ferrooxidans*.

**** Mezclas de Thiobacillus ferrooxidans y Thiobacillus thiooxidans:** Este cultivo mixto mostró un comportamiento muy parecido al del cultivo puro de *Thiobacillus ferrooxidans* (figura 131), con una temperatura óptima de crecimiento en torno a los 30-35°C. Los resultados del ensayo a 15°C fueron extrañamente buenos. Esto pudo deberse, en una parte, a la utilización de una cantidad de inóculo doble de la normalmente empleada. Además, la inoculación con un volumen doble introduce más ácido e hierro férrico al sistema, favoreciendo la reacción en los primeros instantes. En cualquier caso, estas justificaciones no avalan por sí solas estos excelentes resultados que en principio contradicen el comportamiento general del cultivo utilizado. Finalmente, el error experimental es descartable al haberse realizado el ensayo por duplicado.

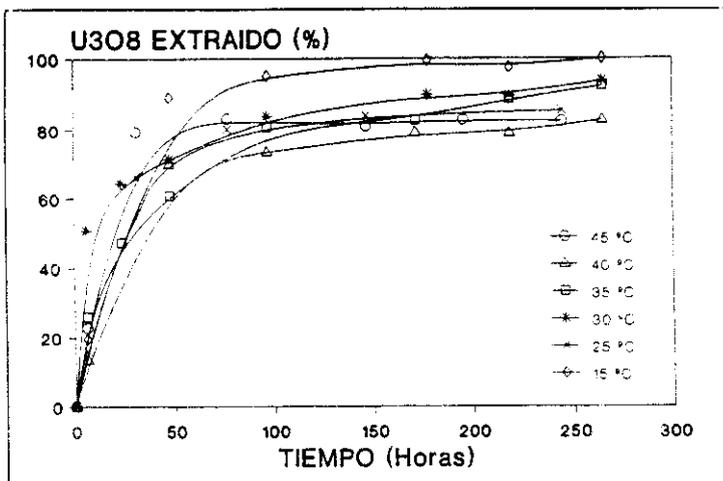


Figura 131. Influencia de la temperatura: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con un cultivo mixto de *Thiobacillus ferrooxidans* y *Thiobacillus thiooxidans* a las temperaturas de 15, 25, 30, 35, 40 y 45 °C.

Según Karavaiko y Moshniakova (13), la lixiviación de minerales con *T.ferrooxidans* se podría mejorar con *T.thiooxidans*. Esta suposición ha sido confirmada por estudios (64,172) en los que se ha demostrado que la velocidad de disolución del hierro de la pirita, con cultivos mixtos de *T.ferrooxidans* y *T.thiooxidans*, fue, generalmente, más rápida que la lixiviación con cultivos puros de *T.ferrooxidans*.

La ecología, y hasta cierto punto la fisiología, de *T.thiooxidans* es similar a la de *T.ferrooxidans*; y las asociaciones de éstos dos tipos de bacterias no son raras. *T.ferrooxidans* oxida los sulfuros metálicos más rápidamente que *T.thiooxidans*, así que los *thiobacilli* hierro-oxidantes tienden a ser dominantes (93). La oxidación del azufre por *T.thiooxidans* aumenta la acidez y contribuye a la aparición de *T.ferrooxidans* al generar condiciones medioambientales favorables. Esto explicaría, ese parecido comportamiento entre el cultivo mixto y el cultivo puro de la especie *T.ferrooxidans*, al que antes aludíamos.

**** Mezclas de *Thiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*:** Esta mezcla binaria volvió a mostrar recuperaciones de uranio similares a las observadas en los cultivos puros (figura 132). Se encontró una temperatura óptima entre 25 y 35°C, obteniéndose recuperaciones de uranio mayores a las obtenidas a 40 ó 45°C. La ampliación del intervalo de temperatura óptima, respecto al cultivo puro de *T.ferrooxidans*, se supone que es debida a una mayor participación, en este sistema, de la especie *L.ferrooxidans*. A 15°C volvieron a repetirse los resultados excepcionalmente buenos de apartados anteriores, manteniéndose la incertidumbre sobre la razón que motivó este comportamiento.

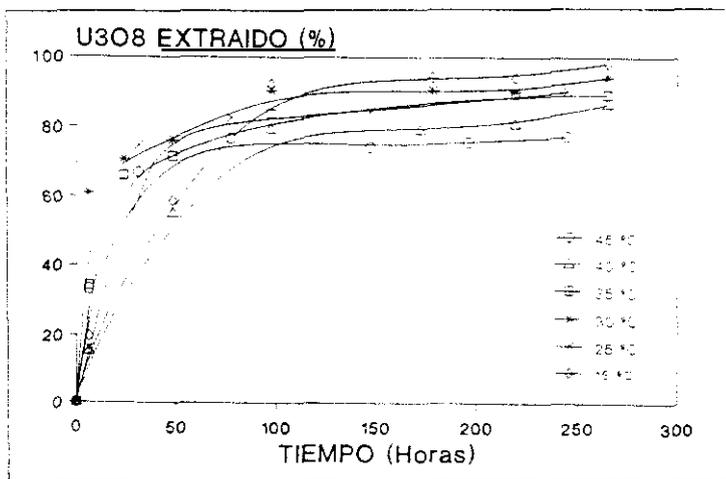


Figura 132. Influencia de la temperatura: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con un cultivo mixto de *Thiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* a las temperaturas de 15, 25, 30, 35, 40 y 45°C.

Un factor importante que favorece la presencia de *T.ferrooxidans* y/o *L.ferrooxidans* parece ser la temperatura del habitat. A 20°C. o por encima, los tiempos de generación de *leptospirilli* son comparables a los de *thiobacilli*. Sin embargo, a temperaturas más bajas, los

tiempos de generación de los primeros aumentan más que los de los últimos (60,173). Así, cuando la temperatura es baja, *T.ferrooxidans* puede crecer a expensas de una disminución de *L.ferrooxidans*. Este mismo efecto se manifiesta con el pH, aumentando la actividad de *T.ferrooxidans* en el cultivo mixto cuando el pH aumenta (176).

Si bien el crecimiento de *T.ferrooxidans* sobre Fe^{2+} es más rápido que el de *L.ferrooxidans*, sin embargo, la necesidad de Fe^{2+} por *L.ferrooxidans* es inferior a la del *T.ferrooxidans* y, ambas, oxidan la pirita a velocidades similares (169,173). De esta forma, en cultivos mixtos, *L.ferrooxidans* desplaza a *T.ferrooxidans* cuando la disponibilidad de Fe^{2+} es limitante (175), lo cual es aplicable también a la pirita, pues la afinidad de *L.ferrooxidans* por este sustrato es mayor que la de *T.ferrooxidans* (169). Así, la capacidad de *L.ferrooxidans* para competir con éxito con *T.ferrooxidans*, e incluso llegar a ser dominante durante el crecimiento de cultivos mixtos sobre pirita, podría derivarse de su mayor afinidad por el Fe^{2+} y más tolerancia a Fe^{2+} . Además, durante la oxidación bacteriana de la pirita la acidez se incrementa, lo que favorecerá aún más el desarrollo de *L.ferrooxidans*, pues dicha especie continúa actuando a niveles de pH inhibitorios para *T.ferrooxidans* (60). Es decir, *leptospirilli* son tan importantes como *thiobacilli* al menos en el mecanismo indirecto, vía Fe^{3+} .

Por lo que respecta a la toxicidad de metales, *L.ferrooxidans* es menos sensible que *T.ferrooxidans* a uranio, aunque *T.ferrooxidans* se adapta a concentraciones más altas (69,175). En adición, parece que los *leptospirilli* se adhieren a las superficies más fuertemente que las células de *T.ferrooxidans* (173). Como resultado de esto, el impacto de *L.ferrooxidans* será, usualmente, subestimado o, quizás, no detectado totalmente debido al bajo conteo de células libres en las soluciones.

**** Mezclas de *Thiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*: En**

la figura 133 se han recogido los resultados obtenidos con este cultivo mixto, obteniéndose las mejores extracciones de uranio a 25°C, de acuerdo con el comportamiento de los cultivos puros. Además, al igual que en aquéllos casos, se observó un comportamiento similar a 40°C, lo que estaría indicando una superposición beneficiosa de los efectos biológico y químico a dicha temperatura, que es más efectiva que a 30 ó 35°C y, por supuesto, que a 45°C. Por su parte, los resultados correspondientes al ensayo a 15°C siguen un comportamiento parecido al ya comentado con las otras mezclas.

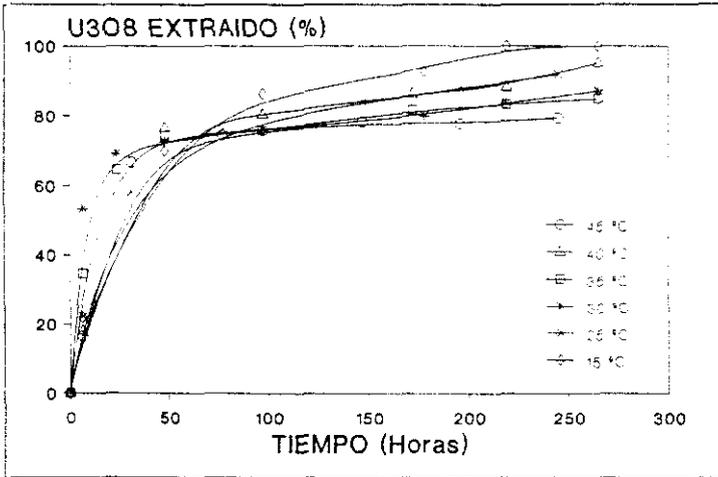


Figura 133. Influencia de la temperatura: Comparación del % de U_3O_8 disuuelto en ensayos inoculados con un cultivo mixto de *Thiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* a las temperaturas de 15, 25, 30, 35, 40 y 45°C.

Parece ser que, a diferencia de los cultivos mixtos de *L.ferrooxidans* y *T.ferrooxidans* en los que aparece el efecto competitivo entre los dos microorganismos (por su capacidad de oxidar el hierro), entre *L.ferrooxidans* y otros acidófilos que oxidan el azufre (*T.thiooxidans* o *T.acidophilus*) se da un efecto cooperativo (62,169). Esto se debe a que *Leptospirillum ferrooxidans*, en cultivos puros, crece muy bien en presencia de Fe^{2+} , no lo hace sobre azufre

lo hace con dificultad sobre sulfuros minerales. Sin embargo, la mezcla de *L.ferrooxidans* con *T.thiooxidans* degrada rápidamente la pirita desarrollándose poblaciones de microorganismos que actúan complementariamente: los primeros sobre el hierro y los segundos sobre el azufre.

**** Mezclas de Thiobacillus ferrooxidans, Thiobacillus thiooxidans y Leptospirillum ferrooxidans:** Esta mezcla ternaria fue la que tuvo un comportamiento más parecido en un intervalo de temperatura más amplio (figura 134). Es decir, entre 25 y 40°C, las recuperaciones de uranio fueron, en todos los casos, muy parecidas y, siempre, superiores a las obtenidas a 45°C. El ensayo a 15°C se realizó con una cantidad de inóculo tres veces superior a la normalmente utilizada, de ahí que su efecto produzca recuperaciones de uranio superiores a las obtenidas a las demás temperaturas, aunque su comportamiento siguió siendo anormalmente bueno.

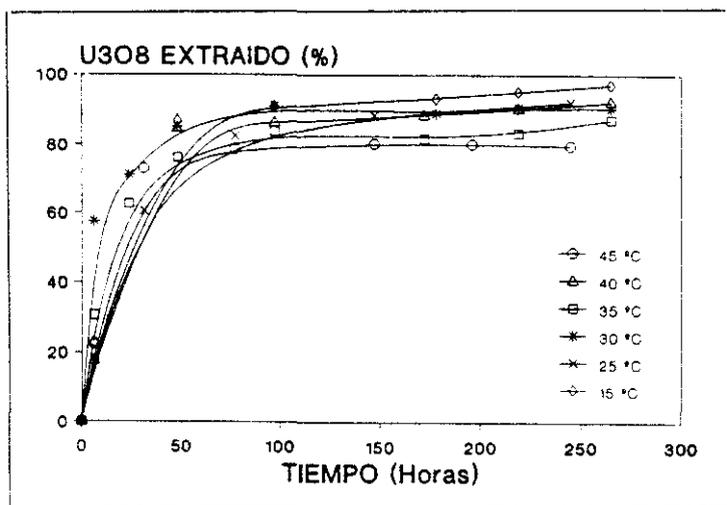


Figura 134. Influencia de la temperatura: Comparación del % de U₃O₈ disuelto en ensayos inoculados con un cultivo mixto de *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* a las temperaturas de 15, 25, 30, 35, 40 y 45°C.

Influencia de la naturaleza del inóculo

El objeto de este nuevo estudio fue el de determinar el comportamiento de los distintos cultivos aislados del agua de mina frente al cultivo natural: se trataba así de conocer la actuación de los microorganismos, tanto individualmente como en mezclas, en el proceso de disolución del mineral de uranio. Para ello, y dado que el número de ensayos era muy elevado, la comparación se estableció por separado entre los cultivos puros y mixtos frente al natural. Los resultados obtenidos a las diferentes temperaturas de trabajo fueron los siguientes:

**** 45°C:** A esta temperatura no se observó, ni por parte de los cultivos puros ni de las mezclas, una mejora del proceso de disolución del uranio con respecto al cultivo natural (figuras 135 y 136). No obstante, los cultivos puros que mejor se comportaron fueron los que dieron mayores extracciones al trabajar como cultivos mixtos (*T.ferrooxidans* y *T.thiooxidans*). El perfil de las curvas de disolución fue idéntico para todos los ensayos realizados: una subida muy pronunciada al comienzo (primeras 30 horas), que tendió a disminuir y a estabilizarse con el tiempo. Esto indica una primera etapa en la que la componente microbiológica de la lixiviación depende de la resistencia a la temperatura del cultivo utilizado (siendo mayor para el cultivo natural), dado que la componente química sería la misma en todos ellos. A tiempos mayores se produce un cese en la actividad bacteriana, como se desprende del trazado de las curvas de disolución del uranio, con una pendiente nula. Esto se corrobora con la evolución del pH, con una caída brusca al inicio de todos los experimentos, que se estabiliza a lo largo del tiempo en los cultivos aislados puros y que disminuye paulatinamente en el caso del cultivo natural (figuras 137 y 138). Esto supondría que a esta temperatura, la flora indígena tiene una mayor tolerancia a la temperatura y, por consiguiente, es más efectiva que los cultivos aislados. Lo cual coincide con otras referencias bibliográficas del tema (97,105).

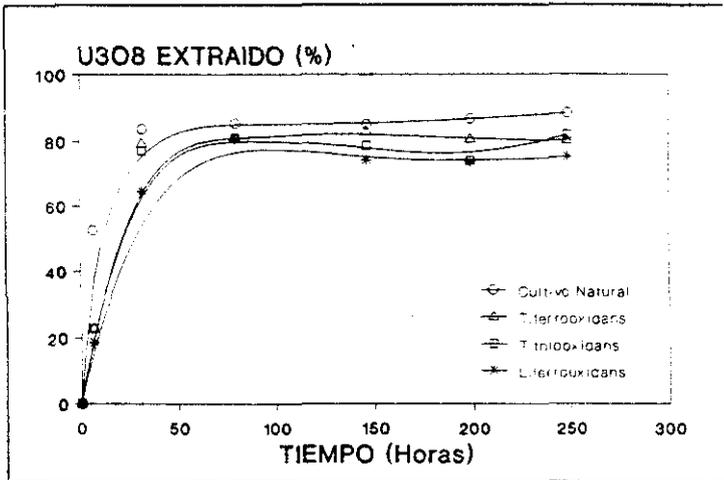


Figura 135. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disueltos en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $45^\circ C$ (cultivos puros).

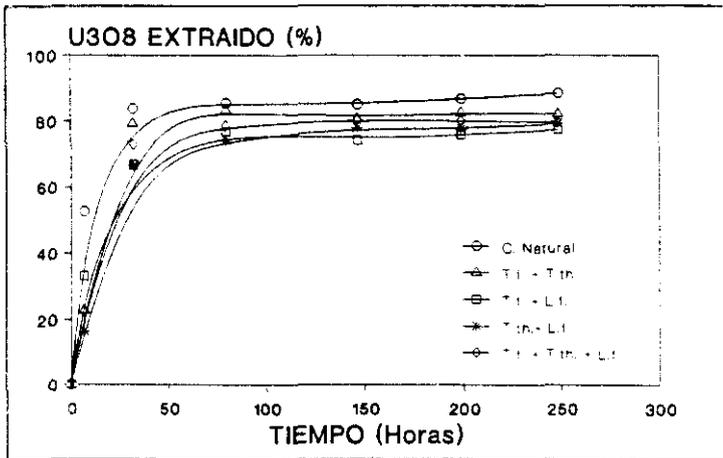


Figura 136. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disueltos en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $45^\circ C$ (cultivos mixtos).

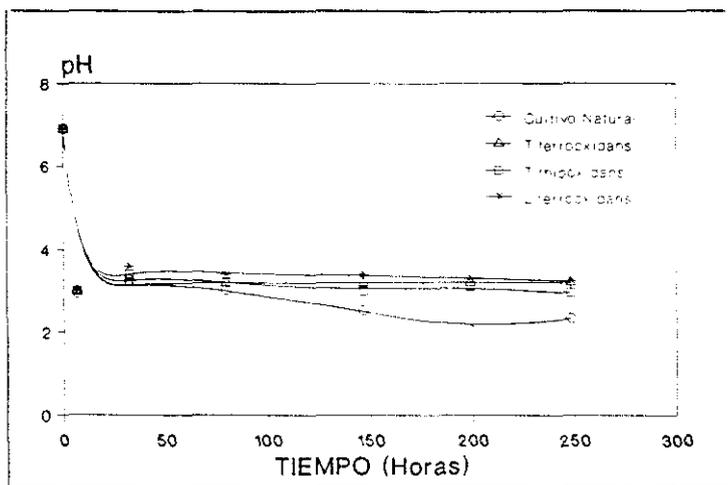


Figura 137. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 135.

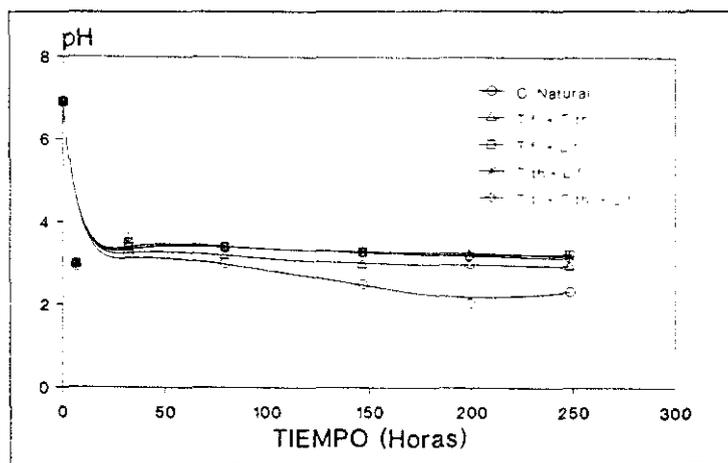


Figura 138. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 136.

Por tanto, a esta temperatura la actividad microbiana estuvo muy limitada y la componente química del ataque fue muy importante.

**** 40°C:** La extracción de uranio con el cultivo natural superó en todo momento la lograda con cualquiera de los cultivos aislados (figuras 139 y 140). Sin embargo, el mejor comportamiento de los cultivos puros de *T.thiooxidans* y de *L.ferrooxidans* propició una mayor recuperación con las mezclas que contenían éstos microorganismos. Las curvas de pH, para los cultivos mixtos, parecen indicar una mayor actividad bacteriana en las mezclas que contenían la especie *L.ferrooxidans* (figura 141). Para los cultivos puros, la dificultad de atacar la pirita por dicho microorganismo justificaría la evolución del pH en éstos sistemas (figura 142).

**** 35°C:** El cultivo natural siguió mostrando unas recuperaciones de uranio superiores a las obtenidas con los cultivos aislados a partir del mismo (figuras 143 y 144), si bien, el comportamiento del cultivo puro de *T.ferrooxidans* se aproximó bastante al comportamiento del cultivo natural. Además de éste cultivo, las mezclas de microorganismos llegaron a disolver cantidades de uranio significativamente altas y, también, muy parecidas a las del cultivo natural, en contraste con las obtenidas con los otros dos cultivos puros. Evidentemente, el peor funcionamiento del cultivo de *L.ferrooxidans*, dado que las mezclas de este microorganismo crecieron perfectamente, hay que buscarlo en una mala capacidad de oxidación de los sulfuros y, por lo tanto, de producción del oxidante Fe^{3+} al no haber Fe^{2+} en solución. Además, la producción de acidez no es posible al no haber capacidad de oxidación del azufre. La evolución de las curvas de pH (figuras 145 y 146) confirman este extremo, ya que, tanto para el cultivo puro de *T.ferrooxidans* como para las mezclas que contienen esta especie, los valores medidos son similares a los obtenidos con el cultivo natural, siendo, sin embargo, generalmente más altos cuando hay *L.ferrooxidans* en los inóculos.

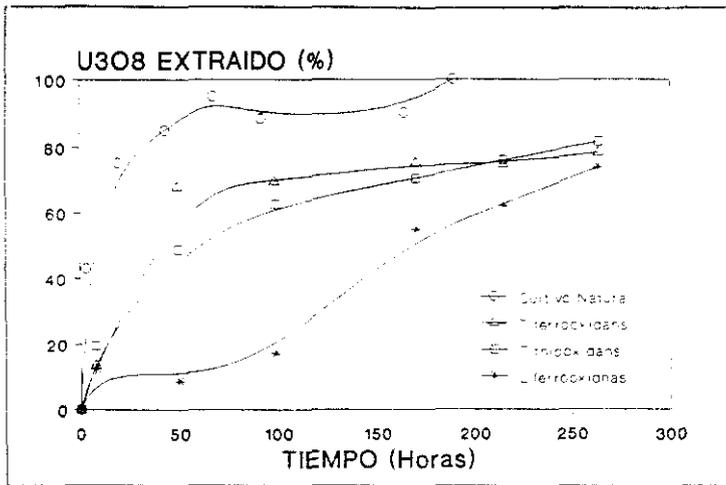


Figura 139. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $40^\circ C$ (cultivos puros).

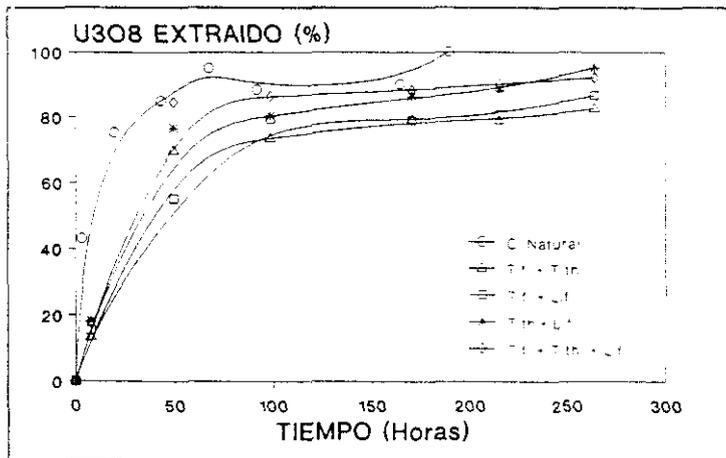


Figura 140. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $40^\circ C$ (cultivos mixtos).

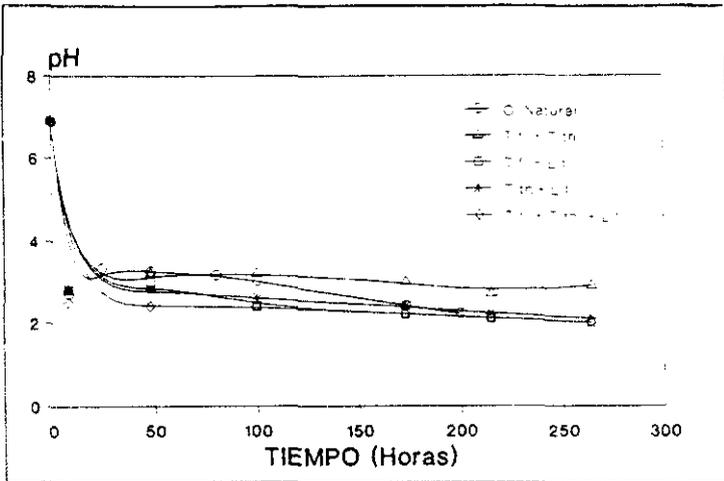


Figura 141. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 140.

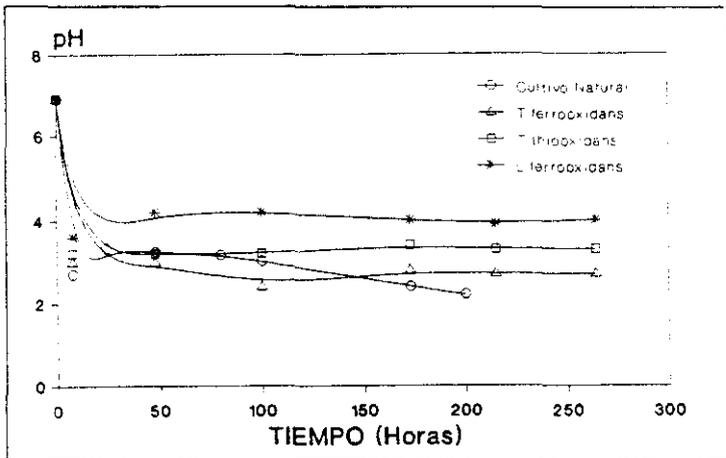


Figura 142. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 139.

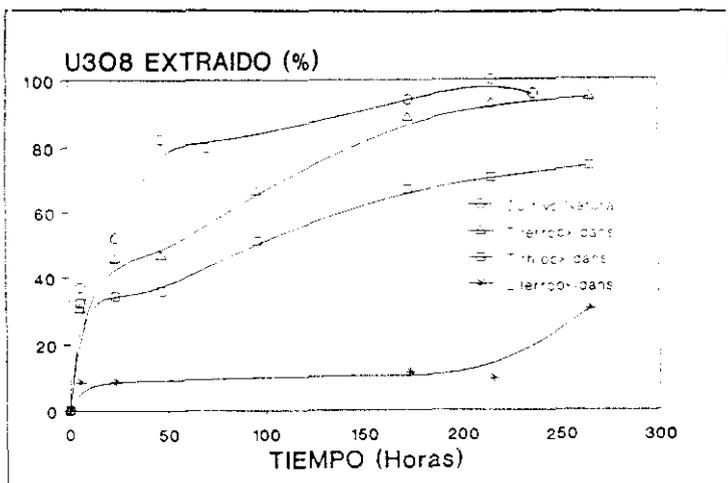


Figura 143. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $35^\circ C$ (cultivos puros).

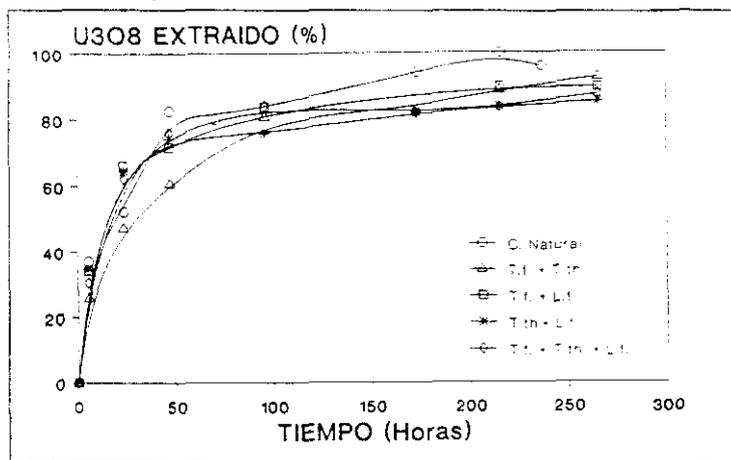


Figura 144. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $35^\circ C$ (cultivos mixtos).

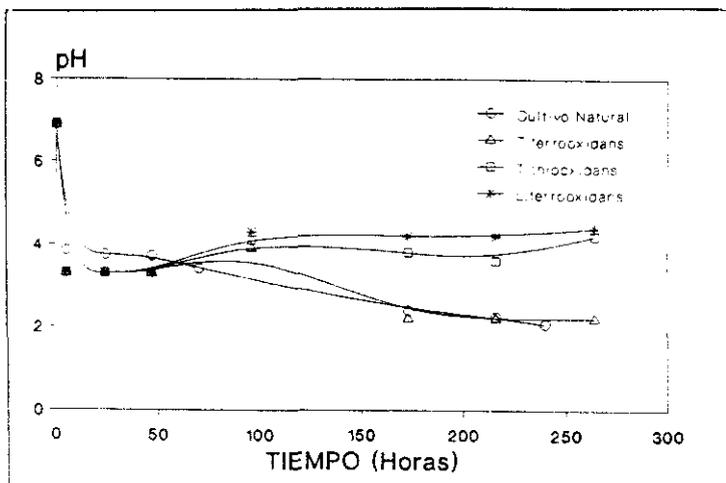


Figura 145. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 143.

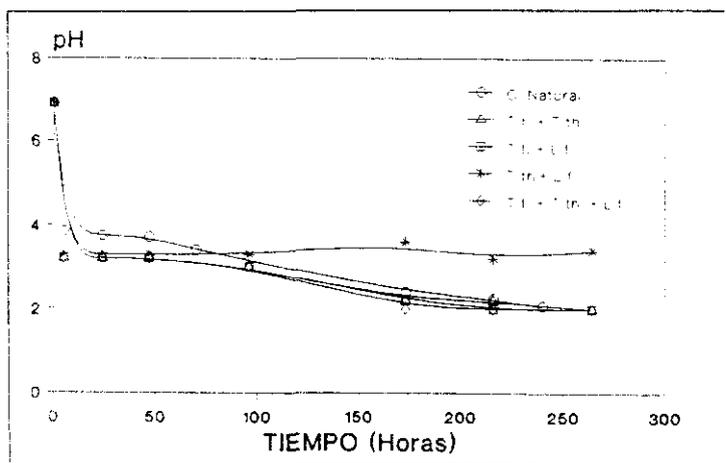


Figura 146. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 144.

**** 30°C:** La mejora en el proceso extractivo del uranio ya fue muy apreciable, tanto en las mezclas como en el cultivo puro de *T.ferrooxidans* (figuras 147 y 148). Se debe destacar el que se obtuvo un mejor rendimiento con las mezclas que contenían dicha especie bacteriana frente a aquellas en las que este microorganismo estuvo ausente, todo lo cual estuvo de acuerdo con las curvas de evolución del pH al comparar los cultivos naturales con los aislados a partir de él (figuras 149 y 150).

**** 25°C:** Se tuvo un comportamiento idéntico, sino mejor, de los cultivos puros de *T.ferrooxidans* y *T.thiooxidans* con respecto al cultivo natural, que se hizo extensible a las mezclas de microorganismos (figuras 151 y 152). En cualquier caso, las extracciones de uranio finales, con todos los cultivos aislados, fueron muy parecidas a las logradas con el cultivo natural. A esta temperatura, la actividad bacteriana del cultivo puro de *T.ferrooxidans* y de todas las mezclas empleadas fue superior a la lograda con el cultivo natural, como se desprende de las curvas de pH (figuras 153 y 154).

**** 15°C:** Las recuperaciones de uranio obtenidas con el cultivo puro de *T.thiooxidans* y, sobre todo, con el de *T.ferrooxidans* fueron muy superiores a las alcanzadas con el cultivo natural: el mismo efecto se tuvo con las diferentes mezclas ensayadas, aunque, en este caso, habría que considerar el efecto que tiene la cantidad de inóculo empleada, que en éstos casos, fue superior a la utilizada normalmente (figuras 155 y 156). Sin embargo, era de esperar, de acuerdo con los resultados anteriores, que los cultivos mixtos tuvieran un comportamiento muy parecido al del cultivo puro de *T.ferrooxidans*. Lejos de ello, el cultivo natural presentó una actividad bacteriana inferior a la del resto de cultivos aislados, como se desprende del trazado de las curvas de pH (figuras 157 y 158).

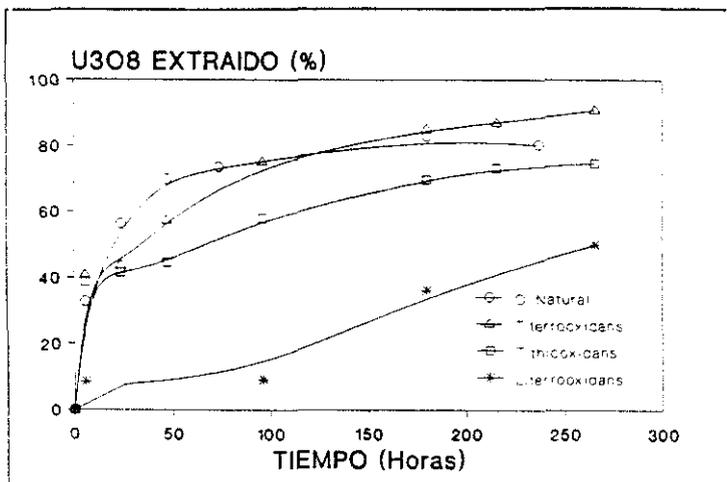


Figura 147. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $30^\circ C$ (cultivos puros).

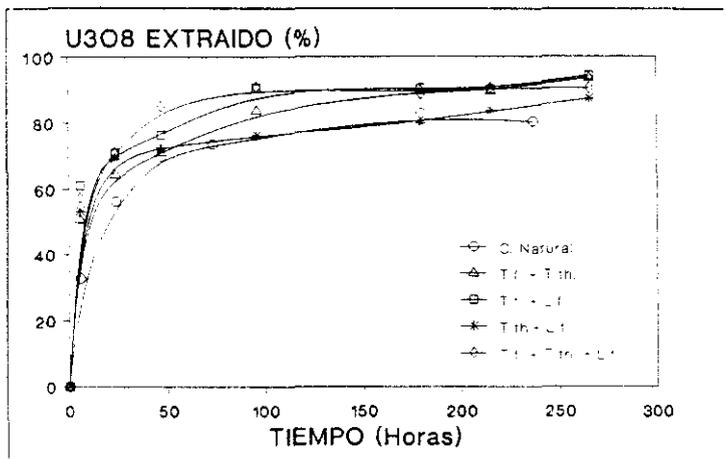


Figura 148. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $30^\circ C$ (cultivos mixtos).

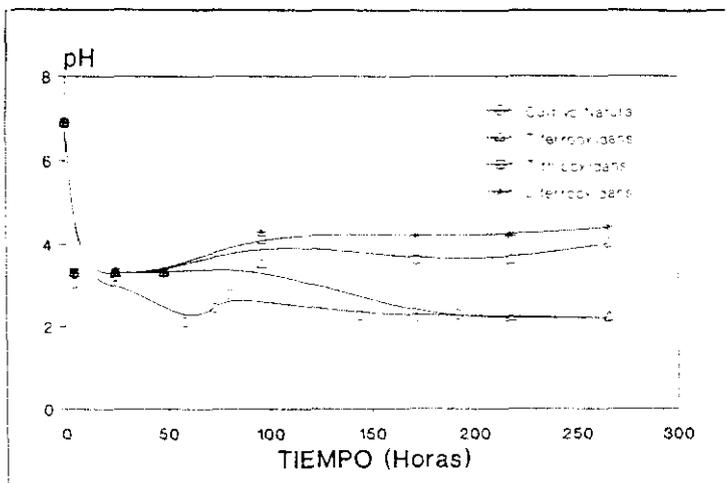


Figura 149. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 147.

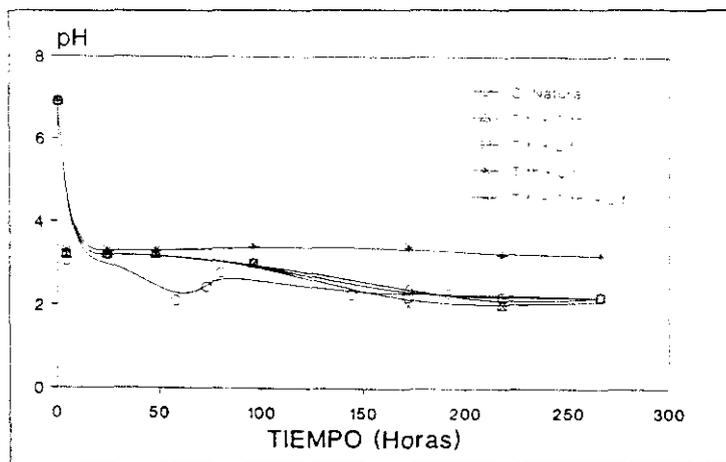


Figura 150. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 148.

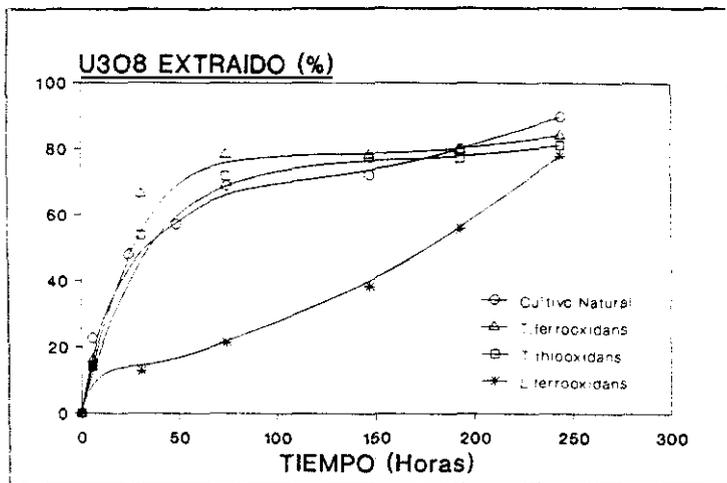


Figura 151. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $25^\circ C$ (cultivos puros).

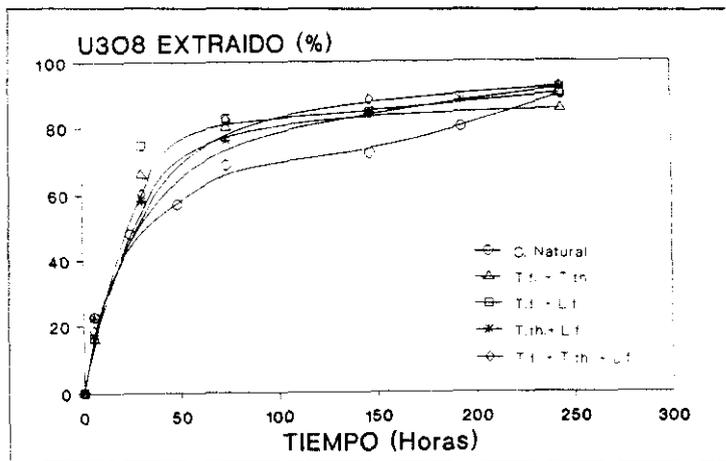


Figura 152. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $25^\circ C$ (cultivos mixtos).

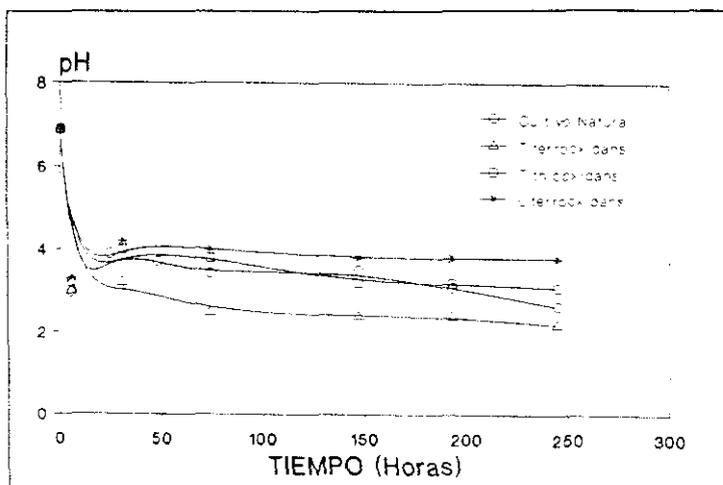


Figura 153. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 151.

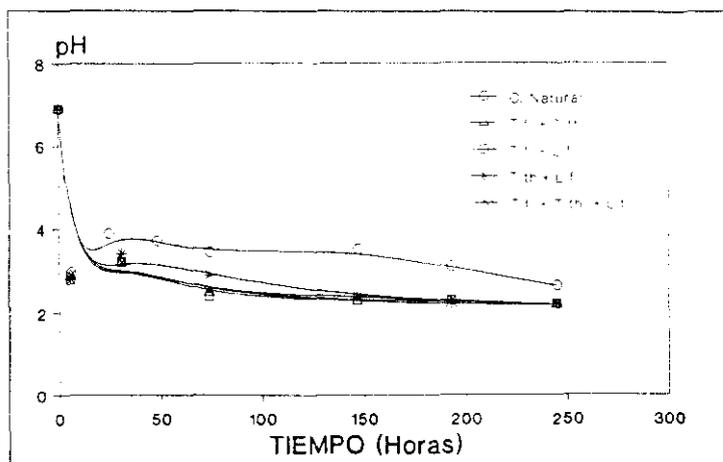


Figura 154. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 152.

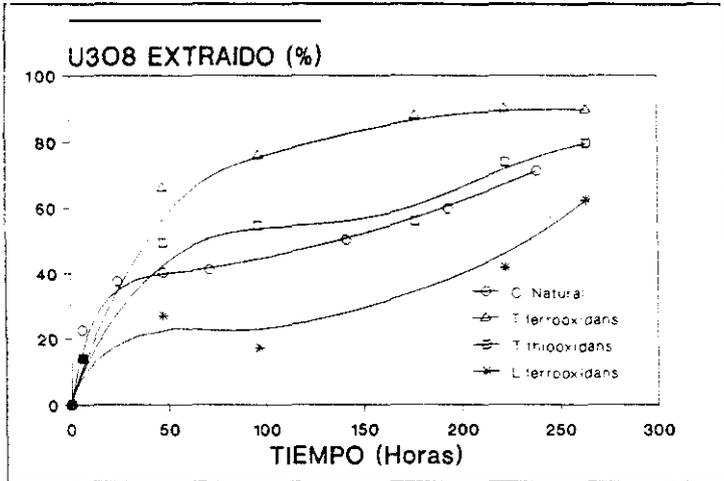


Figura 155. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $15^\circ C$ (cultivos puros).

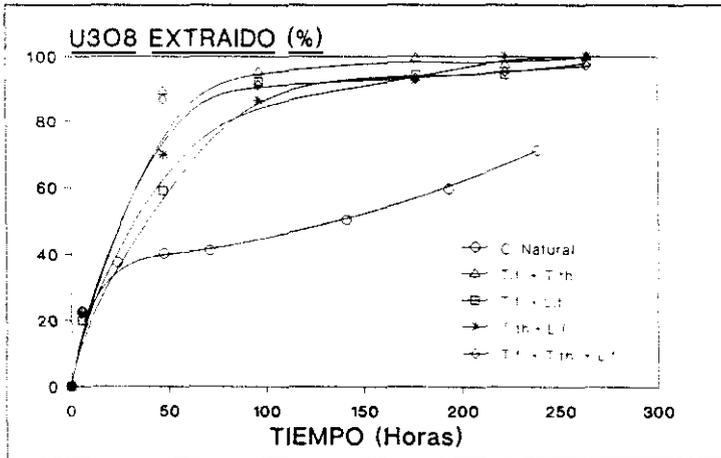


Figura 156. Influencia de la naturaleza del inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con diferentes tipos de cultivos a la temperatura de $15^\circ C$ (cultivos mixtos).

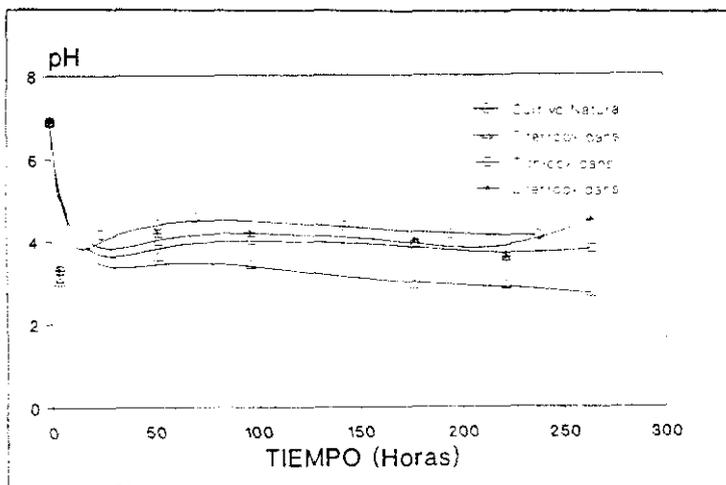


Figura 157. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 155.

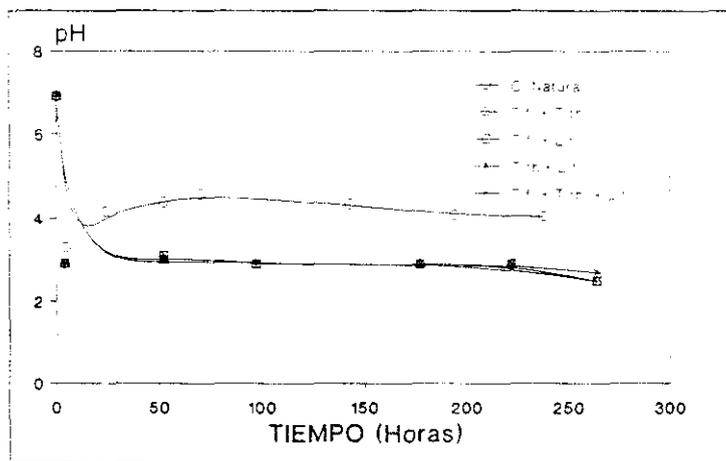


Figura 158. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 156.

En definitiva, se observó que entre 15 y 35°C, a diferencia de lo que ocurre con las mezclas, que tienen un comportamiento muy parecido, los cultivos puros divergen en gran medida, destacando los altos porcentajes de lixiviación obtenidos con el cultivo puro de *T.ferrooxidans* frente al de *L.ferrooxidans*, con un comportamiento intermedio (aunque más parecido al del *T.ferrooxidans*) del *T.thiooxidans*. Por el contrario, entre 40 y 45°C, las diferencias apuntadas fueron mucho más pequeñas.

Esto podría significar que la actividad microbiológica en una era estaría gobernada, fundamentalmente, por la especie *Thiobacillus ferrooxidans* y, que ésta se podría complementar con la participación de otras especies de parecida naturaleza.

Además, se ha demostrado que los cultivos indígenas son más resistentes al aumentar la temperatura de 15 a 45°C: contrariamente, en los cultivos aislados, la actividad bacteriana tiende a mejorarse a medida que la temperatura disminuye. Es decir, a temperaturas altas la disolución del mineral de uranio está más favorecida con cultivos naturales, mientras que a bajas temperaturas los cultivos aislados participan más activamente en el proceso de extracción del uranio. Dado que, como dijimos, las temperaturas alcanzadas en el interior del montón son altas, es evidente que el cultivo natural tendrá una mayor incidencia que los cultivos puros por separado. Si bien, la posible influencia de éstos cultivos, en habitats donde las condiciones hayan favorecido su desarrollo en detrimento de otras especies menos resistentes, tampoco debe descartarse.

5.2.2. Ensayos en columna de PVC (II)

Planificación de los ensayos

A partir de los resultados de los ensayos en incubador, que han sido discutidos en el apartado anterior, se eligieron un cultivo puro, una mezcla de dos bacterias y otra de tres para la realización de los ensayos de biolixiviación en columnas. De esta forma, los nuevos ensayos estuvieron dirigidos a conocer la influencia del tipo de inóculo. Se estudió el comportamiento del sistema cuando se utiliza: un cultivo puro de *Thiobacillus ferrooxidans*, un cultivo mixto de *T.ferrooxidans* y *T.thiooxidans* y una mezcla ternaria de *T.ferrooxidans*, *T.thiooxidans* y *L.ferrooxidans*. Con objeto de completar este estudio, en las mismas condiciones, se realizaron otros tres ensayos complementarios. Las condiciones de operación en cada una de las columnas utilizadas (6 en total) fueron las mostradas en la Tabla XVII.

Estudio de la actividad bacteriana

Por distintas razones ajenas a la propia investigación, el mineral utilizado en éstos ensayos fue muy distinto al empleado en los primeros ensayos en columnas (figura 7). Su descripción y caracterización se hizo en el apartado 4.1.1. La consecuencia más inmediata fue que la cinética del proceso de disolución del uranio disminuyó con respecto a la de aquéllos otros ensayos. Sin embargo, esto tuvo la contrapartida de permitir un mejor conocimiento del comportamiento de cada una de las columnas al variar las condiciones de operación, pues la diferencias existentes entre los ensayos se hicieron más patentes.

Un ejemplo de lo anterior se tiene al comparar los ensayos no inoculado (PVC-7) e inoculado con el cultivo natural (PVC-9), empleando en los dos casos, como vehículo lixivante, el medio nutriente diluido D2 de pH 7.5 (figura 159). Los resultados indican que el proceso de

extracción se favorece, en gran medida, cuando se realiza una inoculación previa en el sistema. El largo período de inducción (75 días) se debe a las condiciones medioambientales existentes (pH alto y baja temperatura); una vez que se actúa aumentando la temperatura y disminuyendo el pH (según se indicó en la Parte Experimental), el sistema responde disolviendo cantidades significativas de uranio, en un tiempo relativamente corto (25 días). Esta respuesta del sistema también se manifestó en una disminución del pH (figura 160), en un aumento de la concentración de hierro en disolución (figura 161), y en un aumento en el potencial del medio (figura 162). En relación a estas tres variables, la evolución de las dos curvas a partir de los 75 días de iniciado el experimento fue similar: aumento importante del hierro en disolución, bajada brusca del pH desde 7.0 a 2.5, y subida repentina del potencial desde 175 a 475 mV. Además, otro hecho significativo fue que, a partir de un cierto momento (140 días), el sistema auto-mantuvo las condiciones ácidas y oxidantes partiendo de una solución neutra. En este punto hay que hacer notar que pese a que la columna PVC-7 no se inoculó, ello no suponía que en la misma no existiesen colonias bacterianas autóctonas del mineral, pues su esterilización era imposible. De hecho, controles microscópicos realizados a diferentes efluentes confirmaron la presencia de microorganismos en esta columna. Es decir, la inoculación efectuada en la columna PVC-9 tuvo como objetivo principal reforzar el cultivo existente en el propio mineral y, de forma más acentuada, en la parte superior de la columna.

Cuando se compara la extracción de U_3O_8 en el ensayo inoculado con un cultivo natural (PVC-9) y en el no inoculado, pero utilizando como solución de riego la mezcla refinado y agua de río de pH 2.0 (PVC-8), se observa que si bien la recuperación de uranio fue, durante los días estudiados, similar en ambos casos, la tendencia en la columna PVC-8 fue a subir ligeramente la concentración de metal, mientras que en el ensayo inoculado se tuvo un crecimiento más pronunciado (figura 159). Así, si eliminamos el período de inducción en la columna inoculada (figura 163), podemos comprobar que la extracción de uranio estuvo en ella más favorecida. Además, la respuesta positiva del sistema no inoculado, en lo que a bajada del pH, disolución de

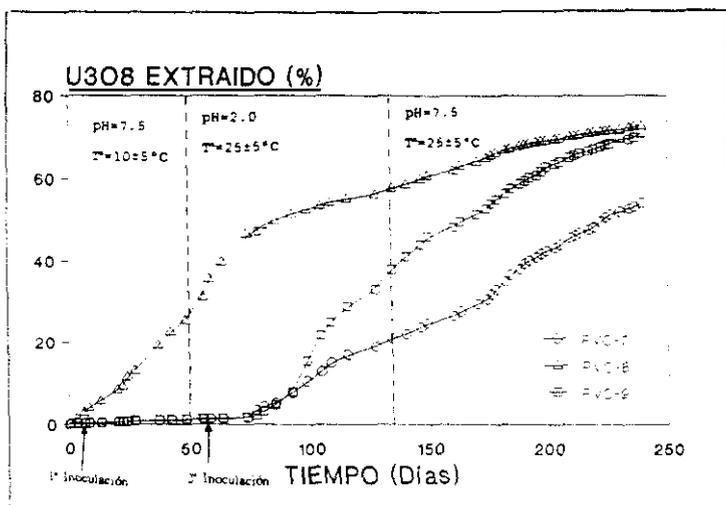


Figura 159. Influencia de la actividad bacteriana: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con el cultivo natural (PVC-9) y no inoculados (PVC-7), con medio D2 de pH 7.5 como líquido de riego, junto con la mezcla de agua de río y refinado de pH 2.0 (PVC-5).

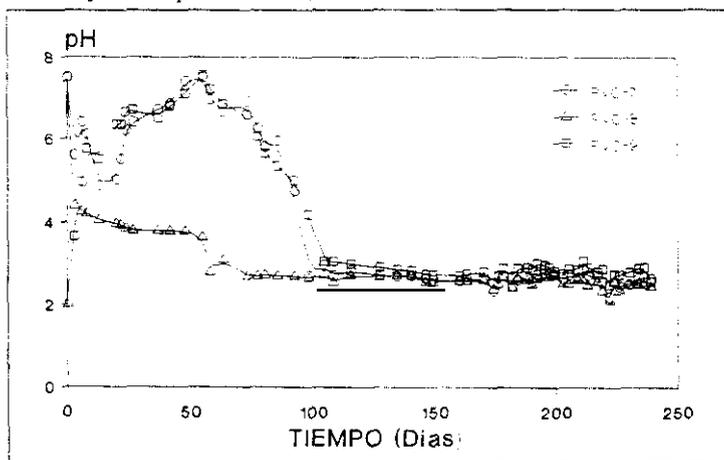


Figura 160. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 159.

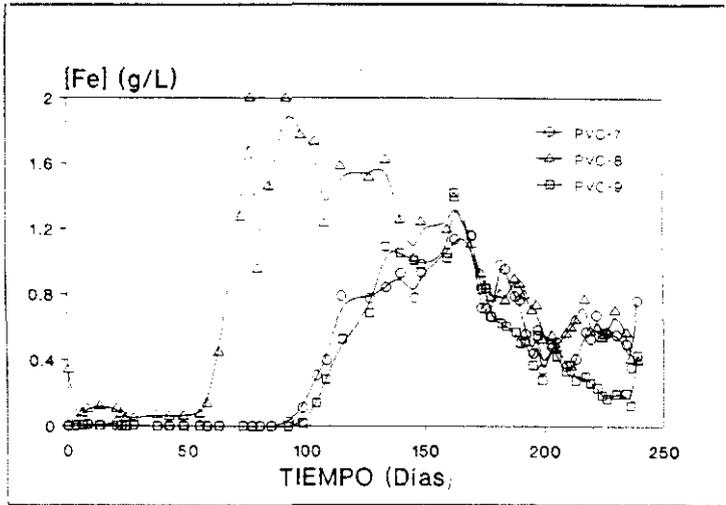


Figura 161. Cantidad de hierro disuelto en los ensayos representados en la figura 159.

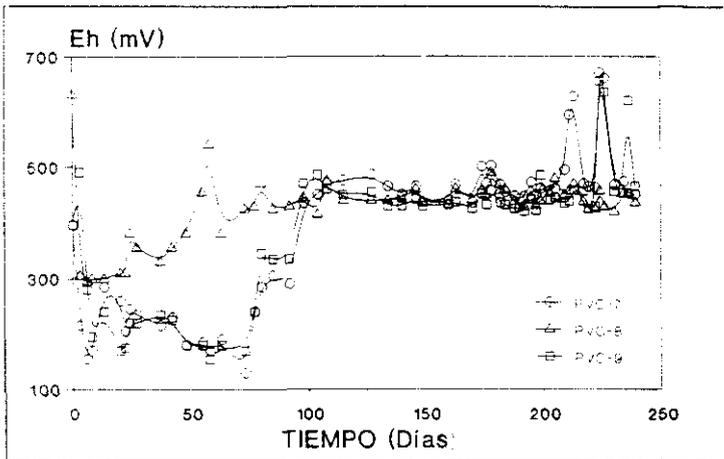


Figura 162. Evolución del Eh en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 159.

hierro y subida del Eh se refiere (figuras 160, 161 y 162, respectivamente), tuvo lugar a partir de los 50 días de iniciado el experimento, mientras que en el sistema inoculado, eliminando los problemas surgidos en los primeros momentos de la experimentación, la respuesta se produjo a los 25 días. Es decir, el sistema inoculado responde en la mitad de tiempo que el sistema no inoculado.

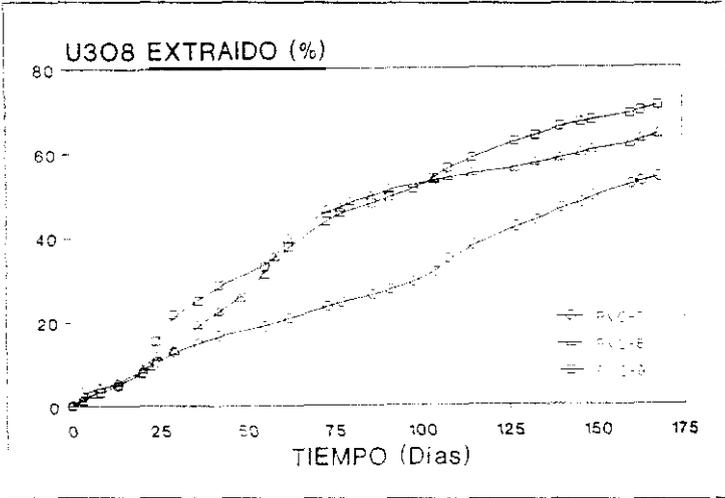


Figura 163. Representación de la figura 159 cuando se elimina el período de inducción en los ensayos inoculado (PVC-9) y no inoculado (PVC-7).

Pese a todo, como refleja la figura 159, la disolución del uranio fue inicialmente más efectiva en el caso del sistema no inoculado. La explicación de esto hay que buscarla en el hecho de que la mezcla compuesta por el refinado y el líquido de riego, además de que tenía un pH ácido (lo que incidirá rápidamente en la disolución química del uranio presente como $U(VI)$), contenía hierro, el cual estaba presente, mayoritariamente, como hierro férrico, con lo que se estaba a la vez favoreciendo la disolución del $U(IV)$ presente en los finos. Por su parte, el sistema inoculado comenzó a disolver uranio en el momento en el que apareció hierro férrico en disolución, esto es, cuando las condiciones oxidantes fueron las apropiadas. Además, la utilización

de un medio nutriente diluido, aunque ácido (pH 2.0), no aumentó apreciablemente, en esos 25 días, la cantidad de uranio extraído, por lo que el uranio contenido en este mineral debía de estar, en su mayor parte, como U(IV).

Estudio del tipo de inóculo

En la figura 164 se muestra la extracción de uranio con el tiempo cuando se compara el efecto del cultivo natural (PVC-9) con el de los tres cultivos puros aislados (PVC-10, PVC-11 y PVC-12). Confirmando lo que anteriormente se decía, todos los sistemas comenzaron a activarse justo en el instante en el que disminuyó el pH, apareció hierro en disolución como Fe^{2+} y aumentó el potencial de oxidación (figuras 165, 166, 167 y 168, respectivamente). Aunque no se establecieron claras diferencias entre éstos parámetros, éstas sí que se manifestaron en lo que a la recuperación de uranio se refiere. Una vez que se superó el período de inducción, a través de una mejora de las condiciones medioambientales y de una nueva inoculación, los sistemas comenzaron a disolver uranio de forma diferente: la máxima recuperación de uranio la produjo el cultivo natural, seguido de la mezcla ternaria, del cultivo puro de *Thiobacillus ferrooxidans* y de la mezcla binaria. No obstante, la respuesta del cultivo puro de *T.ferrooxidans* fue muy parecida a la de la mezcla ternaria. Esto, unido a los pobres resultados obtenidos con la mezcla binaria de *T.ferrooxidans* y *T.thiooxidans*, vendría a confirmar un hecho que ya se había apuntado en la discusión de los ensayos en incubador con estos mismos cultivos, es decir: "la actividad microbiológica en una era debe estar gobernada, fundamentalmente, por la especie *Thiobacillus ferrooxidans* y ésta acción se podría complementar con la participación de otras especies (caso de la mezcla ternaria)". Adicionalmente, los riegos (tres en concreto) efectuados después de un mes de acabados los ensayos, produjeron recuperaciones de uranio diferentes en cada una de las columnas, tal y como se muestra en la Tabla XX. Esto estaría indicando que la actividad bacteriana en cada columna era muy distinta. Destacaron los bajos porcentajes obtenidos en el

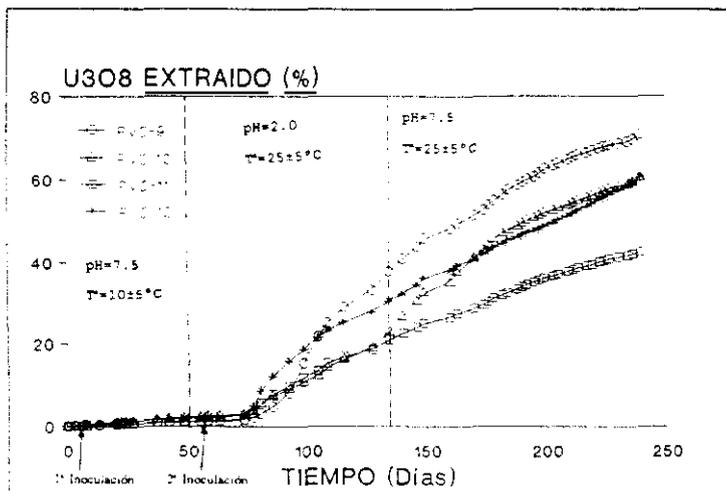


Figura 164. Influencia del tipo de inóculo: Comparación del % de U_3O_8 disuelto en ensayos inoculados con diferentes cultivos: cultivo natural (PVC-9), cultivo puro de *T. ferrooxidans* (PVC-10), cultivo mixto de *T. ferrooxidans* y *T. thiooxidans* (PVC-11) y cultivo mixto de *T. ferrooxidans*, *T. thiooxidans* y *L. ferrooxidans* (PVC-12), con medio D2 de pH 7.5 como líquido de riego.

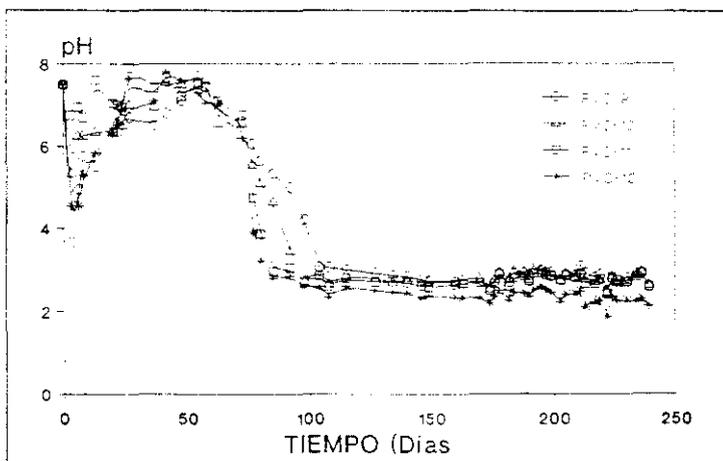


Figura 165. Evolución del pH en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 164.

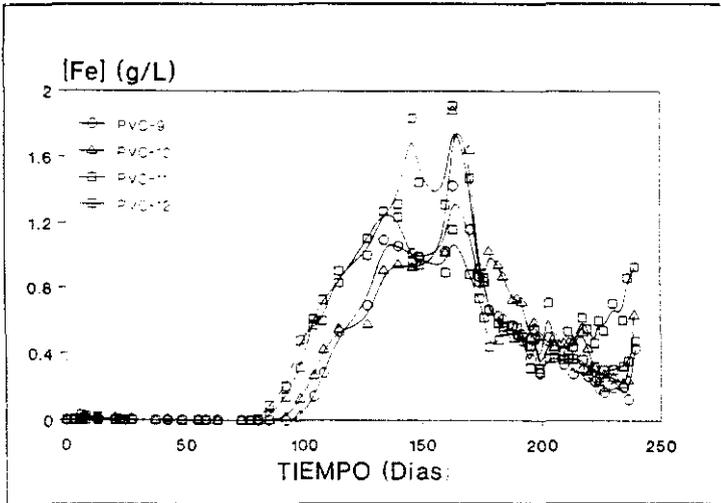


Figura 166. Cantidad de hierro total disuelto en los ensayos representados en la figura 164.

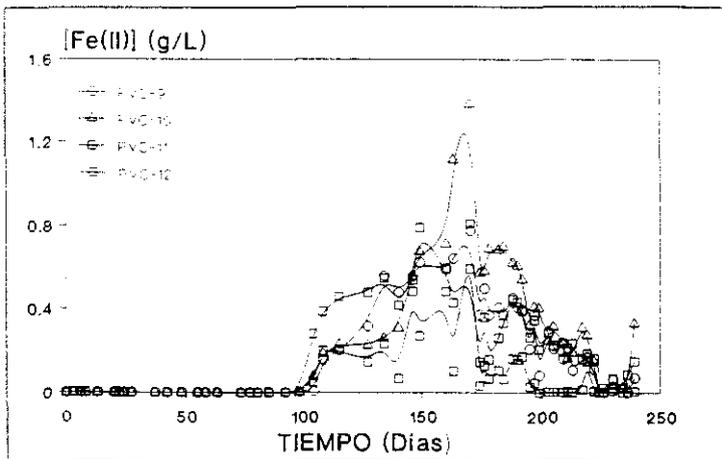


Figura 167. Cantidad de hierro ferroso disuelto en los ensayos representados en la figura 164.

ensayo con líquido de ENUSA (PVC-8) frente a los obtenidos en las columnas inoculadas (PVC-9, PVC-10, PVC-11 y PVC-12) y en la no inoculada (PVC-7).

Tabla XX. Recuperaciones finales de U_3O_8 , después de 1 mes de acabados los ensayos, efectuando tres riegos.

COLUMNA	PVC-7	PVC-8	PVC-9	PVC-10	PVC-11	PVC-12
U_3O_8 EXTRAÍDO (%)	5.6	1.3	7.7	8.1	5.2	5.0

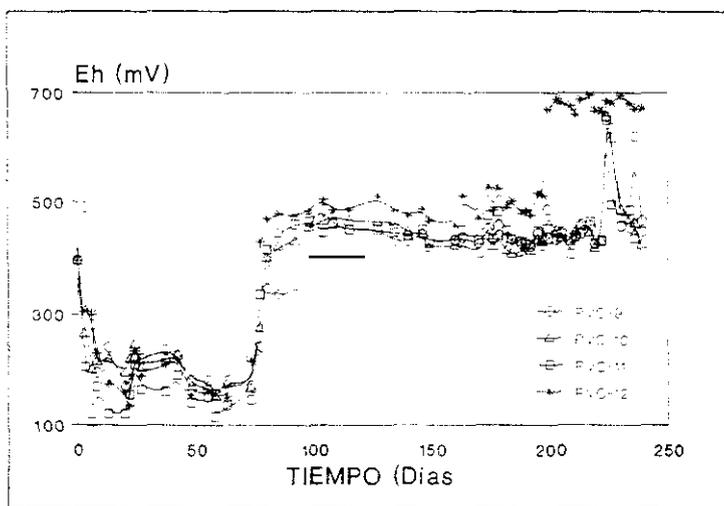


Figura 168. Evolución del Eh en función del tiempo en los ensayos representados en la figura 164.

El proceso de disolución del uranio

A diferencia de lo que ocurrió en los primeros ensayos en columnas, en los que el proceso de disolución del uranio estaba caracterizado por una zona de rápida solubilización, seguida de otra bastante más lenta (todo ello indicativo de una gran alteración del mineral), en éstos últimos ensayos, dada la naturaleza del mineral de partida, se comprobó que la extracción del uranio era más lenta, que aparecía un marcado período de inducción, lo que estaría indicando que existía una mayor participación del proceso microbiológico en la solubilización del mineral, la cual estaría precedida por una adaptación previa del cultivo al mineral no alterado, y que el uranio se encontraba en éste mineral, principalmente, como uranio tetravalente. Entonces, hasta que no se habían alcanzado las condiciones oxidantes adecuadas, una vez superado el periodo de inducción, el sistema no comenzaba a disolver uranio tetravalente (figura 169). Las condiciones oxidantes del sistema dependen fundamental-

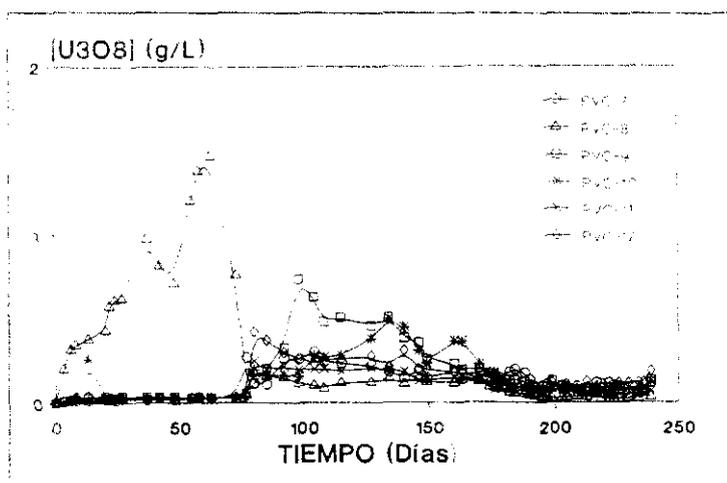


Figura 117. Variación de la concentración de U_3O_8 con el tiempo para los distintos ensayos en columnas de PVC (II).

mente de la relación Fe^{3+}/Fe^{2+} en las soluciones, de tal forma que el potencial (Eh), que es una función de dicha relación, puede ser un indicativo de la actividad bacteriana, y su medida, en los circuitos de lixiviación, serviría de útil sistema de control. En los casos estudiados, se observó como la cantidad de hierro presente como hierro férrico tendía a ser igual o mayor que la de hierro ferroso y que el valor del potencial (figuras 162 y 168) parecía ser el suficiente para la solubilización del uranio contenido.

Volviendo a la representación de Jacobson-Murphy (Apartado 5.1.2.), para los casos que ahora nos ocupan, se observa como la representación semilogarítmica de $1-f$ en función del tiempo t , se ajusta a una recta con una pendiente negativa igual a K' (figuras 170 a 175). De la Tabla XXI se deduce que, tanto con el cultivo natural como con el cultivo puro de *Thiobacillus ferrooxidans*, la cinética del proceso, una vez superado el período de inducción (1ª Fase), se mejora con respecto al ensayo que utiliza el líquido de riego de ENUSA. Esto vendría a confirmar la mayor participación de la especie *T.ferrooxidans* en este tipo de sistemas. Sin embargo, a diferencia de los ensayos anteriores, se trata de procesos con cinéticas más lentas, lo que parece lógico dada la naturaleza del mineral ensayado en uno y otro caso. De tal forma que en éstos ensayos, la cinética del proceso no se ajustaba al tratamiento cuantitativo propuesto por Cordero y col. (167) como veíamos en los anteriores ensayos.

Tabla XXI. Valores de las pendientes (K'), obtenidas a partir de la ecuación [24], para las columnas ensayadas.

COLUMNA	PVC-7	PVC-8	PVC-9	PVC-10	PVC-11	PVC-12
1ªFASE	0.0006	-	0.0008	0.0014	0.0007	0.0012
2ªFASE	0.0125	0.0166	0.0227	0.0175	0.0093	0.0147

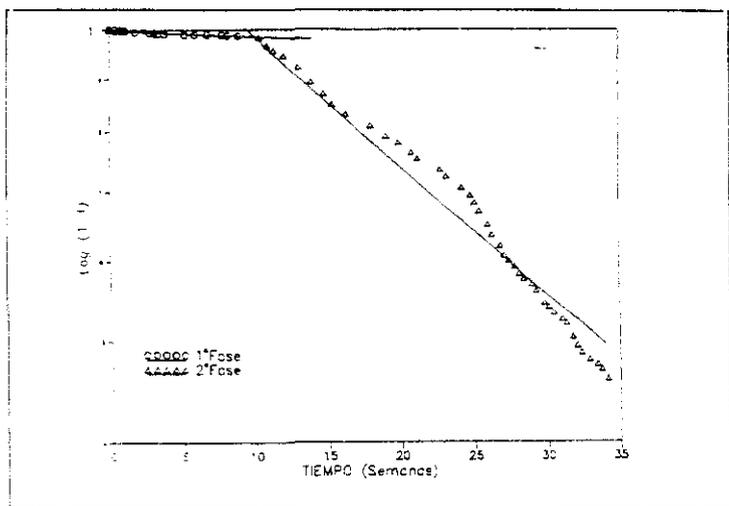


Figura 170. Representación semilogartmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-7.

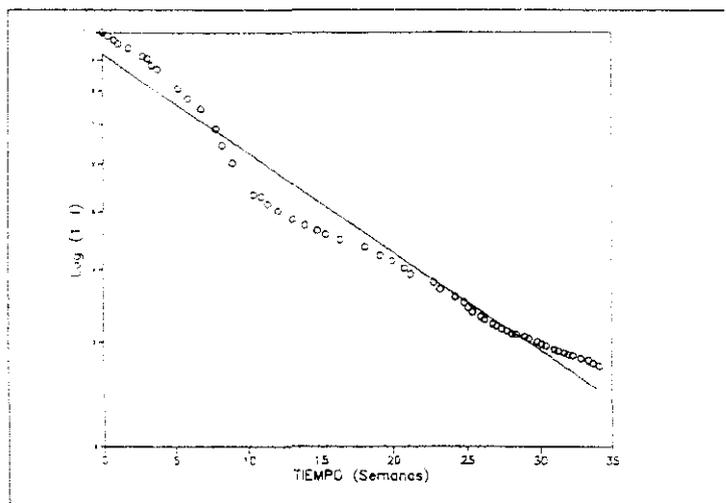


Figura 171. Representación semilogartmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-8.

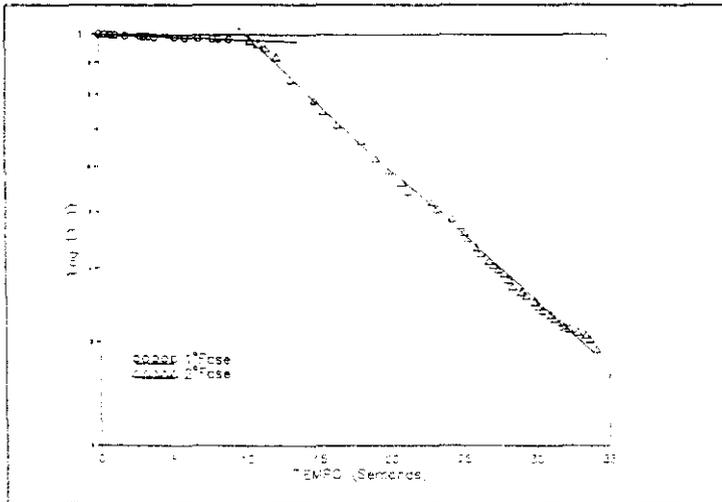


Figura 172. Representación semilogarítmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-9.

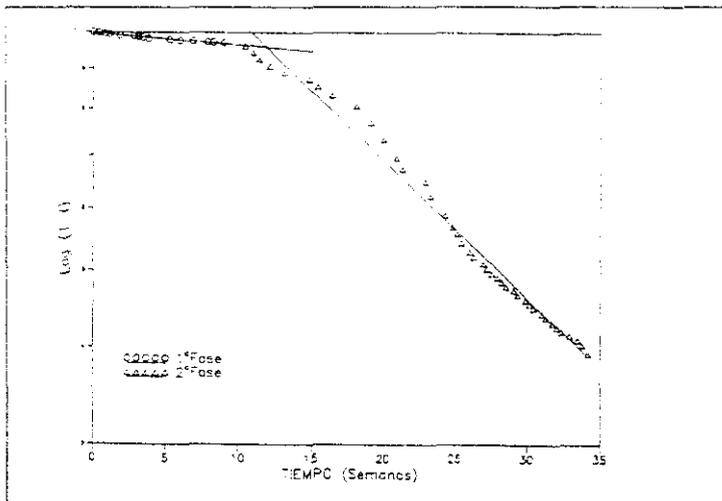


Figura 173. Representación semilogarítmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-10.

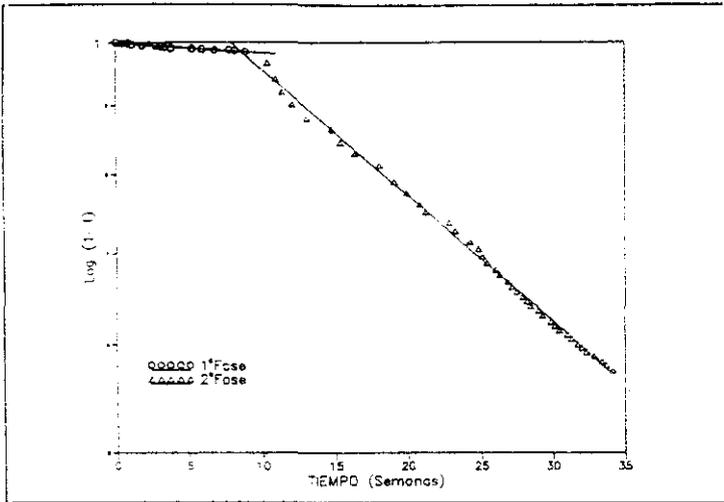


Figura 174. Representación semilogartmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-11.

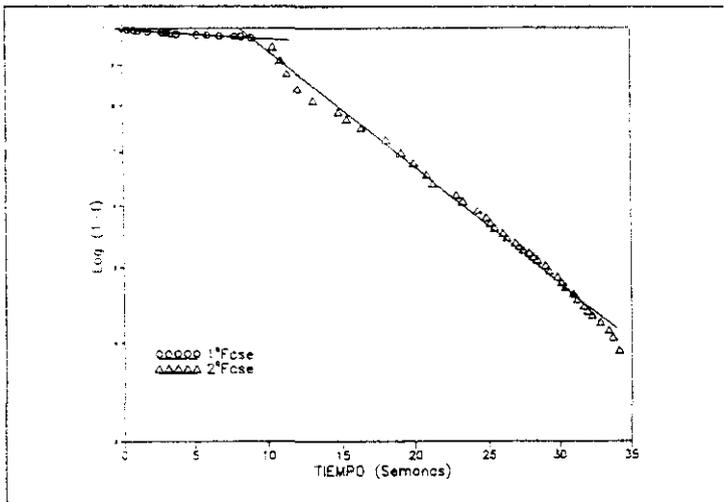


Figura 175. Representación semilogartmica de $(1-f)$ frente al tiempo para la columna PVC-12.

Según vimos al trabajar con un mineral alterado, las recuperaciones máximas económicas que es posible alcanzar en este tipo de procesos se sitúan en torno al 85%. Si consideramos estas circunstancias, el tiempo necesario para obtener ésas extracciones con un mineral no alterado serían, para cada una de las columnas ensayadas, las que aparecen reflejadas en la Tabla XXII.

Tabla XXII. *Tiempo necesario para alcanzar las recuperaciones máximas económicas en las columnas ensayadas.*

COLUMNA	PVC-7	PVC-8	PVC-9	PVC-10	PVC-11	PVC-12
t (Semanas)	65.9	49.6	36.3	47.1	88.6	56.0

Así pues, en un mineral de las características ensayadas, cuando se utiliza como inóculo un cultivo natural, el proceso de disolución del uranio se acelera en gran medida con respecto a los ensayos inoculados con distintos cultivos aislados del mismo y a los ensayos no inoculados, tanto el que emplea el mismo líquido de riego de pH neutro como la mezcla de agua de río y refinado de pH ácido.

5.3. Recomendaciones de trabajo

De los resultados experimentales obtenidos a escala de laboratorio, se ponen de manifiesto los parámetros que es conveniente controlar en la operación de lixiviación que se realiza en Saelices el Chico. Evidentemente, todo ello debe conducir a unas condiciones óptimas que favorezcan, dentro de lo posible, la actuación de los microorganismos. Así pues, sería recomendable:

1. Composición y granulometría del mineral. Se deben cuidar ambas, compaginando una adecuada permeabilidad del lecho con una liberalización suficiente del

uranio contenido y de la pirita que lo acompaña. Se ha comprobado que el mineral de Saelices posee la fuente de energía necesaria y los nutrientes esenciales para el desarrollo de los microorganismos implicados en el proceso. Además, trabajando con mineral <5 cm se obtuvieron mejores resultados, en cuando a la velocidad de extracción de uranio, que con un tamaño de partícula < 3 cm. De lo que se deduce que tamaños de partícula pequeños dificultan la percolación del líquido, por lo que conviene alcanzar un compromiso entre dicha variable y el grado de liberalización del uranio.

2. Condiciones modificables del proceso actual: períodos de riego, tiempos de maduración, naturaleza del líquido de riego y pH de riego. Parece evidente que la etapa de maduración proporciona bastantes ventajas al proceso, ahora bien, lo que igualmente parecen indicar nuestras investigaciones es que los períodos de maduración que se emplean son relativamente largos (6 a 12 meses). Habría que utilizar períodos más cortos (2 meses), efectuando durante ese tiempo riegos intermitentes para lograr un buen asentamiento de los microorganismos en la era y al mismo tiempo para alcanzar el grado de alteración suficiente del mineral. A partir de este momento se debería trabajar con períodos de riego más cortos con el fin de acelerar el proceso extractivo.

Por lo que respecta al líquido de riego, durante la etapa de maduración es conveniente utilizar un líquido ácido, para prevenir el consumo de ácido por la roca y como medio de desarrollo de los microorganismos; ahora bien, cuando el mineral se encuentre suficientemente alterado, trabajando con líquidos de riego neutros (como puede ser el propio agua de río) se obtendrían resultados tan buenos como los logrados con el líquido ácido. Además, la existencia de compuestos orgánicos en la mezcla refinado y agua de río, puede ocasionar graves problemas en los montones, por un mal funcionamiento del cultivo natural durante el proceso de biolixiviación.

3. Condiciones que no se controlan en la actualidad: aireación e inoculación con microorganismos. La aireación es importante como medio para la transformación del mineral y para el suministro de sustancias esenciales para el microorganismo. Así pues, la utilización de la misma quedaría plenamente justificada. Otro de los aspectos que no está siendo considerado en los montones es la inoculación con cultivos bacterianos crecidos en el laboratorio. Aunque el propio mineral contiene microorganismos procedentes de las aguas de mina, reforzar un cultivo con todos o algunos de los microorganismos implicados es muy positivo. Además, se debería considerar la posibilidad de inocular la era a medida que se construye.

4. Controles necesarios para una mejor marcha del proceso de biolixiviación. El seguimiento periódico de la temperatura, pH, Eh y concentración de metales en solución (Fe_{total} , Fe^{2+}) es una buena guía para conocer como transcurre el proceso.

5. Condiciones óptimas del proceso. La disolución de los minerales de uranio está favorecida cuando se trabaja en sistemas aireados e inoculados. Así pues, una operación dirigida en este sentido, cuidando todos los aspectos comentados con anterioridad, ha de ser la manera en que debe ir encaminada la práctica industrial.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. La población natural de microorganismos del agua de mina de la instalación de Saelices el Chico es capaz de extraer el uranio contenido en el mineral de la mina FE. Es decir, el mineral de esta zona es susceptible a un tratamiento por lixiviación bacteriana.
2. El empleo de un cultivo adaptado a las condiciones de laboratorio, procedente del agua de mina, se ha mostrado tan efectivo como la propia población existente en la misma.
3. El proceso de disolución del uranio está más favorecido cuando se emplea un medio nutriente diluido en sales que cuando el medio está más concentrado. Esto confirma que el mineral de la mina FE es capaz de servir de soporte nutritivo a los microorganismos implicados para que la biolixiviación del uranio sea efectiva.
4. Aumentando la concentración de Fe^{2+} , como sulfato ferroso, de 2 a 10 g/L no se obtiene una mejora en el rendimiento de extracción.
5. La adición de pirita al medio en cantidades inferiores al 6% no mejora el proceso de disolución del uranio.
6. Los minerales de uranio estudiados son rápidamente solubilizados por lixiviación convencional con ácido sulfúrico. La utilización de líquidos de riego muy ácidos ($\text{pH}=1.3$), como ocurre en la práctica industrial, minimiza la importancia del proceso microbiológico en beneficio de la disolución química del mineral. Así, no se observan diferencias al estudiar variables como: la actividad bacteriana, los

ciclos de regado o la adición de pirita al medio. La disolución microbiológica del uranio se manifiesta cuando se utiliza como líquido de riego un medio neutro (pH=7.3). A los 40 días de iniciado el experimento, la extracción de uranio es dos veces superior en el ensayo inoculado con respecto al no inoculado.

7. La temperatura de trabajo tiene un marcado efecto en el proceso de disolución del uranio, aumentando ésta del 55 al 100% al aumentar la temperatura de 15 a 40°C. La temperatura óptima de crecimiento del cultivo natural se sitúa en el intervalo comprendido entre 35 y 40°C.
8. En el proceso de extracción del uranio en presencia de microorganismos naturales, las variables de mayor influencia son la temperatura y el pH. Así pues, para que la biolixiviación de minerales de uranio esté favorecida, han de mantenerse unos valores óptimos de temperatura (cercana a 35°C) y de pH (próximo a 2.0-2.5).
9. En ensayos en columnas, una relación diámetro interno de la columna /tamaño de partícula del mineral próxima a 5 permite recuperar, en el mismo tiempo de experimentación, un 35% más que una relación de 12.
10. Otra variable que afecta a la recuperación de uranio en los ensayos en columnas es el modo de riego. Se observa un mejor comportamiento del sistema cuando se opera con líquido de riego fresco (90%) que cuando se lleva a cabo una recirculación del mismo (80%).
11. El mineral con un tamaño de partícula menor de 5 cm se lixivia con mayor velocidad, en los primeros 60 días, que el mismo mineral con un tamaño de partícula menor de 3 cm.

12. Cuando se emplea un mineral de uranio alterado, el ataque se produce en tiempos más cortos que cuando el mineral no está alterado. La cinética del proceso de lixiviación se caracteriza por presentar dos zonas bien diferenciadas: una primera, de rápida solubilización del uranio y, otra, en la que la cinética del proceso es muy lenta.

13. Los datos experimentales se ajustan al modelo de Jacobson-Murphy:

$$\log (1-f) = -K' t$$

14. La aplicación del anterior modelo conduce a la obtención de dos valores de pendiente, correspondientes cada uno de ellos con las dos fases del ataque comentadas en el punto 12. La primera fase, más rápida, depende del tipo de operación realizada y la segunda está controlada por la superficie expuesta al ataque y por la accesibilidad de la solución lixiviante.

15. La cinética de disolución del uranio a partir del mineral alterado, a diferencia de lo que ocurre con el no alterado, se ajusta al tratamiento cuantitativo propuesto por Cordero y col.:

$$(U/y) = A + B t$$

16. Las condiciones ácidas y oxidantes de los ensayos inoculados y aireados (pH próximo a 2.0 y Eh superior a 700 mV) sobre mineral alterado, partiendo de un líquido de pH neutro, son las óptimas para favorecer el proceso de disolución de los minerales de uranio. Estas condiciones dependen de la naturaleza del líquido de riego, el cual influye directamente sobre la actividad bacteriana dentro de la columna. Cuando se utiliza como líquido de riego la mezcla refinado y agua de

rto (pH=2.0), el sistema evoluciona hacia condiciones menos ácidas y oxidantes (pH próximo a 3.0 y Eh de 350 mV).

17. El proceso de disolución del mineral depende de la alteración inicial que transforma U(IV) en U(VI) y de las condiciones oxidantes reinantes durante el proceso. Los períodos de maduración a los que se somete el mineral en las eras, junto con lo que pueda estar sucediendo en la propia mina, serían la causa de esa alteración que favorece no sólo la transformación de U(IV) en U(VI) sino también el desarrollo bacteriano.

18. La temperatura óptima de crecimiento de los cultivos puros es de 30-35°C para *Thiobacillus ferrooxidans* y de 25°C para *Thiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*.

19. Comparando los resultados obtenidos con cultivos puros y con el natural, se observa que, a temperaturas superiores a 30°C, este último es el que mejores resultados aporta, aunque a tiempos largos se asemeja en su comportamiento al cultivo puro de *Thiobacillus ferrooxidans* y a las mezclas de este con los demás (*Thiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*); es decir, los cultivos puros y mixtos, aislados del agua de mina, no aumentan el rendimiento de extracción del uranio obtenido con el cultivo natural.

20. A temperaturas inferiores a 30°C, y hasta 15°C, se observa una mejora del proceso de extracción con la utilización del cultivo puro de *T.ferrooxidans* y de los cultivos mixtos respecto al empleo del cultivo natural.

21. El cultivo puro de *Thiobacillus ferrooxidans* tiene un comportamiento similar al cultivo mixto ternario de *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, tanto en los ensayos en incubador como en columna. La especie *Thiobacillus ferrooxidans* es la que contribuye en mayor medida al proceso de extracción del uranio.
22. Cuando se utiliza un mineral de uranio no alterado de la mina FE, la cinética de lixiviación disminuye con respecto a los ensayos con material alterado. Si bien, la participación del proceso microbiológico es mayor que en aquél caso. Se observa que las condiciones de experimentación (temperatura, pH del líquido de riego e inóculo utilizado) son determinantes para que el proceso de disolución sea más efectivo. Variaciones de éstos tres parámetros producen cambios significativos en la extracción de uranio.
23. La inoculación del sistema favorece el ataque con respecto a la no inoculación. La aparición de un período de inducción de 25 días, en los ensayos inoculados, parece indicar que es necesario alcanzar un cierto grado de alteración del mineral antes de que la biolixiviación comience a ser efectiva.
24. En columnas de grandes dimensiones, las máximas recuperaciones de uranio se consiguen con el cultivo natural.
25. En este caso, el proceso de disolución del uranio está marcado por el comienzo de la disolución de hierro (preferentemente como hierro férrico), por una bajada del pH y por una subida del potencial de oxidación. Así pues, hasta que no se alcanza el grado de alteración del mineral de uranio suficiente (condiciones ácidas y oxidantes), el sistema no comienza a disolver metal.

26. Con mineral no alterado, la cinética del proceso de disolución del uranio también se ajusta al modelo de Jacobson-Murphy, con dos pendientes bien distintas en función del desarrollo del ataque. Al principio, un período más lento de acondicionamiento del mineral y después otro más rápido de disolución efectiva del uranio.

BIBLIOGRAFIA

7. BIBLIOGRAFIA

- (1) ANDERSON, K.J. "Enriching uranium". MRS Bulletin, 14, 10, 1989, 70-71.
- (2) CHOPPIN, G.R. "Fisión nuclear". En: Química Moderna. Ed. J.G.Stark. Alianza. Madrid, 1974, 260-272.
- (3) SURYODIBROTO, M. "The possibility of using bacteria in uranium solution mining method". Maj. Batan, 13, (1), 1980, 37-44.
- (4) FORD, M.A.; SIMONSEN, H.A.; VILJOEN, E.B.; JANSSEN, M.S. and TAYLOR, J.L. "The first six years of the Chemwes uranium plant". Journal of the South African Institute of Mining and Metallurgy, 87, (4), 1987, 113-124.
- (5) WHILLANS, R. "Canadian mineral survey". Uranium, 1983, 64-67.
- (6) WILKINSON, W.D. "Uranium process metallurgy". Vol. I. Eds. J.Wiley & Sons, Inc. Interscience Publishers. NY 1962.
- (7) ... "Lixiviación de minerales de uranio". En: Minería Química. Cap.IV. Ed. E.Llorente. ITGE. Madrid 1991. 105-150.
- (8) FUENTES, D.A. "Proceso de lixiviación estática para minerales uraníferos aprovechando la técnica a contracorriente". Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. 1978.
- (9) GUPTA, R.C. and SANT, B.R. "Beneficiation of low grade ores by microbial leaching". J. Sci. Ind. Res., 29, (8), 1970, 372-377.
- (10) IFILL, R.O.; CLARK, A.H. and COOPER, V.Ch. "Mineralogical and process controls on the oxidative acid-leaching of radioactive phases in Elliot Lake, Ontario, uranium ores: I - uraninite, uranothorite and monazite". CIM Bulletin, 82, May 1989, 65-74.
- (11) CAHILL, A.E. and BURKHART, L.E. "Continuous precipitation of uranium with hydrogen peroxide". Metallurgical Transactions B, 21B, Oct. 1990, 819-826.
- (12) AJURIA, S. and BLANCO, B. "Use of low-cost heat sources to improve the efficiency of heap leaching of uranium ores". IAEA-R-1620-F. Vienna, Dec. 1977, 10pp.
- (13) CRIPPS, R.E. "The recovery of metals by microbial leaching". Biotechnology letters, 2, (5), 1980, 225-230.
- (14) TOMIZUKA, N. & TAKAHARA, Y. "Bacterial leaching of uranium from Ningyo-Toge ores". Ferment. Technol. Today, 1972, 513-520.

- (15) NARCY, J.L. et JOUIN, J.P. "Lixiviation statique en tas des minerais d'uranium a faible teneur a La Cogema - division miniere de Vendee". A: XVth International Mineral Processing Congress. T.II. IMM & BRGAL. SIM - St. Etienne 1985, 388-399.
- (16) BURKIN, A.R. "Review of some developments in hidrometallurgy". In: Advances in Extractive Metallurgy. Ed. M.J.Cahalan. IMM. London 1968, 821-830. Discussion: 958-959 and 977.
- (17) GITTUS, J.H. "Uranium". Eds. W.Clowes and Sons,L. Butterworths. London 1963.
- (18) HAQUE, K.E. and LUCAS, B.H. "Mini-pilot-scale hydrochloric acid leaching of an Elliot Lake uranium ore". Uranium, 2, (4), 1986, 327-342.
- (19) DEMOPOULOS. G.P. "Acid pressure leaching of a sulphidic uranium ore with emphasis on radium extraction". Hydrometallurgy, 15, 1985, 219-242.
- (20) TORMA, A.E. and YEN, S.Y. "Uranium ore leaching with brine solutions containing hydrochloric acid". Erzmetall, 37, (11), 1984. 548-554.
- (21) HAQUE, K.E. "Acid chloride leaching of Midwest Lake uranium ore (Northern Saskatchewan, Canada). Uranium, 4, (3), 1988, 261-273.
- (22) NIRDOSH, I.; BAIRD, M.H.L.; MUTHUSWAMI, S.V. and BANERJEE, S. "Coextraction of uranium and radium from ore with ferric chloride". Hydrometallurgy, 10, 1983, 265-283.
- (23) SKEAFF, J.M.; RITCEY, G.M.; HAQUE, K.E. and LUCAS, B.H. "Uranium ore processing". Patent No.4,374.096. USA. Feb. 15, 1983, 19pp.
- (24) MUTHUSWAMI, S.V.; NIRDOSH, I. and NASIR, M. "Coextraction of uranium, ²³⁰Th and ²²⁶Ra from Saskatchewan ores with ferric nitrate-nitric acid solutions". Metall, 43, Mai 1989, 426-431.
- (25) MATTUS, M.S.A.J. and TORMA, A.E. "Uranium extraction from a low-grade ore by acidic leachants". Metall, 34, Januar 1980, 33-36.
- (26) BABJAK, J. and KRAUSE, E. "Leaching of uranium ore". Patent No. 4,764,353 (USA). Aug. 16, 1988, 4pp.
- (27) LEDUC, L.G.; FERRONI, G.D. and BELCOURT, D. "Liquid scintillation counting as a means of measuring uranium leached from low-grade ores by *Thiobacillus ferrooxidans*". Hydrometallurgy, 18, 1987, 255-263.
- (28) RING, R.J. "Leaching characteristics of australian uranium ores". Proc. Australas. Inst. Min. Metall., No.272, Dec. 1979, 13-23.
- (29) GASOS, P. y HERNANDEZ, J. "Estudio de pizarras uraniferas resistentes al ataque". Rev. Metal. CENIM, 2, (1), 1966, 15-27.

- (30) ... "State of the Art Review on the use of microorganisms in mineral beneficiation and ore processing". Beacon Research Associates Ltd., 336 Woolwich Street, Guelph, Ontario, N1H3W5, 1985, 236pp.
- (31) KHALID, Z.M.; MAHMOOD, T. and MALIK, K.A. "Leaching uranium from carbonate ore using *Thiobacillus thiooxidans* (S-V)". *Biorecovery*, 1, 1990, 291-302.
- (32) ALLEN, C.CH. and BAUTISTA, R.G. "A partial equilibrium model based on the kinetics of dissolution and equilibrium in solution of the UO_2 - FeS_2 - $Fe_2(SO_4)_3$ - H_2SO_4 system". In: *Hydrometallurgical Process Fundamentals*. Plenum Press. NY 1984, 195-226.
- (33) ELIGWE, C.A.; TORMA, A.E. and DEVRIES, F.W. "Leaching of uranium ores with the H_2O_2 - Na_2SO_4 - H_2SO_4 system". *Hydrometallurgy*, 2, 1982, 83-95.
- (34) SUZUKI, S.; HIRONO, S.; AWAKURA, Y. and MAJIMA, H. "Solubility of uranous sulfate in aqueous sulfuric acid solution". *Metall. Trans. B*, 21B, Oct. 1990, 839-844.
- (35) NICOL, M.J.; NEEDES, C.R.S. and FINKELSTEIN, N.P. "Electrochemical model for the leaching of uranium dioxide: I - Acid media". In: *Leaching and Reduction in Hydrometallurgy*. Ed. A.R. Burkin. IMM. London 1975, 1-11.
- (36) DUTRIZAC, J.E. and MACDONALD, J.C. "Ferric ion as a leaching medium". *Minerals Sci. Engng.*, 6, April 1974, 59-100.
- (37) RAGOZZINI, R.J.; ROSS-SMITH, M.A.; SPARROW, G.J. and WALKER, G.S. "Selective dissolution of uranium from a copper flotation concentrate". *Hydrometallurgy*, 15, 1986, 377-393.
- (38) DUCHAMP, C. et POLGAIRE, J.L. "Le traitement des minerais d'uranium de Jouac". *Ind. Minér., Mines Carr., Tech. (Suppl.)*, 67, Mai 1985, 219-223.
- (39) MICHELL, P. et JOUIN, J.P. "Le traitement des minerais d'uranium a Bessines". *Ind. Minér., Mines Carr., Tech. (Suppl.)*, 67, Mai 1985, 207-210.
- (40) FORSSBERG, E. and NILSSON, L. "Uranium processing in Sweden". *Ind. Minér. Suppl., Tech. (St. Etienne)*. Avril 1983, 235-243.
- (41) SMITS, G. "Behavior of minerals in Witwatersrand ores during the leaching stage of the uranium-extraction process". In: *Appl. Mineral*. Warrendale, Pa. 1985, 599-616.
- (42) HAQUE, K.E. and LALIBERTÉ, J.J. "Batch and counter-current acid leaching of uranium ore". *Hydrometallurgy*, 17, 1987, 229-238.
- (43) LIVESEY-GOLDBLATT, E. "An oscar for bacteria". *Nuclear Active*, 20, January 1979, 8-11.
- (44) BRIERLEY, C.L. "Effect of hydrogen peroxide on leach dump bacteria". *Transactions (Society of Mining Engineers of AIME)*. 266, 1979, 1860-1863.

- (45) ELIGWE, C.A. and TORMA, A.E. "Influence of hydrogen peroxide in the extraction of uranium from a New Mexico ore". *Uranium*, 1, (3), 1984, 211-225.
- (46) BRUYNESTEYN, A. "Assessment of the use of hydrogen peroxide in bacterial ferrous iron oxidation systems. In: Sixth Annual Uranium Seminar (Corpus Christi, Texas, Sep.11-14, 1982). SME-AIME. NY 1983, 83-87.
- (47) RING, R.J.; YAMINE, M. and WATERS, D.J. "Caro's acid - an oxidant for acid leaching of uranium ores". *CIM Bulletin*, 77, Feb. 1984, 77-83.
- (48) NATARAJAN, K.A. "Relevance of biohydrometallurgy with special reference to the non-ferrous mineral resources of India". Proc. of the Internat. Conference on Advances in Chem. Metall., Bombay, India. 1979, 38/1-38/21.
- (49) BRIERLEY, J.A. "Biotechnology for the extractive metals industries". *JOM*. January 1990, 28-30.
- (50) BRUYNESTEYN, A. "The biological aspects of heap and in-place leaching of uranium ores". In: Sixth Annual uranium seminar (Corpus Christi, Texas, Sept. 11-14, 1982). SME-AIME. NY 1983, 59-65.
- (51) JOSA, J.M. "Experiencias de lixiviación biológica de menas uraníferas". Comunicación al Simposio sobre "Biolixiviación aplicada a la mineralurgia, metalurgia y a la desulfuración y conversión del carbón". Madrid, Dic. 1988, 38pp.
- (52) GIBBS, H.E.; ERRINGTON, M. and POOLEY, F.D. "Economics of bacterial leaching". *Can. Metall. Quart.*, 24, (2), 1985, 121-125.
- (53) YEDAVALLI, B.V.S. "Economic viability of bacterial leaching - a management research viewpoint". *NML Tech. J.*, 15, (4), 1973, 28-31.
- (54) DERRY, R.; GARRET, K.H.; Le ROUX, M.W. & SMITH, S.E. "Bacterially assisted plant process for leaching uranium ores". In: *Geology, Mining and Extractive Processing Uranium*. Ed. M.J.Jones. IMM. London 1977, 56-62.
- (55) TORMA, A.E. and BANHEGYI, I.G. "Biotechnology in hydrometallurgical processes". *Trends in Biotechnology*, 2, (1), 13-15, 1984.
- (56) BHAPPU, R.B. "Behaviour of iron in dump and heap leaching". In: *Iron Control in Hydrometallurgy*. Chap.9. Eds. J.E.Dutrizac & A.J.Monhemius. International Symposium on Iron Control in Hydrometallurgy. Toronto 1986, 183-201.
- (57) McCREADY, R.G.L. and GOULD, W.D. "Bioleaching of uranium". In: *Microbial mineral recovery*". Chap.5. Eds. H.E.Ehrlich & C.L.Brierley. McGraw-Hill. NY 1990, 107-125.
- (58) COLMER, A.R. and HINKLE, M.E. "The role of microorganisms in acid mine drainage: a preliminary report". *Science*, 106, 1947, 253-256.

- (59) BRYNER, L.C. et al. "Microorganisms in leaching sulfide minerals". *Industrial and Engineering Chemistry*, **46**, 1954, 2587-2592.
- (60) HUTCHINS, S.R.; DAVIDSON, M.S.; BRIERLEY, J.A. and BRIERLEY, C.L. "Microorganisms in reclamation of metals". *Ann. Rev. Microbiol.*, **40**, 1986, 311-336.
- (61) TORMA, A.E. and BOSECKER, K. "Bacterial leaching". *Progress Industrial Microbiology*, **16**, 1982, 77-118.
- (62) KELLY, D.P.; NORRIS, P.R. and BRIERLEY, C.L. "Microbiological methods for the extraction and recovery of metals". In: *29th Symposium of the Society for General Microbiology held at the University of Cambridge, April 1979*. Eds. A.T.Bull, D.C.Ellwood & C.Ratledge. Cambridge University Press. 1981. 263-308.
- (63) DECKER, R.F. "Biotechnology/Materials: The growing interface". *Metallurgical Transactions A*, **17A**, January 1986, 5-30.
- (64) LIZAMA, H.M. and SUZUKI, I. "Bacterial leaching of a sulfide ore by *T. ferrooxidans* and *T. thiooxidans*. Part II: Column leaching studies". *Hydrometallurgy*, **22**, 1989, 301-310.
- (65) TUOVINEN, O.H.; SILVER, M.; MARTIN, P.A.W. and DUGAN, P.R. "The Agnew Lake uranium mine leach liquors: chemical examinations, bacterial enumeration and composition of plasmid DNA of iron-oxidizing *thiobacilli*". *Use Microorg. Hydrometallurgy*, 1982, 59-69.
- (66) NERKAR, D.P.; LEWIS, N.F. and KUMTA, U.S. "Solubilization of uranium from low grade ores by bacteria". *Proc. Symp. Biol. Approach Probl. Med., Ind. Agric.*, 1974, 213-220.
- (67) TSEZOS, M.; McCREADY, R.G.L.; SALLEY, J. and CUIF, J.P. "The use of immobilised biomass for the continuous recovery of uranium from Elliot Lake ore. First pilot plant results". In: *Biohydrometallurgy'89*. Eds. J.Salley, R.G.L.McCready & P.L.Wichlacz. CANMET SP89-10. Canadá 1989. 279-282.
- (68) HARRIES, J.R.; HENDY, N. and RITCHIE, I.M. "Rate controls on leaching in pyritic mine wastes". In: *Biohydrometallurgy'87*. Eds. P.R.Norris & D.P.Kelly. STL. Kew Surrey 1988, 233-241.
- (69) ROSSI, G. *Biohydrometallurgy*. Ed. McGraw-Hill. NY 1990.
- (70) BHURAT, M.C.; DWIVEDY, K.K.; JARAYAM, K.M.L. and DAR, K.K. "Some results of microbial leaching of uranium ore samples from Narwapahar, Bhatin and Keruandri, Singhbhum District, Bihar". *NML Tech. J.*, **12**, (4), 1973, 47-51.
- (71) BALLESTER, A. "Biolixiviación". En: *Minería Química. Cap.XIII*. Ed. E.Llorente. ITGE. Madrid 1991. 485-544.

- (72) DISPIRITO, A.A.; TALNAGI, J.W. and TUOVINEN, O.H. "Accumulation and cellular distribution of uranium in *Thiobacillus ferrooxidans*". Archives of Microbiology, 135, (4), 1983, 250-253.
- (73) TUOVINEN, O.H. and KELLY, D.P. "Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans* (II, III and IV)". Arch. Microbiol., 95 and 98, 1974, 153-180 and 167-174.
- (74) GUAY, R.; SILVER, M. and TORMA, A.E. "Microbiological leaching of a low-grade uranium ore by *Thiobacillus ferrooxidans*". European J. Appl. Microbiol., 3, 1976, 157-167.
- (75) BRUYNESTEYN, A. & VIZSOLYI, A. "The effect of pH and Eh on the chemical and biological leaching of a pyritic uranium ore". In: Interfacing Technologies in Solution Mining. Eds. W.J.Schlitt & J.B.Hiskey. AIME. NY 1981. 159-174.
- (76) VUORINEN, A.; HILTUNEN, P. and TUOVINEN, O.H. "Redox and precipitation reactions of iron and uranium solubilized from ore materials". Hydrometallurgy, 15, 1986, 297-301.
- (77) DISPIRITO, A.A. and TUOVINEN, O.H. "Kinetics of uranous ion and ferrous iron oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*". Archives of Microbiology, 133, (1), 1982, 33-37.
- (78) SILVER, M. "Water leaching characteristics of uranium tailings from Ontario and Northern Saskatchewan". Hydrometallurgy, 14, 1985, 189-217.
- (79) KELLY, D.P. "Extraction of metals from ores bacterial leaching: Present status and future prospects". Microb. Energy Convers. 1977, 329-338.
- (80) LUNDGREN, D.G. "Ore leaching by bacteria". Ann. Rev. Microbiol., 34, 1980, 263-283.
- (81) TUOVINEN, O.H. and DISPIRITO, A.A. "Biological transformation and accumulation of uranium with emphasis on *Thiobacillus ferrooxidans*". Curr. Perspect. Microb. Ecol. Ed. Adinarayana. Am. Soc. Microb. 1984, 608-614.
- (82) DISPIRITO, A.A. and TUOVINEN, O.H. "Oxidations of non-ferrous metals by *thiobacilli*". In: Microbial Chemoautotrophy. Metal oxidations by *thiobacilli*. Ohio State Univ. Biosci. Colloq., 1984, 11-29.
- (83) TAYLOR, G.L. "Biogeochemistry of uranium minerals". In: Biogeochemical cycling of mineral forming elements. Eds. P.A.Trudinger and D.J.Swaine. Elsevier. Amsterdam 1979, 485-515.
- (84) BRIERLEY, C.L. "Microbiology and uranium mining: Practice and problems". In: Third Annual Uranium Seminar (Wyoming Uranium Seminar, Sept. 9-12th 1979). Chap.21. AIME. NY 1980, 129-133.
- (85) BOSECKER, K. "Biodegradation of sulfur minerals and its applications for metal recovery". Studies in Inorganic Chemistry, 5, 1984, 331-348.

- (86) GONZALEZ, S.; JOSA, J.M. y SERRANO, J.R. "Quince años de experiencia en lixiviación estática de minerales". En: VIII Cong. Int. Min. Met., Oviedo 16-22 Octubre 1988. Vol. A. Asoc. Nac. Ing. Minas España. Madrid 1988, 625-644.
- (87) MCCREADY, R.G.L. and GOULD, W.D. "Bioleaching of uranium at Denison Mines". In: Biohydrometallurgy '89. Eds. J.Salley, R.G.L.McCreedy & P.L.Wichlacz. CANMET SP89-10. Canadá 1989. 477-483.
- (88) SILVER, M. "Bacterial leaching of uranium from a rock sample from the Cobalt Plate area, Roberts Township, Ontario". CANMET. Sept. 1980, 14 pp.
- (89) BRIERLEY, C.L. "Microbiological mining: Technology status and commercial opportunities". World Biotech. Rep., 1, 1984, 599-609.
- (90) BRIERLEY, C.L. "Biogenic extraction of uranium from ores of the Grants region". In: Metallurgical applications of bacterial leaching and related microbiological phenomena. Eds. L.E.Murr, A.E.Torma & J.A.Brierley. Academic Press Inc. NY 1978, 345-363.
- (91) MROST, M. and LLOYD, P.J. "Bacterial oxidation of Witwatersrand slimes". In: The recovery of uranium (Proc. Symp. São Paulo, 17-21 August, 1970). IAEA-SM-135/32, Vienna 1971, 223-239.
- (92) KANG, S. and SPROULL, R.D. "Iron oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*". Scientific Note. Department of Chemical Engineering, Oregon State University. Corvallis, OR 97331-2702. 15pp.
- (93) TUOVINEN, O.H. and KELLY, D.P. "Biology of *Thiobacillus ferrooxidans* in relation to the microbiological leaching of sulphides ores". Zeitschrift für Allg. Mikrobiologie, 12.(4),1972,311-346.
- (94) ISKRA, A.A.; NOSOV, V.D. and SHATALOV, V.V. "Bacterial leaching of uranium from shales, and biological recovery of natural radionuclides from aqueous solutions". Use Microorg. Hydrometallurgy. 1982, 71-84.
- (95) LOWSON, R.T. "Bacterial leaching of uranium ores. A review". Australian Atomic Energy Commission (AAEC)/Publication E356, Nov. 1975, 24pp.
- (96) MILLER, R.P.; NAPIER, E.; WELLS, R.A.; AUDSLEY, A. and DABORN, G.R. "Natural leaching of uranium ores". In: Discussions and Contributions. Trans. IMM. 72, 1963, 217-254.
- (97) JAYARAM, K.M.V.; DWIVEDY, K.K.; BHURAT, M.C. and MATHUR, A.K. "Microbes, minerals and metals". IAEA-R-1270-F. Vienna, Oct. 1978, 12pp.
- (98) Le ROUX, N.W. "Bacterial leaching and its environmental implications". In: Introduction to Hydrometallurgy. The Hatfield Polytechnic & Warren Spring Laboratory. Hatfield 1982, 88-114.

- (99) WADDEN, D. & GALLANT, A. "The in-place leaching of uranium at Denison Mines". *Can. Met. Quart.*, 24, (2), 1985, 127-134.
- (100) McCREEDY, H.H. "Bacterial leaching to be applied to a new canadian uranium mine". *CANMET*, Dec. 1976, 8pp.
- (101) CAMPBELL, M.C.; WADDEN, D.; MARCHBANK, A.; McCREEDY, R.G.L. & FERRONI, G. "In-place leaching of uranium at Denison Mines Limited". In: *Development of Projects for the Production of Uranium Concentrates*. IAEA. Vienna 1987, 151-165.
- (102) ... "Mine water production of uranium". *Nuexco*, No. 246, Feb. 1989, 22-29.
- (103) BALLESTER, A., GONZALEZ, F. y BLAZQUEZ, M. "Biolixiviación de menas naturales. Posibilidades actuales de utilización". *Rev. Metal. Madrid*, 24, (2), 1988, 91-102.
- (104) DUNCAN, D.W. and BRUYNESTEYN, A. "Microbiological leaching of uranium". *N. Mex., Bur. Mines Miner. Resour., Circ.*, (118), 1971, 55-61.
- (105) McCREEDY, R.G.L. "Progress in the bacterial leaching of metals in Canada". In: *Biohydrometallurgy '87*. Eds. P.R.Norris & D.P.Kelly. *Sci. and Tech. Letters (STL)*. Kew Surrey 1988, 177-195.
- (106) CZEGLEDI, B.; FEKETE, L.; EGYED, J. and CZAKO-VER, K. "Sodic processing of hungarian low-grade and waste uranium ores by help of microbiological processes". In: *Advances in uranium ore processing and recovery from non-conventional resources*. IAEA-TC-A91. Vienna, Sept. 1983, 40pp.
- (107) GARCIA, O. "Bioleaching of ores: Brazilian perspectives". In: *Biohydrometallurgy*. Eds. G.I.Karavaiko, G.Rossi & Z.A.Avakyan. *Centre of International Projects USSR State Committee for Environment Protection*. Moscow 1990, 96-102.
- (108) MANCHEE, R.J. "Laboratory-scale bacterially assisted leaching of Canadian uranium ore". *Trans. IMM. London*, 86, Sept. 1977, C126-C133.
- (109) MERINO, J.L. y SAENZ, R.M. "Aislamiento y caracterización de bacterias en aguas de la mina de Ratones y su comportamiento con piritas". *Informe JEN 273*. Madrid 1973, 34pp.
- (110) RING, R.J. "Ferric sulphate leaching of some australian uranium ores". *Hydrometallurgy*, 6, 1980, 89-101.
- (111) GASOS, P. and MERINO, J.L. "The use of ferric solutions in the leaching of uranium ores". *Uranium*, 1, (2), 1983, 127-138.
- (112) SERRANO, J.R.; GONZALEZ, S. y ARTIEDA, J.I. "La minería del uranio en España". *Nuclear España*. Julio-Agosto 1986, 19-24.

- (113) RODA, J. "Estudio geológico-estructural de mina FE. Ciudad Rodrigo (Salamanca)". Comunicación a las Jornadas Minerometalúrgicas (VI Nacionales y IV Internacionales). Huelva 22-27 Sep. 1980. ANIM-IGME, Madrid 1980. Sección primera, 129-142.
- (114) COMA, F. "Litología, tectónica y mineralización del yacimiento FE, Saelices el Chico, Salamanca". Explotaciones Mineras de ENUSA en Salamanca. Julio 1983, 25pp.
- (115) ARRIBAS, A. "Sobre el origen de los yacimientos filonianos de uranio en rocas metasedimentarias: el caso de mina FE, Salamanca (España)". IAEA-TECDOC-361. Vienna 1986. 193-214.
- (116) MARTIN, M.; COMA, F. y RANZ, I. "Contribución al análisis geológico, mineralógico y metalogénico del yacimiento de uranio "Mina FE", Saelices el Chico, Salamanca". Boletín Geológico y Minero. T.XCIX-I. 1988, 102-119.
- (117) GONZALEZ, S.; VILLORIA, A. y JOSA, J.M. "Cinco años de producción de uranio a partir de las pizarras de Saelices el Chico". En: Jornadas Minerometalúrgicas (VI Nacionales y IV Internacionales). Huelva. 22-27 Sept. 1980. Sección 2ª. Tomo II. As. Nac. Ing. Min. España. Madrid 1980. 603-625.
- (118) MERINO, J.L. "Oxidación bacteriana de sales ferrosas en la era 2 de marginales de Ciudad Rodrigo. Balance del período de agosto 1981 a enero 1982". Informe JEN. N.61.82. Madrid 1982.
- (119) JOSA, J.M. y SERRANO, J.R. "Producción de concentrados de uranio por biolixiviación de minerales españoles". Comunicación T1:TC-665-9a, al International Atomic Energy Agency-Technical Committee Meeting on Economic of Low Enriched Uranium. IAEA. Vienna, Oct. 1988, 17pp.
- (120) MERINO, J.L. "Producción de medios lixiviantes del uranio por oxidación bacteriana de pirita". Informe JEN R.17.18. Madrid 1978, 39pp.
- (121) MERINO, J.L. y GASOS, P. "La oxidación bacteriana en el beneficio de minerales". En Jornadas Minerometalúrgicas (VI Nacionales y IV Internacionales). Huelva 1980, 653-672.
- (122) BRIERLEY, C.L. "Bacterial leaching". C.R.C. Crit. Rev. Microbiol. 6. Nov. 1978, 207-262.
- (123) TORMA, A.E. "The role of *Thiobacillus ferrooxidans* in hydrometallurgical processes". Adv. Biochem. Eng., 6, 1977, 1-37.
- (124) LUNDGREN, D.G. & SILVER, M. "Ore leaching by bacteria". Ann. Rev. Microbiol. 34, 1980, 263-83.
- (125) CATHLES, L.M. and APPS, J.A. "A model of the dump leaching process that incorporates oxygen balance, heat balance and air convection". Metallurgical Transactions B, 6B, Dec. 1975, 617-624.

- (126) KOLTHOFF, I.M.; SANDELL, E.B.; MEEHAN, E.J. and BRUCKENSTEIN, S. "Análisis químico cuantitativo". Ed. Nigar, S.R.L. Buenos Aires. 1976.
- (127) YOE, J.H.; WILL, F. and BLACK, R.A. "Spectrophotometric method utilizing dibenzoylmethane". *Anal. Chem.*, 25, 1953.
- (128) CARRASCO, H., GASOS, P. y MERINO, J.L. "Factores que afectan a la lixiviación del uranio con agua de minerales de pechblenda y sulfuros". Informe JEN R.1.67. Madrid, 1967.
- (129) CARRANZA, F. "Las piritas españolas: un recurso natural poco explotado". *Químicos del Sur*, No. 4, Julio 1985.
- (130) De SILONIZ, M.; LORENZO, P. and PERERA, J. "Distribution of oxidizing bacterial activities and characterization of bioleaching-related microorganisms in a uranium mineral heap". *Microbiologia SEM*, 7, (33), 1991. 82-89.
- (131) MUÑOZ, J.A.; GONZALEZ, F.; BALLESTER, A. and BLAZQUEZ, M.I. "Bioleaching of a Spanish uranium ore". *Biohydrometallurgy '91*. Troia Portugal 1991. 18pp
- (132) NORRIS, P.R.; BARR, D.W. and HINSON, D. "Iron and mineral oxidation by acidophilic bacteria: affinities for iron and attachment to pyrite". *Biohydrometallurgy '87*. Eds. P.R.Norris & D.P.Kelly. Sci. & Tech. Letters (STL). Kew Surrey 1988. 43-60.
- (133) MURR, L.E. "Theory and practice of copper sulphide leaching in dumps and in-situ". *Minerals Sci. Engng.* 12, (3), 1980. 121-189.
- (134) MARTIN, W.J.; OPITZ, B.E. and SERNE, R.J. "The effects of column dimensions on uranium mill tailings leach curves". *Uranium*, 2, (2), 1985. 133-154.
- (135) ... "Investigación y ensayos". En: *Minería Química*. Cap.VI. Ed. E.LLorente. ITGE. Madrid 1991. 217-270.
- (136) BOSECKER, K. & WIRTH, G. "Bacterial leaching of a carbonate bearing uranium ore". *Biogeochem. Ancient Mod. Environ.*, 1980, 577-582.
- (137) DIX, R.B. "Laboratory heap leach testing: how small- and large-scale tests compare". *Mining Engineering*, 41, June 1989. 440-442.
- (138) POTTER, G.M. "Design factors for heap leaching operations". *Mining Engineering*, March 1981, 277-287.
- (139) GOW, W.A.; McCREEDY, H.H.; RITCEY, G.M.; McNAMARA, V.M., HARRISON, V.F. & LUCAS, B.H. "Bacteria-based processes for the treatment of low-grade uranium ores". In: *The recovery of uranium*. IAEA. Vienna 1971, 195-211.
- (140) GASOS, P. y MERINO, J.L. "Factores que afectan a la lixiviación estática" Informe JEN. R.9.65. Madrid 1965.

- (141) MERINO, J.L. y ALONSO, G. "Oxidación bacteriana de sales ferrosas en lecho de grava". Informe JEN. N.16.80. Madrid 1980.
- (142) CORDERO, G. y JOSA, J.M. "Lixiviación natural. Solubilización de uranio a largo plazo (Comparación de técnicas). Informe JEN. 2/47/63. Madrid 1963.
- (143) McCREADY, R.G.L.; WADDEN, D. & MARCHBANK, A. "Nutrient requirement for the in-place leaching of uranium by *Thiobacillus ferrooxidans*". Hydrometallurgy, 17, 1986, 61-71
- (144) WOOLERY, R.G. & RAMACHANDRAN, S. "Heap leaching an environmentally acceptable method for the economic processing of low-grade uranium ores". In: Communication to International Conference on Uranium. Quebec City, Canada, 15-18 Sep. 1981. 16pp.
- (145) PARSONS, H.W. "Bacterial leaching of Agnew Lake Mines uranium ore". Internal report EMI 74-16. Extraction Metallurgy Division. Ottawa. Nov. 1974. 13 pp.
- (146) .. "Microcomputer programs for heap leach operations". Eds. J.A.Milligan & D.A.Milligan. Marches 2005 Mistletoe Lane Edmond, Oklahoma 73034. Dec. 1987. 65pp.
- (147) RODRIGUEZ, E. "Determinación espectrofotométrica de uranio mediante análisis por inyección en flujo a nivel de partes por billón. Sistema FIA invertido y preconcentración por intercambio iónico en continuo". Facultad de Química. Universidad de Salamanca. 1988.
- (148) HERRERA, L.; RUIZ, P.; AGUILLON, J.C. & FEHRMANN, A. "A new spectrophotometric method for the determination of ferrous iron in the presence of ferric iron". J. Chem. Tech. Biotechnol. 44, 1989, 171-181.
- (149) FISHER, J.R. "Bacterial leaching of Elliot Lake uranium ore". The Canadian Mining and Metallurgical, 1966, 588-592.
- (150) ZAJIC, J.E. and NG, K.S. "Biochemical uranium leaching". Develop. Ind. Microbiol., 11, 1969, 413-419.
- (151) MacGREGOR, R.A. "The bacterial leaching of uranium". Nuclear Applications, 6,(1),1969, 68-72.
- (152) ASLAM, K.M. and ASLAM, M. "Bacteria aided water leaching of uranium ores". Nucleus (Karachi), 7, (1-2), 1970, 28-36.
- (153) DUNCAN, D.W. and BRUYNESTEYN, A. "Enhancing bacterial activity in a uranium mine". CIM Trans., Vol. LXXIV, 1971, 116-120.
- (154) GUAY, R. and SILVER, M. "Uranium biohydrometallurgy". Process Bioche. 16,(1),1981,8-17.

- (155) ESPEJO, R.T. and RUIZ, P. "Growth of free and attached *Thiobacillus ferrooxidans* in ore suspension". *Biotechnology and Bioengineering*, **XXX**, 1987, 586-592.
- (156) PORRO, S.; BOIARDI, J.L. and TEDESCO, T.H. "Bioleaching improvement at pH 1.4 using selected strains of *Thiobacillus ferrooxidans*". *Biorecovery*, **1**, 1989, 145-154.
- (157) HARRISON, V.F.; GOW, W.A. and IVARSON, K.C. "Leaching of uranium from Elliot Lake ore in the presence of bacteria". *Canadian Mining J.*, **87**, (5), 1966, 64-67
- (158) MONOD, J. "The growth of bacterial cultures". *Annual Review Microbiology*, **3**, 1949, 371-394.
- (159) CARRANZA, F.; MORAGA, J.M. y PEREDA, J. "Oxidación bacteriana del sulfato ferroso por la especie *Thiobacillus ferrooxidans*". *Ingeniería Química*, Nov. 1983, 51-58.
- (160) HARDCASTLE, S. and SHEIKH, A.M. "Applying tracer gas techniques to evaluate the air distribution in flood leaching stopes". *CIM Bulletin*, May 1988, 53-58.
- (161) MARCHBANK, A. "An update on bacterial leaching of uranium at Denison Mines". In: *Proceeding Int. Symp. on Uranium and Electricity: The Complete Nuclear Fuel Cycle*. Eds. K.H. Talbot & V.S. Lakshmanar. Saskatoon, 18-21 Sept. 1988. CNS, Toronto, 1988.
- (162) EHRLICH, H.L. and FOX, S.I. "Environmental effects on bacterial copper extraction from low-grade copper sulfide ores". *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.IX, 1967, 471-485.
- (163) NAPIER, E.; WOOD, R.G. and CHAMBERS, L.A. "Bacterial oxidation of pyrite and production of solutions for ore leaching". In: *Advances in Extractive Metallurgy*, Ed. M.J. Cahalan. IMM, London 1968. 942-957.
- (164) GUIRGUIS, L.A. "Recovery of uranium, vanadium and fluorine from phosphate ores". *Hydrometallurgy*, **14**, 1985, 395-401.
- (165) CHRISTISON, J. and BELSON, N. "Method for enumeration of *Thiobacillus ferrooxidans*". Ontario Research Foundation ORF. Report P-4488/G1. March 1984. 43 pp.
- (166) PETERS, E. "Dump, heap and vat leaching". En: *Hydrometallurgy: Theory and practice course notes*. Ed. Centre for Metallurgical and Process Engineering Department of Metallurgical Engineering. U.B.C. Vancouver, B.C. Chapter X. 10.1-10.32.
- (167) CORDERO, G.; GASOS, P.; MERINO, J.L. y SUAREZ, E. "Lixiviación estática de minerales españoles de uranio" *JEN.R.18.66*. Madrid 1966. 18 pp.
- (168) WOLF, H. "Ore size, a major factor affecting in situ uranium acid leaching". In: *Interfacing Technologies in Solution Mining*. Chap. 29. Eds. W.J.Schlitt & J.B.Hiskey. SME (AIME). NY 1981, 335-346.

- (169) EWART, D.K. and HUGHES, M.N. "The extraction of metals from ores using bacteria". *Advances in Inorganic Chemistry*. Vol.36. Ed.A.G.Sykes. Academic Press,Inc.San Diego 1991.103-133.
- (170) AHONEN, L.; HIETANEN, P. and TUOVINEN, O.H. "Temperature relationships of iron-oxidizing bacteria". In: *Biohydrometallurgy*. Eds. G.I.Karavaiko, G.Rossi & Z.A.Avakyan. Centre for International Projects USSR State Committee for Environment Protection. Moscow 1990. 21-28.
- (171) AHONEN, L. and TUOVINEN, O.H. "Microbiological oxidation of ferrous iron at low temperatures". *Applied and Environmental Microbiology*. Feb. 1989, 312-316.
- (172) NORRIS, P.R. "Bacterial diversity in reactor mineral leaching". In: 8th International Biotechnology Symposium. Paris, July 1988.
- (173) SAND, W.; ROHDE, K.; SOBOTKE, B. and ZENNECK, C. "Evaluation of *Leptospirillum ferrooxidans* for leaching". *Applied and Environmental Microbiology*, 58, (1), Jan. 1992, 85-92.
- (174) LOBATO, A.N.S. "Bacteriological lixiviation of low-grade uranium ores at low temperatures, by *Thiobacillus ferrooxidans*". INIS ATOMINDEX, Abstr. No 432982, 10, (5), 1979.
- (175) NORRIS, P.R. "Mineral-oxidizing bacteria: metal-organism interactions". In: "Metal-microbe interactions". Chap.7. Eds. R.K.Poole & G.M.Gadd. Ed. The Society for General Microbiology by IRL Press at Oxford University Press. Oxford, UK, 1989. Chapter 7. 99-117.
- (176) NORRIS, O.R. "Acidophilic bacteria and their activity in mineral sulfide oxidation". In: *Microbial Mineral Recovery*. Eds. H.E.Erhlich & C.L.Brierley. McGraw-Hill. NY 1990 3-27.111