

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
UNESP- Instituto de Química/Campus Araraquara
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

LAIZE FERNANDA PEREIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DESSULFURIZAÇÃO MICROBIANA DE CARVÃO CONTENDO ENXOFRE
PIRÍTICO EM ESCALA DE BANCADA

ORIENTADORA
Prof^a. Dr^a. Denise Bevilaqua

ARARAQUARA/SP

2016

LAIZE FERNANDA PEREIRA

**DESSULFURIZAÇÃO MICROBIANA DE CARVÃO CONTENDO ENXOFRE
PIRÍTICO EM ESCALA DE BANCADA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Química - Campus de Araraquara da Universidade Estadual Paulista - UNESP, como requisito para a obtenção do Título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Denise Bevilaqua

ARARAQUARA/SP

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

P436d Pereira, Laize Fernanda
Dessulfurização microbiana de carvão contendo enxofre
pirítico em escala de bancada / Laize Fernanda Pereira. –
Araraquara : [s.n.], 2016
91 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Denise Bevilaqua

1. Lixiviação bacteriana. 2. Carvão. 3. Enxofre. 4. Cultura
mista(microbiologia). 5. Ferro-Minas e mineração. I. Título.

DADOS CURRICULARES

LAIZE FERNANDA PEREIRA

DADOS PESSOAIS

Nascimento: 01/01/1988

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Guarulhos/SP

Filiação: Walter Pereira e Luzia Pereira

Estado Civil: Solteira

Profissão: Química

Endereço: Avenida Maria Isabel Lia Tedde Filpi, 347

Araraquara/SP

14804-409

e-mail: laize_fernandapereira@yahoo.com.br

2. FORMAÇÃO ACADÊMICA

Licenciada em Química pela Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara/SP, concluído em dezembro de 2013.

3. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Apresentações de trabalhos em congressos científicos

PEREIRA, L. F., BEVILAQUA, D., BIODISSOLUTION OF PYRITE IN COAL SAMPLE USING STRAINS OF *ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS* AND *ACIDITHIOBACILLUS THIOOXIDANS*, 28º Congresso Brasileiro de Microbiologia – CBM, 2015, Florianópolis/SC.

PEREIRA, L. F., BEVILAQUA, D., Remoção biológica de enxofre em carvão utilizando *Acidithiobacillus ferrooxidans*, 55º Congresso Brasileiro de Química – CBQ, 2015, Goiânia/GO.

3.2 Resumos publicados em anais de congressos científicos

PEREIRA, L. F., BEVILAQUA, D., BIODISSOLUTION OF PYRITE IN COAL SAMPLE USING STRAINS OF *ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS* AND *ACIDITHIOBACILLUS THIOOXIDANS*, 28º Congresso Brasileiro de Microbiologia – CBM, 2015, Florianópolis/SC.

PEREIRA, L. F., BEVILAQUA, D., Remoção biológica de enxofre em carvão utilizando *Acidithiobacillus ferrooxidans*, 55º Congresso Brasileiro de Química – CBQ, 2015, Goiânia/GO.

3.3 Participações em eventos

- 28º Congresso Brasileiro de Microbiologia - Florianópolis/SC, 2015.
- 55º Congresso Brasileiro de Química, Goiânia/ GO, 2015.

LAÍZE FERNANDA PEREIRA

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biotecnologia.

Araraquara, 22 de setembro de 2016.

BANCA EXAMINADORA



Prof^ª. Dr^ª. Denise Bevilaqua (Orientadora)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof^ª. Dr^ª. Mirian Cristina dos Santos
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof^ª. Dr^ª. Ana Teresa Lombardi
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde / UFSCar / São Carlos - SP

Dedico este trabalho aos meus amados pais, Luzia e Walter, pelo incondicional apoio em todos os momentos da minha vida, por serem meu porto seguro e fonte de amor, sabedoria e fé.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me guiar, iluminar e ter me dado tranquilidade para seguir em frente com meus objetivos e não desanimar com as dificuldades encontradas ao longo do caminho.

Aos meus amados pais pelo exemplo de vida, honestidade e sabedoria. Pelo apoio incondicional e suporte que sempre me ofereceram para enfrentar os desafios que escolhi em minha vida.

À minha querida irmã, Lidiane, pelo companheirismo, incentivo e conselhos carinhosos que sempre me ajudaram nas mais diversas situações. Agradeço por ser além de irmã, minha melhor amiga.

Ao meu querido cunhado, Hugo, a quem tenho como um irmão. Obrigada pelos momentos de descontração e risadas que sempre me proporcionam leveza na alma.

A minha orientadora Prof^a Dr^a Denise Bevilaqua pela oportunidade de ter desenvolvido este trabalho pelo qual me apaixonei. Pela paciência, dedicação, sabedoria, apoio e pelos ensinamentos, tanto profissionais quanto àqueles de vida, os quais contribuíram muito para o meu crescimento.

Aos meus queridos amigos, Bruna, Milena, Leonice e Douglas, presentes que a graduação me deu, os quais permanecem e permanecerão sempre comigo.

Aos companheiros de laboratório Samir, Rafael, Mari B, Debora, Renata e Sikandar pelas experiências trocadas durante todo esse período.

Às lindas meninas de iniciação científica, Aymê e Ariane, pela disposição em sempre estar ajudando no desenvolvimento deste trabalho e pelos momentos de alegria em nossa convivência.

À Josi, obrigada por ser essa pessoa de coração enorme e bondade imensa com a qual tive o prazer de conviver. Sou grata pelos conselhos, parceria, ajuda e

principalmente pela amizade a qual pretendo manter em minha vida. À Milena, pela ajuda, dedicação, conselhos e companheirismo ao longo deste tempo. À Luana, pelos inúmeros momentos felizes vividos em sua companhia, pela amizade, conversas, desabafos e pela grande ajuda que me ofereceu durante sua permanência em Araraquara. À Raquel pelos momentos de descontração, pela ajuda e amizade. Ao Riberto pela parceria de sempre. Ao Maurício, pela ajuda fornecida no entendimento das etapas deste trabalho.

Ao Waldenir por sua amizade, pela disposição em sempre ajudar, pelas sugestões e conselhos.

Ao Instituto de Química de Araraquara pela oportunidade e por toda a estrutura oferecida.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica pela convivência.

Às secretárias da Pós-Graduação em Biotecnologia e bibliotecárias do IQ, pela atenção e trabalhos prestados.

À banca examinadora de Qualificação, pelas sugestões.

Ao Laboratório de multiusuários pela disponibilidade de utilização do espectrômetro de infravermelho.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho os meus sinceros agradecimentos.

*“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os
tímoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo
certeza do seu destino”.*
(Leonardo da Vinci)

RESUMO

O carvão é a mais importante fonte de energia não renovável de origem fóssil do planeta. Um dos maiores problemas em sua utilização como fonte energética se deve à presença de enxofre na forma orgânica e inorgânica (pirita FeS_2). Durante a combustão do carvão, são lançados na atmosfera vários gases, entre eles o SO_2 que causam problemas ambientais como a formação de chuva ácida além da corrosão de “*boilers*”, oleodutos subterrâneos, instalações metálicas e maquinários de minas.

Há vários processos físicos e químicos para redução do enxofre antes da combustão do carvão, no entanto, tais métodos são dispendiosos, pois necessitam de condições extremas de temperatura e pressão. Os métodos biológicos de dessulfurização deste combustível fóssil têm demonstrado serem mais eficazes para tal fim.

Neste contexto o presente trabalho utilizou bactérias oxidantes de ferro e/ou enxofre, *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans* a fim de obter uma redução no conteúdo de enxofre pirítico do carvão fornecido pela Carbonífera do Cambuí. Ensaios de biolixiviação em frascos sob agitação foram conduzidos em diferentes condições com a finalidade de acompanhar a cinética de dissolução do enxofre pirítico na amostra mineral. Na fase líquida a evolução dos seguintes parâmetros foi monitorada: pH, Eh e íons ferrosos. A fase sólida foi caracterizada posteriormente através de medidas de difração de raio-X (DRX) e espectroscopia de infravermelho (FTIR). A quantificação parcial do enxofre total foi avaliada utilizando Analisador Preiser Mineco de acordo com as normas ABNT NBR 8295 e suas formas (pirítica, sulfática e orgânica) foram analisadas por normas ASTM.

Os ensaios utilizando tais microrganismos obtiveram redução de 44% no teor de enxofre total e de 90% no teor de enxofre pirítico. Como resultado das análises de raio-X observou-se a redução de picos característicos da pirita e o surgimento de uma nova fase cristalina durante o tratamento biológico. Os espectros de infravermelho indicaram que os microrganismos utilizados neste estudo foram capazes de interagir apenas com a fase inorgânica do carvão. Estes ensaios de bancada forneceram parâmetros para um posterior trabalho em escala de bancada utilizando colunas de biolixiviação.

Palavras-chave: Biolixiviação. *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Acidithiobacillus thiooxidans*. Carvão. Pirita.

ABSTRACT

Coal is the most important non-renewable energy source of fossil origin in the world. One of the major problem in using coal as an energy source is the presence of sulfur in the organic and inorganic form (pyritic FeS_2). During combustion of coal, SO_2 is released in the atmosphere, causing many environmental problems such as the formation of acid rain, beside this sulfur also causes the corrosion of boilers and installations of underground metal pipelines.

There are several physical and chemical processes to reduce sulfur in the coal before combustion, however, such methods are very costly, with the use of extreme temperatures and pressures. The biological method for desulfurization of the fossil fuel has proved to be more effective for such purpose.

In this context, the present work evaluated the use iron and/or sulfur oxidizing bacteria, *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in order to obtain a maximum reduction in the pyritic sulfur content of the coal supplied by the Carbonífera Cambuí. For this purpose, the bioleaching tests were performed in shake flasks and conducted under different conditions in order to follow the pyritic sulfur kinetics of dissolution of the mineral sample. In the liquid phase, the following parameters such as pH, Eh and ferrous ions were monitored. The solid phase was characterized subsequently by means of measurements of X-ray diffraction (XRD) and infrared spectroscopy (FTIR). The partial quantification of total sulfur was evaluated using Preiser Mineco analyzer according to ABNT NBR 8295 standards and other forms such as pyritic, sulfatic and organic were analyzed by ASTM.

The tests using such microorganisms obtained 44% reduction in total sulfur and 90% pyritic sulfur. The result of ray-X analyzes showed the reduction of characteristic peaks of pyrite and the emergence of a new crystalline phase during biological treatment. Infrared spectra indicated that the microorganisms used in this study were able to interact only with the inorganic phase coal. These bench tests provided parameters for further laboratory scale using bioleaching column.

Keywords: Bioleaching. *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Acidithiobacillus thiooxidans*. Coal. Pyrite.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Modelo proposto de estrutura de uma macromolécula de carvão.....	26
Figura 2 – Tipos de carvão mineral e seus principais usos.....	28
Figura 3 – Imagens da topografia microscopia de força atômica de <i>At. ferrooxidans</i> linhagem <i>LR</i> na superfície da calcopirita.....	36
Figura 4 – Mecanismo proposto para a biolixiviação. (A) Adesão bacteriana sobre a superfície do mineral e (B) Esquema do mecanismo de lixiviação cooperativa.....	41
Figura 5 – Composição dos frascos de acordo com cada condição estudada.....	50
Figura 6 – Fluxograma para realização dos ensaios para cada uma das condições	50
Figura 7 – Variação do pH nos ensaios de biolixiviação. (A) <i>At. ferrooxidans</i> adaptada, (B) <i>At. ferrooxidans</i> com adição de fonte energética, (C) <i>At. thiooxidans</i> e (D) Consórcio microbiano e <i>At. ferrooxidans</i> crescida em enxofre.....	56
Figura 8 – Variação do potencial de óxido redução nos ensaios de biolixiviação. (A) <i>At. ferrooxidans</i> adaptada, (B) <i>At. ferrooxidans</i> com adição de fonte energética, (C) <i>At. thiooxidans</i> e (D) Consórcio microbiano e <i>At. ferrooxidans</i> crescida em enxofre.....	60
Figura 9 – Variação na concentração dos íons Fe^{2+} nos ensaios de biolixiviação. (A) <i>At. ferrooxidans</i> adaptada, (B) <i>At. ferrooxidans</i> com adição de fonte energética, (C) <i>At. thiooxidans</i> e (D) Consórcio microbiano e <i>At. ferrooxidans</i> crescida em enxofre.....	64
Figura 10 – Porcentagem de enxofre total para cada condição avaliada.....	69
Figura 11 – Evolução na remoção de enxofre total.....	70

Figura 12 – Porcentagem de remoção do enxofre pirítico para cada condição avaliada. A porcentagem de remoção entre a condição inicial e final esta indicada acima de cada barra.....72

Figura 13 - Porcentagem de enxofre pirítico utilizando carvão não estéril.....73

Figura 14 – Difractogramas de raios X da amostra original do carvão (A) e dos resíduos finais do ensaio de biolixiviação na condição de melhor remoção de enxofre total *Af. adapt* + Fe^{2+} (B), e na condição de melhor condição de remoção do enxofre pirítico *Af. adapt* + carvão não estéril (C). Símbolos: Ka, caulinita; Ja, jarosita; Py, pirita; Qz, quartzo. Os números acima da identificação dos sinais indicam a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina.....75

Figura 15 – Espectros de FTIR-ATR de amostra de carvão antes e após o processo de biolixiviação e de seu controle abiótico utilizando os resultados dos ensaios com *Af.adaptada* + Fe^{2+} (A) e para o ensaio com *Af.adaptada* + carvão não estéril.....77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades do carvão mineral.....	24
Tabela 2 – Reservas e produção mundial de carvão.....	30
Tabela 3 – Preços do carvão mineral por tipo nos Estados Unidos.....	31
Tabela 4 – Jazidas do Paraná.....	33
Tabela 5 – Preços médios do carvão a vapor no Brasil.....	33
Tabela 6 – Análises iniciais na amostra de carvão fino nobre (dados fornecidos pela Carbonífera do Cambuí).....	46
Tabela 7 – Fases do procedimento experimental na adaptação da <i>At. ferrooxidans</i>	48
Tabela 8 – Teores de enxofre total e pirítico antes e depois dos tratamentos.....	71
Tabela 9 – Minerais identificados através das fases cristalinas mostradas na figura 13.....	74

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DA LITERATURA	24
2.1 Carvão	24
2.2 Utilidades do carvão	28
2.3 Panorama mundial das reservas de carvão	29
2.4 Panorama nacional das reservas de carvão	31
2.5 Métodos físicos e químicos de dessulfurização	33
2.6 Microrganismos envolvidos na biolixiviação	35
2.7 Dessulfurização microbiana de carvão	37
2.8 Mecanismos de biolixiviação	39
2.9 Fatores que influenciam a biolixiviação da pirita	41
3 OBJETIVOS	45
3.1 Objetivos específicos	45
4 MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1 Amostra mineral	46
4.2 Material biológico	46
4.3 Manutenções das linhagens	46
4.4 Ensaios de adaptação da <i>At. ferrooxidans</i> ao carvão	48
4.5 Ensaios de lixiviação em frascos agitados	49
4.6 Metodologia analítica	52
4.6.1 Medidas de pH e potencial de óxido redução (Eh)	52
4.6.2 Determinação de íons ferrosos (Fe²⁺)	52
4.6.3 Análises parciais de enxofre total	53
4.6.4 Análises finais de enxofre total e enxofre pirítico	53
4.7 Análises mineralógicas	54
4.7.1 Difração de raios X (DRX)	54
4.7.2 Análise estrutural por FTIR-ATR	54

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1 Ensaio de Biolixiviação.....	56
5.1.1 pH	56
5.1.2 Eh.....	60
5.1.3 Concentração de Fe²⁺	64
5.2 Remoção de enxofre total.....	68
5.3 Evolução da remoção de enxofre total.....	70
5.4 Remoção de enxofre pirítico e total por ASTM	71
5.5 Caracterização mineralógica.....	74
5.5.1 Análise DRX	74
5.5.2 FTIR - ATR	76
6 CONCLUSÃO	80
REFERENCIAS.....	83

1 INTRODUÇÃO

O carvão mineral é uma mistura de hidrocarbonetos, proveniente de depósitos de restos de plantas, árvores e materiais orgânicos que foram cobertos por argilas e areia de forma gradual, durante milhões de anos, sob determinadas condições de temperatura e pressão, gerando assim a expulsão do O₂ e H₂ e favorecendo a concentração de carbono (ANTUNES, 2014).

A matéria carbonífera é formada por carbono, oxigênio, nitrogênio, enxofre e traços de outros elementos e os carvões considerados de boa qualidade possuem baixos teores de material inerte (cinzas) e de enxofre além de um poder calorífico acima de 5.500 Kcal/Kg (BRASIL, 2007).

Segundo o Atlas de Energia Elétrica do Brasil (2005) esse combustível fóssil é classificado de acordo com esse conteúdo carbonífero e existe em quatro estágios: o primeiro é a turfa com teor de carbono na ordem de 45%; o segundo é o linhito apresentando um teor que varia entre 60% e 75%, seguido do carvão betuminoso ou hulha, que contém de 75% a 85% de carbono e o último estágio, o antracito, o mais puro dos carvões, com conteúdo carbonífero superior a 90%.

Dados da Agência Internacional de Energia de 2005 mostram que a produção e o consumo mundial de carvão concentram-se em dois tipos do mineral: o betuminoso/sub-betuminoso e o linhito. O primeiro apresenta um maior valor térmico sendo o mais comercializado internacionalmente. O linhito por sua vez, possui um valor térmico bem menor e, por isso, é mais utilizado na geração termelétrica no local de produção.

O carvão apresenta-se como a mais abundante fonte de energia primária, que é aquela proveniente diretamente da natureza, do planeta. As reservas mundiais totalizam cerca de um trilhão de toneladas e estão disponíveis no mundo de forma muito mais equitativa do que o petróleo e o gás natural. Cerca de 75 países possuem reservas expressivas, contudo 57% das reservas recuperáveis situam-se nos EUA (27%), Rússia (17%) e China (13%) e outros 33% encontram-se na Índia, África do Sul, Austrália, Ucrânia, Cazaquistão e Iugoslávia. Juntos esses nove países detêm 90% das reservas recuperáveis e respondem por cerca de 78% da produção mundial (MARRECO et al., 2006).

No cenário internacional, o carvão mineral configura-se como responsável por 40% da produção de energia elétrica mundial e 26% da energia primária, perdendo apenas para o petróleo (ANEEL, 2005).

No Brasil, o linhito e o carvão sub-betuminoso podem ser encontrados em vários estados, entre eles: Minas Gerais, São Paulo, Bahia, Pernambuco, Piauí, Maranhão, Pará, Amazonas e Acre sendo que as principais reservas estão localizadas na região Sul, nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (BORBA, 2001).

O Brasil detém a 10^a maior reserva mundial de carvão representando 1,1% das reservas totais. O carvão ainda luta por um espaço na matriz energética nacional, onde representa 5,4% da oferta interna. Hoje o carvão participa de 1,6% da produção de eletricidade no Brasil, a partir das usinas termelétricas localizadas na Região Sul próximo às áreas de mineração (ANTUNES, 2014).

A utilização do carvão mineral como fonte energética sofre a concorrência direta do petróleo e do gás natural. No entanto, cabe ressaltar que o investimento para a extração do carvão é cerca de cinco vezes inferior ao investimento necessário à extração do gás natural e quatro vezes inferior ao investimento para a extração do petróleo (ANEEL, 2005).

Devido à grande oferta de energia hidráulica barata e da baixa competitividade econômica do carvão, seu uso para a geração de energia no Brasil ainda é limitado, no entanto, a grande disponibilidade de reservas dessa fonte fóssil conjugada ao desenvolvimento de tecnologias menos poluentes e a crescente demanda por energia elétrica no país, poderá ocasionar a expansão das termelétricas a carvão no Brasil.

A expansão do carvão mineral na matriz elétrica brasileira pode ser importante, pois proporciona aumento da diversidade de fontes, com menores riscos de câmbio e de variações de preço, ao contrário do que ocorre com o petróleo e o gás natural. Tal característica livra o abastecimento energético das limitações geopolíticas ou de questões de segurança. Dessa maneira, o carvão apresenta um grande potencial de contribuir, por exemplo, no aumento das taxas de eletrificação nos países em desenvolvimento contribuindo para redução dos níveis de pobreza, para industrialização e para melhoria da qualidade de vida. Mais do que isso, não depende de condições climáticas, podendo ser utilizado como “backup” para geração eólica e hidrelétrica (BRASIL, 2007).

Com vistas à produção de energia elétrica tem ocorrido grandes investimentos em P&D (pesquisa e desenvolvimento), focados na redução de impurezas, diminuição de emissões das partículas com nitrogênio e enxofre (NO_x e SO_x) e redução da emissão de CO_2 .

Como citado anteriormente, o carvão possui associado a ele alguns elementos os quais são lançados na atmosfera durante a queima deste combustível gerando efeitos danosos ao meio ambiente. Entre os diversos elementos presentes no carvão, o enxofre é considerado como um constituinte indesejável e prejudicial não apenas a nível econômico, por ser um dos principais causadores dos entupimentos nas chaminés dos altos fornos (BOZDEMIR et al., 1996; ALLER et al., 2001), como também ambiental, devido a sua oxidação gerar SO_2 e SO_3 , principais causadores da poluição atmosférica que contribuem para a formação de chuva ácida (JUSZCZAK et al., 1995).

As emissões de SO_x lançados na atmosfera, dependendo da concentração, podem causar um odor desagradável, problemas respiratórios e cardiopulmonares à população, interferência na fauna e na flora e participam da acidificação das chuvas (ANEEL, 2005). O enxofre está presente no carvão, sobretudo em três formas: pirítico, orgânico e sulfático; além disso, uma pequena quantidade de enxofre também pode ser associada com o carvão sob a forma elementar (ACHARYA et al., 2004; SINGH et al., 2013).

A pirita representa valores de 50% a 80% do conteúdo total do elemento, entre os compostos que contêm enxofre, quando as porcentagens totais são maiores que 3% em massa (JUSZCZAK et al., 1995; CARA et al., 2005; CARDONA; MARQUEZ, 2009; CAICEDO; MARQUEZ, 2010). É por isso que muitas das investigações se concentram nos processos de remoção da pirita, baseados nos mecanismos de biolixiviação, que consiste na oxidação de sulfetos metálicos insolúveis, catalisados por microrganismos acidófilos em um meio aquoso, para torná-los solúveis na forma de sulfatos (KODALI et al., 2004; CARA et al., 2005; PETERSEN; DIXON, 2006).

Um dos conjuntos de técnicas utilizados na redução destes efeitos danosos é aquele que se destina à remoção de grandes proporções de enxofre e de outras impurezas antes da combustão do carvão visando reduzir a produção de SO_x e de cinzas durante este processo. Para tanto, utilizam-se métodos físicos e químicos de remoção de impurezas. Esses tratamentos têm custos elevados, envolvendo

catalisadores químicos sob condições extremas, elevadas temperaturas e altas pressões, além de gerarem resíduos e efluentes contaminantes que requerem um tratamento posterior (PRAYUENYONG, 2002; CARA et al., 2003).

Na busca de tecnologias alternativas para eliminar o enxofre do carvão de maneira mais econômica e amigável com o meio ambiente, os métodos biológicos têm despertado grande interesse por sua simplicidade de desenho e construções, sem inferir em altos custos de capital e de operação. Além disso, esses processos não necessitam de altas temperaturas e pressões para sua operação, auto-regeneram solventes, não produzem contaminantes gasosos e seus resíduos finais (sólido e líquido) são ambientalmente aceitáveis e tratados com certa facilidade (JUSZCZAK et al., 1995; BOZDEMIR et al., 1996; MORÁN et al., 1997; KLEIN, 1998; CARA et al., 2003).

Sabe-se que alguns microrganismos são capazes de metabolizar o enxofre presente no carvão e utilizar a energia liberada para seu crescimento. Microrganismos mesófilos, termófilos moderados, e extremamente termófilos exibem a capacidade de aumentar a oxidação da pirita e converte-la em compostos solúveis (PANDEY et al., 2005; CARDONA; MARQUEZ, 2009). Entre eles, o mesófilo *Acidithiobacillus ferrooxidans* é a bactéria mais frequentemente utilizada para remover pirita de carvão (ALLER et al., 2001; KIM et al., 2013).

Na *At. ferrooxidans* a energia para manutenção e crescimento dessa bactéria provém da oxidação de compostos de ferro e enxofre, sob condições ácidas. A oxidação do íon ferroso ocorre no espaço periplasmático da membrana celular em pH ácido (1,5 a 2,0) enquanto que a redução do oxigênio no interior da membrana ocorre em pH 6,5 (QUATRINI et al., 2005).

Outra bactéria que pode auxiliar na remoção do enxofre pirítico é a *Acidithiobacillus thiooxidans*. Esta bactéria foi isolada em 1922 por Waksman e Joffe e ficou conhecida pela sua velocidade em oxidar o enxofre elementar. A oxidação do enxofre a ácido sulfúrico por *At. thiooxidans* foi proposto com base na enzima oxidante de enxofre e no sistema enzimático oxidante de sulfetos (CHANDRAPRABHA; NATARAJAN, 2006).

O *At. thiooxidans* tem demonstrado um considerável potencial na biolixiviação, pois o fato de oxidar compostos contendo espécies de enxofre reduzido provoca uma diminuição nos valores de pH do meio, que pode chegar até 0,5, devido à elevada produção de ácido sulfúrico. Essa produção de ácido não

somente é capaz de promover o ataque protônico sobre o mineral e assim manter o íon férrico estável (SCHIPPERS; SAND, 1999), como pode realizar a decomposição das rochas, solubilizando, dessa maneira, compostos metálicos (BOSECKER, 1997).

A biossolubilização deste sulfeto em associação com o carvão vem sendo estudada por vários grupos em várias partes do mundo. Durante as duas últimas décadas, vários estudos foram feitos focando-se na lixiviação bacteriana para remoção do enxofre (SILVERMAN et al., 1961; SCHIPPERS; SAND, 1999; SAMPSON et al., 2000; LIU et al., 2003; DEVECI; BALL, 2010; CHOU, 2012; ROSSI, 2014).

De acordo com Zaerubina et al. (1959), que estudaram a oxidação da pirita no carvão soviético na presença de *At. ferrooxidans*, o princípio basal na dessulfurização microbiana do carvão, com principal ênfase na remoção do enxofre inorgânico, é baseado numa complexa combinação de oxidações espontâneas e microbiologicamente catalisadas do mineral sulfeto inorgânico presente no carvão. O microrganismo converte o enxofre inorgânico em sulfatos solúveis em água.

Pandey et al. (2005) investigaram a dessulfurização de carvões com alto teor pirítico e cerca de 80% do conteúdo de enxofre e 75% das cinzas do carvão foram removidas num período de 30 dias na presença de culturas mistas de *At. ferrooxidans* e *At. thiooxidans* isoladas da drenagem ácida de mina.

Já Singh et al. (2013) estudaram a biodesulfurização de diferentes formas de pirita de carvões indianos utilizando cepas de *Pesudoxanthomonas sp.* e verificaram que as amostras de carvão rico em pirita disseminada na matriz carbonífera foram submetidas à remoção mínima, enquanto a remoção máxima foi observada em amostras ricas em cavidade e fissura cheias de pirita.

Por sua vez, Cardona e Marquez (2009) investigaram a remoção microbiana de dois carvões colombianos usando culturas de microrganismos mesofílicos isolados da drenagem ácida da mina localizada na área do rio "Asnazú" no sudoeste da Colombia por 30 dias e obtiveram uma remoção de cerca de 90% do enxofre pirítico. Além disso, eles também identificaram as transformações mineralógicas ocorridas durante a biodesulfurização e como eles afetaram a eficiência no processo de remoção do enxofre.

Deste modo, podemos observar que existe um crescente interesse em estudos focados no processo de dessulfurização em carvões. A diminuição do teor de enxofre no carvão é um fator determinante para sua maior utilização na geração

de energia elétrica. Do ponto de vista energético, a redução da porcentagem de enxofre gera um aumento nas concentrações de matéria carbonífera tornando-o um material mais puro, e pelo aspecto ambiental, o enxofre considerado um elemento contaminante, tem seus teores diminuídos buscando adequar-se às legislações ambientais que estão cada vez mais rigorosas.

Sendo assim, o presente trabalho visa avaliar a diminuição do teor de enxofre pirítico empregando as técnicas de biolixiviação. Para isso utilizaram-se microrganismos isolados e em associação, com ou sem adição de fonte energética observando o comportamento na presença de carvão estéril e não estéril, a fim de se definir em qual das condições ocorrerá uma maior remoção de enxofre. Em cada caso, observou-se a cinética bacteriana envolvida no processo e as transformações mineralógicas ocorridas no mineral.

A análise da eficiência quanto à redução do teor de enxofre durante o processo poderá ser comparado, do ponto de vista técnico e econômico, com os processos físicos e químicos utilizados atualmente. Dessa forma poderá oferecer rotas alternativas para a dessulfurização do carvão e contribuir com novos conhecimentos a respeito do processo de biolixiviação do mesmo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Carvão

O carvão é uma rocha sedimentar combustível formada a partir da matéria vegetal soterrada e compactada em bacias originalmente pouco profundas. Fatores como pressão, temperatura, tectônica e seus tempos de atuação, determinam a carbonificação gradativa desse material. Com o aumento do grau de carbonificação ocorre a perda de oxigênio e de água e conseqüentemente o enriquecimento em carbono (STACH apud FALLAVENA)¹.

A classificação dos carvões leva em conta o grau de carbonificação do material vegetal a que deu origem além de seu conteúdo em matéria volátil, em carbono fixo, umidade, poder calorífico, teores de enxofre, entre outros (ANEEL, 2005). De acordo com estas propriedades, são classificados em:

- Turfa
- Linhito
- Betuminoso ou hulha
- Antracito

As propriedades de cada tipo de carvão podem ser observadas na tabela 1.

Tabela 1: Propriedades do carvão mineral.

Mineral	Cor	Brilho	Valor calorífico	% de carbono
turfa	parda	não tem	1.500 - 2.000	55 - 65
linhito	negro-parda	mate	2.000 - 7.000	65 - 80
hulha	negra	céreo	7.000 - 8.500	80 - 93
antracito	negra	intenso	8.500 - 9.000	93 - 98

Fonte: Adaptada de Rochas e Minerais Walter Shumann, 1985

A constituição elementar da matéria orgânica é basicamente carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre. O arranjo estrutural destes elementos pode ser idealizado como uma macromolécula constituída basicamente de ligações carbono-carbono e carbono-hidrogênio (Fig. 1). Os demais elementos estão

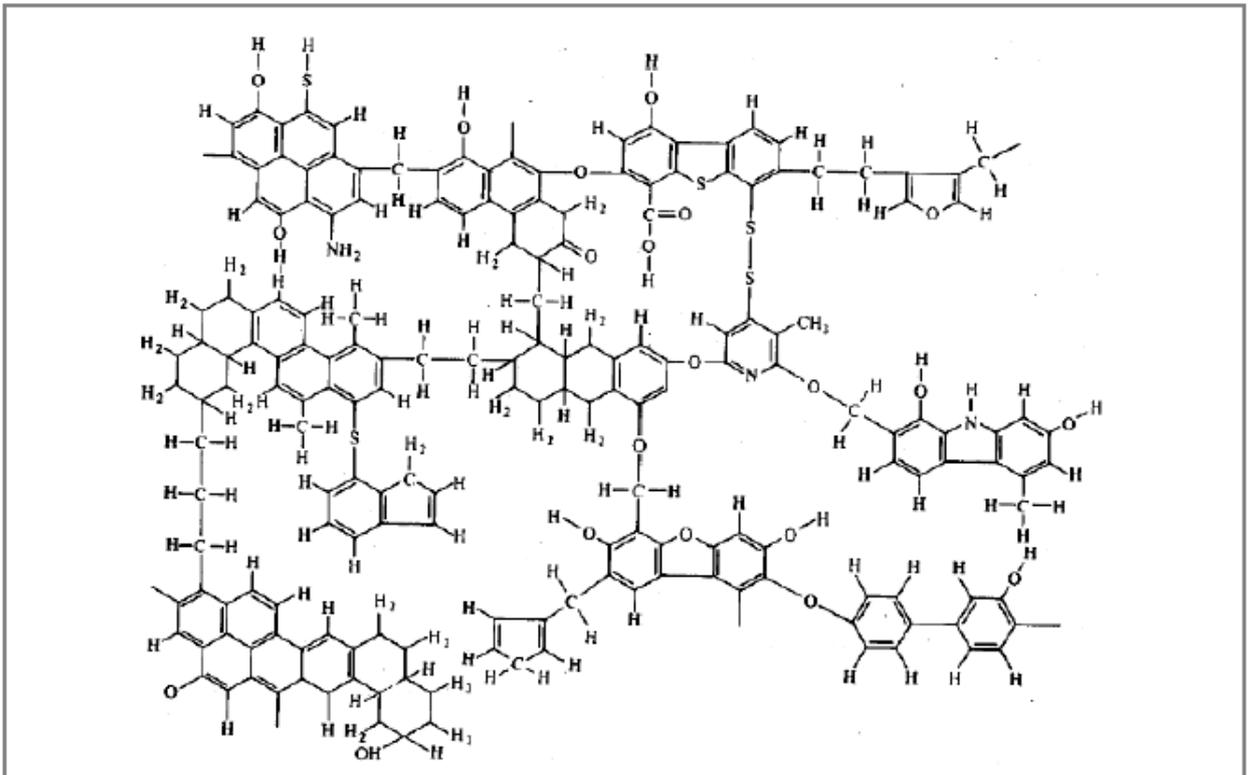
¹ STACH, E. **Coal petrology**. Gebruder Borntraeger. 2ª ed. Berlin, 1975.

distribuídos nas ramificações ou fazem parte do núcleo hidrocarbônico, porém em menor proporção. Esta estrutura é constituída basicamente de núcleos aromáticos e alifáticos ligados a grupos periféricos variados. Presa aos espaços vazios da macromolécula encontra-se a fase móvel, constituída de moléculas de baixo peso molecular. A fase móvel não está ligada à macromolécula e sua origem é atribuída a certos tecidos vegetais contidos nas plantas que originaram o carvão (STACH apud FALLAVENA; PIRES, 1990).

A composição elementar e estrutural da matéria orgânica depende do grau de carbonificação. A variação no teor de oxigênio também é função do grau de carbonificação do carvão. O nitrogênio, em geral, aparece ligado a grupos heterocíclicos da macromolécula e da fase móvel. A liberação de nitrogênio dá-se pela ruptura térmica destas ligações. Já o enxofre, associado à matéria orgânica, está na forma de grupos tioéteres, tiofenos e mercaptanos (PIRES, 1990). Vários autores sugerem que este tipo de enxofre é proveniente da formação do carvão através de plantas constituídas de proteínas e substâncias protetoras a partir da cisteína e cistina, aminoácidos que contém enxofre (CALKINS, 1994). O enxofre orgânico está distribuído por toda substância formadora do carvão e não pode ser removida por processos de beneficiamento mecânico ou lavagem. O enxofre orgânico deve ser considerado, portanto como homogeneamente combinado com o material de carvão (THIESSEN apud FALLAVENA; CALKINS, 1994)².

² THIESSEN, G. **In: Forms of sulfur in coal.** Chemistry of coal utilization. John Wiley & Sons. New York, 1945 v. 1, cap. 12. p. 425-449.

Figura 1: Modelo proposto de estrutura de uma macromolécula de carvão.



Fonte: White et al., 2005.

Os constituintes inorgânicos no carvão incluem os seguintes componentes sólidos e fluidos (VASSILEV; TASCÓN, 2003):

- matéria cristalina (mineral) tal como cristais, grãos, e agregados de vários minerais, bem como géis minerais (por exemplo: opala, zirconio, fosfatos, hidróxidos de ferro e manganês com redes cristalinas imperfeitas) entre outros;
- matéria não cristalina (amorfa), denominada vítrea, metacolóide e fases géis (por exemplo: material vulcânico ou cósmico, e alguns fosfatos, hidróxidos e silicatos);
- matéria fluida (umidade do poro ou superfície e inclusões inorgânicas gás-líquido) associada com constituintes inorgânicos e orgânicos sólidos.

As cinzas consistem de um resíduo inorgânico resultante da incineração do carvão a alta temperatura, composto de fases inorgânicas originais e de novas geradas de matéria inorgânica e matéria orgânica do carvão. A matéria inorgânica do carvão compreende sólidos (cristalinos e não cristalinos) e fluidos inorgânicos constituintes do carvão. A matéria mineral engloba várias espécies minerais (principalmente cristalinas) dentre as quais sulfitos-sulfatos, óxidos-hidróxidos,

silicatos, sulfatos, carbonatos, fosfatos, cloretos, elementos nativos e outras classes minerais (VASSILEV; VASSILEVA, 1996). Entretanto, constituintes tais como os elementos Al, Ca, Cl, Fe, K, Mg, Na, Si, Ti (presentes em baixas concentrações), covalentemente e ionicamente ligados à matéria orgânica (compostos organometálicos, sais de ácidos carboxílicos entre outros), em particular para carvões de baixo “rank”, não são incluídos na matéria inorgânica do carvão.

A matéria mineral é a principal fonte de elementos que compõem as cinzas quando o carvão é queimado ao ar ou em oxigênio. Quatro de cinco elementos geralmente considerados orgânicos (carbono, hidrogênio, oxigênio e enxofre) estão também presentes em combinações inorgânicas no carvão. O carbono está presente em carbonatos minerais (usualmente, cálcio, magnésio e ferro); o hidrogênio está presente em água livre e em água de hidratação; o oxigênio está presente em óxidos, água, sulfatos e silicatos (SPEIGHT, 2005).

Os componentes inorgânicos sulfurados do carvão são constituídos de sulfetos minerais, tais como pirita (FeS_2), a marcasita (FeS_2), esfarelita (ZnS), galena (PbS), calcopirita (CuFeS_2), pirrotita (Fe_{1-x}S) e arsenopirita (FeAsS). Dentre esses minerais a pirita é geralmente o sulfeto predominante no carvão e corresponde com 50% a 80% do valor total de enxofre presente no mineral quando estão em porcentagem de enxofre total acima de 3% em massa (JUSZCZAK et al., 1995; CARA et al., 2005; CARDONA; MARQUEZ, 2009; CAICEDO; MARQUEZ, 2010).

A pirita está distribuída pelo carvão em variadas formas: flamboidal (agrupamentos circulares de cristais nanométricos de pirita), cristais individuais, preenchendo fraturas e agregados dendríticos (DAI et al., 2003; CARDONA; MARQUEZ, 2009; CAICEDO PINEDA; GODOY, 2013). Estas diferentes formas de apresentação da pirita servem de bases para as mais diversas teorias sobre a origem deste sulfeto. Investigações sugerem que a pirita se formou como resultado da redução de sulfato de ferro presente nas águas filtradas no leito do carvão, seja por via hidrotérmica ou mediadas por microrganismos redutores de enxofre (especialmente na formação de framboidais). Outros estudos mostram que a pirita pode ser gerada da decomposição de material orgânico o qual libera H_2S no meio que entra em contato com sulfatos e compostos de ferro, reagindo e precipitando em forma de sulfato de ferro, transformando-se posteriormente em pirita (CALKINS, 1994, DAI et al., 2003).

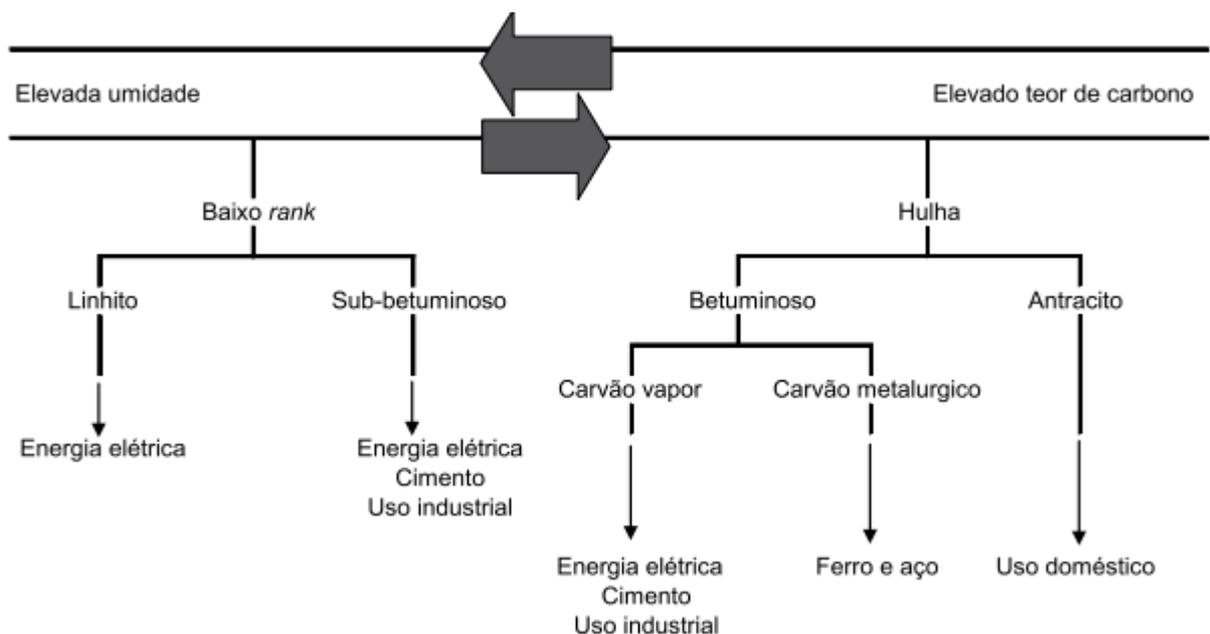
Os sulfatos minerais incluem a barita (BaSO_4), gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), anidrita (CaSO_4), FeSO_4 , jarosita ($\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$) entre outros (THIESSEN apud FALLAVENA; CALKINS, 1994). Este tipo de enxofre é escasso, raramente excede umas poucas porcentagens centesimais. Estes compostos se produzem principalmente da oxidação natural da pirita em condições úmidas (ELIGWE, 1988; CALKINS, 1994).

Além destes compostos de enxofre, os carvões podem conter proporções significativas de minerais do grupo dos silicatos, principalmente quartzo (SiO_2) e caulinita ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$), carbonatos como a calcita (CaCO_3) e dolomita, e uma variedade de hidróxidos de ferro como goetita ($\text{FeO}(\text{OH})$) (ELIGWE, 1988).

2.2 Utilidades do carvão

A utilidade do carvão mineral pode ser vinculada às suas propriedades como o alto poder calorífico por unidade de massa, já que o calor resultante da sua queima aquece caldeiras, que geram vapor, e movimentam turbinas gerando assim, energia elétrica. O gás produzido pelo carvão pode resultar em fertilizantes, amônia, combustíveis líquidos, lubrificantes, combustível para aviação e isqueiros, diesel, metanol, entre outros (ANEEL, 2008).

Figura 2: Tipos de carvão mineral e seus principais usos.



Fonte: World Coal Institute. Elaborado por ANEEL, 2008.

Os carvões de baixo “*rank*”, como o linhito, sofrem rápido desgaste, têm baixo poder calorífico e podem abrasar espontaneamente, por isto são destinados à geração de eletricidade. A hulha sub-betuminosa é utilizada na produção de cimento e na geração de calor para diversos usos industriais como a secagem de cerâmicas e fabricação de vidros. A hulha betuminosa é a mais comum, porque é o principal combustível utilizado em um alto forno, onde é fundido o minério de ferro para a produção do ferro metálico e aço; largamente utilizados na construção de pontes, edifícios, casas, carros, painéis, entre outros. O antracito normalmente sofre uso doméstico por causa da sua lenta combustão. O petróleo e o gás natural, por serem combustíveis fósseis, são o seu substituto mais próximo, mas ele pode ser substituído pelas mais diferenciadas fontes energéticas, como aquelas produzidas pelas hidroelétricas, pelo vento, pelo sol, bicomustíveis, etc. (BORBA, 2001; ANEEL, 2008).

2.3 Panorama mundial das reservas de carvão

Segundo o “*Energy Information Administration*” (FREME, 2005), o carvão é o combustível fóssil com a maior disponibilidade no mundo. As reservas provadas de carvão mineral mundial possuem um volume de aproximadamente 860 bilhões de toneladas com vida útil de 109 anos. Além disso, ao contrário do que ocorre com o petróleo e com o gás natural, as reservas de carvão apresentam uma distribuição geográfica mundial muito mais equitativa, sendo que 75 países possuem reservas expressivas. Ainda assim, das reservas existentes, 75%, concentram-se em cinco países: Estados Unidos, Rússia, China, Austrália e Índia (SUMÁRIO MINERAL BRASILEIRO, 2014).

A oferta mundial do carvão mineral em 2013, não apresentou crescimento significativo em relação ao ano de 2012. Cinco países tiveram aumento na produção: Austrália (10,9%), Indonésia (9,1%), Brasil (11,7%), Canadá (4,0%) e China com aumento de apenas 0,8%. Para os demais países, houve uma retração na oferta de carvão mineral, no caso em particular dos Estados Unidos com (-3,2%), que vêm diminuindo a sua produção em detrimento da substituição pela produção do gás de xisto. Os maiores produtores mundiais são: China (46,6%), Estados Unidos (11,3%), Índia (7,7%) e Austrália (6,1%) (SUMÁRIO MINERAL BRASILEIRO, 2014).

Tabela 2: Reservas e produção mundial de carvão.

Discriminação Países	Reservas ⁽¹⁾⁽⁴⁾ (10 ⁶ t)	Produção ⁽²⁾⁽³⁾ (10 ⁶ t)		
		2013	2012 ^(r)	2013 ^(e)
Brasil	3.232	6,63	7,41	0,1
China	114.500	3.650,00	3.680,00	46,6
Estados Unidos da América	237.295	922,06	892,64	11,3
Índia	60.600	605,84	605,13	7,7
Austrália	76.400	431,17	478,03	6,1
Indonésia	5.529	386,00	421,00	5,3
Rússia	157.010	354,80	347,10	4,4
África do Sul	30.156	260,03	256,70	3,3
Alemanha	40.699	196,17	190,27	2,4
Polônia	5.709	144,09	142,87	1,8
Cazaquistão	33.600	116,40	114,71	1,5
Ucrânia	33.873	88,20	88,20	1,1
Colômbia	6.746	89,20	85,50	1,1
Canadá	6.582	66,90	69,54	0,9
República Tcheca	1.100	54,10	48,98	0,0
Outros países	47.907	471,79	468,40	0,1
TOTAL	860.938	7.843	7.896,46	100

Fonte: World Coal Association, BP Statistical Review of World Energy 2013, U.S. Energy information Administration, ABCM (Brasil) e DNPM-AMB (Brasil). (1) reserva lavrável de carvão mineral, incluindo os tipos betuminoso e sub-betuminoso (hard coal) e linhito (brown coal); (2) Brasil: considera o somatório dos tipos betuminoso e sub-betuminoso (hard coal) e linhito (brown coal); (3) os dados de produção foram revistos, sendo considerada somente a produção beneficiada, em substituição à produção comercializada (produção beneficiada + estoques); (4) os dados de reserva são referentes ao início de 2013. (r) revisado; (e) efetivos

Em comparação à produção mundial, o comércio internacional de carvão é relativamente pequeno. Cinco países exportadores dominam o mercado: Austrália, China, Indonésia, África do Sul e Colômbia. Na América do Sul, a Colômbia e a Venezuela são importantes exportadores de carvão de baixo custo (BRASIL, 2007).

O preço do carvão é determinado predominantemente pelo seu conteúdo energético (em geral, expresso por Kcal/Kg) e pelo conteúdo de enxofre. No caso do carvão, a quantidade de cinzas tem importância secundária na formação do preço. Esses valores são apresentados a seguir (ANEEL, 2008):

Tabela 3: Preços do carvão mineral, por tipo nos Estados Unidos.

Ano	Betuminoso		Sub-betuminoso		Linhito		Antracito		Total	
	Nominal US\$	Real US\$								
1995	25,56	27,75	8,10	8,79	10,83	11,76	39,78	43,19	18,83	20,44
1996	25,17	26,82	7,87	8,39	10,92	11,64	36,78	39,19	18,50	19,71
1997	24,64	25,82	7,42	7,78	10,91	11,43	35,12	36,81	18,14	19,01
1998	24,87	25,78	6,96	7,21	11,08	11,49	42,91	44,48	17,67	18,32
1999	23,92	24,44	6,87	7,02	11,04	11,28	35,13	35,90	16,63	16,99
2000	24,15	24,15	7,12	7,12	11,41	11,41	40,90	40,90	16,78	16,78
2001	25,36	24,77	6,67	6,51	11,52	11,25	47,67	46,55	17,38	16,97
2002	26,57	25,50	7,34	7,05	11,07	10,63	47,78	45,86	17,98	17,26
2003	26,73	25,12	7,73	7,26	11,20	10,53	49,87	46,87	17,85	16,78
2004	30,56	27,92	8,12	7,42	12,27	11,21	39,77	36,33	19,93	18,21
2005	36,80	32,57	8,68	7,68	13,49	11,94	41,00	36,28	23,59	20,88
2006	39,32	33,73	9,95	8,54	14,00	12,01	43,61	37,41	25,16	21,58
2007	40,83	34,12	11,01	9,20	14,89	12,44	51,23	42,81	25,40	21,23

Fonte: Energy Information Administration (IEA).

Nota: preços em dólares norte americanos, por tonelada curta. Os valores reais foram calculados a partir do deflator implícito do produto nos EUA.

Segundo o “*Energy Information Administration*” (FREME, 2005), a evolução da demanda futura por carvão no mundo dependerá essencialmente dos seguintes fatores:

- taxa de penetração do gás natural no mundo;
- preço relativo do gás natural em relação ao carvão e ao petróleo;
- integração energética entre os países e
- disponibilidade de novas reservas de gás natural.

Considerando que as perspectivas de preço futuro do gás natural apontam para uma tendência de alta e que as recentes tensões políticas nas regiões importantes para o gás podem limitar a sua demanda futura, o carvão surge como uma alternativa energética relativamente barata e de suprimento seguro (BRASIL, 2007).

2.4 Panorama nacional das reservas de carvão

As reservas brasileiras são compostas pelo carvão dos tipos linhito e sub-betuminoso. As maiores jazidas situam-se nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, enquanto às menores estão no Paraná e em São Paulo. As reservas brasileiras ocupam o 10º lugar no ranking mundial, mas totalizam sete bilhões de

toneladas, correspondendo a cerca de 1% das reservas totais. Do volume de reservas, o Rio Grande do Sul responde por 89,25%; Santa Catarina, 10,41%; Paraná, 0,32% e São Paulo, 0,02%. Somente a Jazida de Candiota (RS) possui 38% de todo o carvão nacional (ANEEL, 2005).

Isso faz de Candiota a principal jazida brasileira. Localizada no sul do estado do Rio Grande do Sul, ela possui as maiores reservas e também as camadas de carvão de maior espessura, com grande continuidade e pequena cobertura. Essas características proporcionam a tal mina uma lavra em larga escala com grande rentabilidade. O mineral pode ser usado na forma “*run-of-mine*” (ROM), ou seja, na forma bruta, ou pode ser beneficiado para redução de cinza e enxofre. No mesmo estado, na região central, existem jazidas cujo carvão admite beneficiamento para produção de produtos de maior valor agregado e viabilidade econômica de transporte a curta distância. São várias jazidas, dentre elas destacam-se Charqueadas, Leão, Iruí e Capané (BORBA, 2001).

Ainda no Rio Grande do Sul, encontram-se as jazidas de Morungava/ Chico Lomã e Santa Terezinha, com aproximadamente 16% das reservas medidas do país. Trata-se de um carvão de melhor qualidade e para uso na siderurgia e em fundições (BRASIL, 2007).

No estado de Santa Catarina, segundo Borba (2001), as jazidas de Barro Branco e Bonito estão localizadas na bacia sul-catarinense e representam cerca de 21% das reservas medidas oficiais brasileiras. A camada Barro Branco apresenta propriedades coqueificantes, com características plásticas importantes para uso em blindagem com o carvão importado para a siderurgia. Quanto ao poder energético, pode ser classificado como de pobre a médio, admitindo beneficiamento. As jazidas a céu aberto já foram quase todas mineradas.

Finalmente, têm-se na região central do Paraná as jazidas de Cambuí e Sapopema, com um carvão de poder energético médio, representando menos de 1% das reservas medidas oficiais do país. A Tabela 4 apresenta as características do carvão de tais jazidas.

Tabela 4: Jazidas do Paraná.

Jazida	PC (kcal/kg)	Carbono (%)	Cinzas (%)	Enxofre (%)
Cambuí	4.850	30	45	6
Sapopema	4.900	30,5	43,5	7,8

Fonte: Carvalho, 2005

Em virtude da baixa qualidade do carvão nacional, quase toda a importação do mineral no Brasil é para uso siderúrgico, com exceção ao carvão colombiano comprado pela indústria cimenteira. Em 2013, a quantidade exportada foi de 361 toneladas, com o valor faturado de US\$ 147 mil. O crescimento verificado do quantum exportado foi de 30% em relação ao ano de 2012. Os principais países para os quais o Brasil exportou carvão (bens primários) foram Alemanha (98%) e Argentina (2%), conforme os registros do Ministério do desenvolvimento, indústria e comércio exterior (MDIC) (SUMÁRIO MINERAL BRASILEIRO, 2014).

Nos últimos anos, o carvão mineral nacional vem reconquistando o seu espaço no mercado de energia devido à necessidade de socorrer quanto à possível escassez de energia elétrica geradas por recursos hídricos (pela falta de água nos reservatórios) e, assim, garantir a eficiência energética nos estados do Sul do País. A produção interna em 2013 teve um desempenho positivo e esperado pela indústria carbonífera, comparada a 2012. A produção “*run of mine*” (ROM) apresentou crescimento de 13,2% de um ano a outro, assim como, para o carvão energético, com 11,6%; e finos, com destaque para o uso na metalurgia básica, com 41,7% (SUMÁRIO MINERAL BRASILEIRO, 2014).

Tabela 5: Preços médios do carvão a vapor no Brasil.

Carvão vapor (US\$/bep)	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
	16,9	15,3	13,5	11,0	8,3	9,8	8,3	7,9	8,5	11,4	14,1	16,1

Fonte: Empresa de Pesquisa Energética (EPE). Elaborado por DNPM.

Nota: o significado de bep é barril equivalente de petróleo

2.5 Métodos físicos e químicos de dessulfurização

O teor de enxofre é um importante parâmetro de qualidade do carvão, uma vez que a utilização direta de carvões com elevados teores desse elemento causa

sérios problemas tecnológicos e ao meio ambiente (VASILAKOS; CIINTON, 1984; KARACA; CEYLAN, 1997; SAIKIA et al., 2007). Elevadas quantidades de SO_x podem ser emitidas para a atmosfera quando o carvão é utilizado como combustível. O SO₂ produzido ocasiona poluição da atmosfera, chuva ácida e corrosão de caldeiras, tubulações e outros maquinários de mina (AYHAN et al., 2005; CARRILLO et al., 2009; MUKHERJEE et al., 2004).

No carvão metalúrgico, a presença de enxofre aumenta os custos de produção do aço, pois não pode ser mantido no produto final (KADIÖGLU et al., 1995). Portanto é fundamental e desejável a dessulfurização desses carvões antes de sua combustão bem como o conhecimento dos teores de enxofre nos carvões brutos e beneficiados (KARACA et al., 2003; MUKHERJEE; SRIVASTAVA, 2004; AYHAN et al., 2005; CARRILLO et al., 2009).

Geralmente uma porção do enxofre pode ser removida pelo processo de beneficiamento do carvão. Entretanto, esse procedimento remove o enxofre pirítico que existe no carvão na forma de partículas dispersas. Muitos depósitos de carvão contêm pirita e enxofre orgânico, combinados e finamente disseminados no carvão, não podendo ser removidos por técnicas de beneficiamento físico. Várias propriedades desses tipos de carvões podem ser melhoradas pela aplicação de um procedimento conveniente de beneficiamento.

Os métodos físicos de dessulfurização envolvem processos de separação hidráulica, lavagens em meios densos, flotação e aglomeração, no entanto, tais processos não conseguem eliminar o enxofre orgânico e tem seu rendimento diminuído quando se apresentam com tamanho de partículas pequenas e finamente dispersos no carvão (AKTAS et al., 1998; SRIPRIYA et al., 2001; DEMIRBAS, 2002; SRIPRIYA et al., 2003).

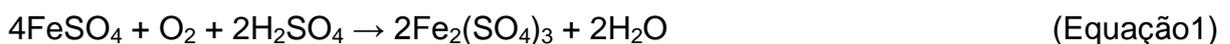
Por outro lado, têm-se também os métodos químicos para a remoção do enxofre associado ao carvão. Tais métodos consistem em submeter o carvão a soluções altamente alcalinas ou soluções com oxidantes fortes, como o peróxido de hidrogênio ou cloreto férrico em condições de alta temperatura (LOLJA, 1999). Apesar destes métodos obterem boas porcentagens de remoção de enxofre eles apresentam certas desvantagens como o uso de soluções alcalinas ou oxidantes que geram altos custos de operação e acabam por destruir certas propriedades coqueitizantes do carvão, afetando assim, sua qualidade quando são utilizados em processos metalúrgicos. Além disso, as reações ocorridas no processo podem gerar

contaminantes pouco amigáveis com o meio ambiente que requerem tratamento antes de serem descartados como resíduos (JUSZCZAK et al., 1995; PRAYUENYONG, 2002).

2.6 Microrganismos envolvidos na biolixiviação

Os métodos biológicos de remoção de enxofre se baseiam nos mecanismos da biolixiviação. Este processo, conhecido como biohidrometalurgia ou lixiviação bacteriana de metais, é um processo natural no qual alguns microrganismos (principalmente bactérias) promovem a solubilização de metais pela oxidação de sulfetos metálicos atuando de forma alternativa ou complementar a recuperação e obtenção de metais de minérios de baixo teor (GAHAN et al., 2012).

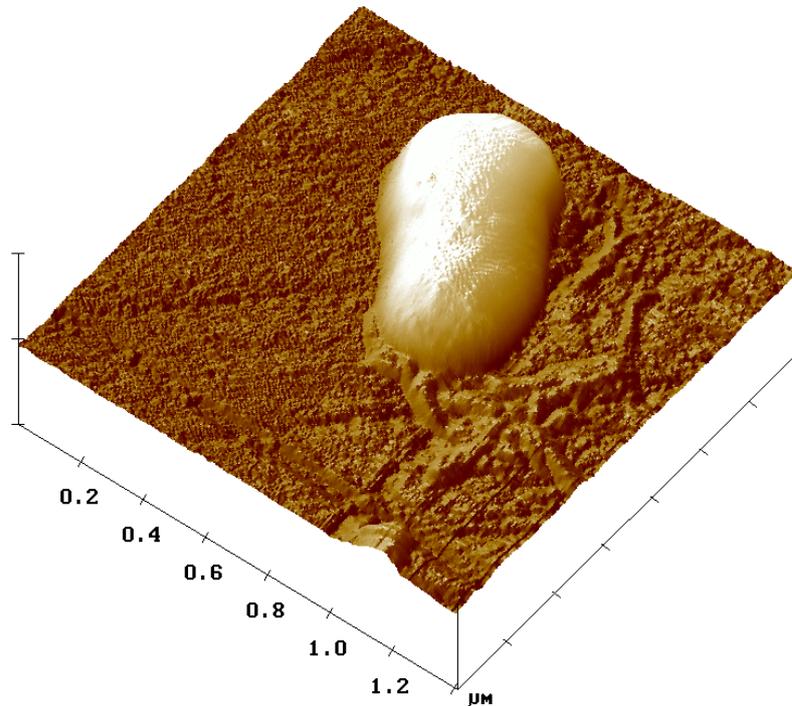
A maioria dos estudos no tema se concentra na utilização de *At. ferrooxidans*, o qual tem demonstrado um bom desempenho na oxidação da pirita (ELIGWE, 1988; GARCIA JR., 2007; ROSSI, 2014). Esta bactéria é autótrofa e quimiolitotrófica, cresce em pH ácido, obtém sua energia a partir de compostos reduzidos de ferro e/ou enxofre, utiliza como acceptor final de elétrons o oxigênio e requer poucos minerais em seu meio de crescimento (BOZDEMIR et al., 1996; NEMATİ et al., 1998). A reação de oxidação dos compostos de ferro e enxofre sob condições ácidas pode ser observada na equação a seguir:



A *At. ferrooxidans* é uma espécie não patogênica, gram negativa, que se apresenta na forma de bastonetes com flagelo polar e cílios, e com capacidade de se reproduzir por divisão binária (GARCIA JÚNIOR; URENHA, 2001). Esta bactéria tem uma generalizada tolerância a altas concentrações de íons metálicos, inclusive metais pesados (OLIVER et al., 1997; RAWLINGS, 2005), o que provavelmente é condicionada por um sistema genético altamente especializado e pode ser atribuída a presença constante de metais no próprio “*habitat*” da bactéria.

At. ferrooxidans foi a primeira espécie isolada de regiões mineradoras, e conseqüentemente tem sido a mais estudada e utilizada em experimentos. Na Figura 3 são apresentadas imagens de *At. ferrooxidans* – LR.:

Figura 3: Imagens da topografia microscopia de forças atômicas de *At. ferrooxidans*, linhagem LR na superfície da calcopirita.



Fonte: BEVILAQUA, 2003.

Outro microrganismo envolvido no processo de biolixiviação do carvão é a bactéria *Acidithiobacillus thiooxidans*. Esta bactéria foi isolada em 1992 por Waksman e Joffe e ficou conhecida pela sua velocidade em oxidar o enxofre elementar. A oxidação do enxofre a ácido sulfúrico por *At. thiooxidans* foi proposto com base na enzima oxidante de enxofre e no sistema enzimático oxidante de sulfetos como segue as respectivas reações (CHANDRAPRABHA; NATARAJAN, 2006):



Esse microrganismo tem demonstrado um considerável potencial na biolixiviação, uma vez que pode oxidar compostos contendo espécies de enxofre reduzido, provocando uma diminuição nos valores de pH do meio que pode chegar a 0,5, devido à elevada produção de ácido sulfúrico. Essa produção de ácido não

somente é capaz de promover o ataque protônico sobre o mineral e assim manter o íon férrico estável (Schippers; Sand, 1999), como pode realizar a decomposição de rochas, solubilizando dessa maneira, compostos metálicos (BOSECKER, 1997; CHAN et al., 2003).

Outros estudos também têm se concentrado na aplicação de diferentes tipos de microrganismos entre os quais os mais estudados são os *Sulfolobus sp.*, bactérias lixiviantes que podem crescer em temperaturas acima de 50°C, apresentando a capacidade de atacar todos os tipos de enxofre do carvão (orgânico e inorgânico) (DURUSOY et al., 1997), *Rhodooccus*, que são microrganismos que utilizam compostos organosulfurados como fonte de enxofre para seu crescimento, embora não como fonte de carbono (BOZDEMIR et al., 1996), além dos mesófilos tais como *Leptospirillum* e outros *Acidithiobacillus*, termófilos moderados como *Acidularius* e *Sulfobacillus* e termófilos extremos tais quais *Acidiamus* e *Metallosphaera* (CARA et al., 2005). Os fungos do gênero *Aspergillus* também têm sido estudados no processo de remoção do enxofre em carvões por terem demonstrado capacidade de atacar tanto o enxofre orgânico como o inorgânico (ACHARYA et al., 2004).

Estudos sobre o processo de biodessulfurização têm avaliado a eficiência dos cultivos puros e mistos na oxidação bacteriana da pirita e apontam para certas vantagens em se utilizar consórcios bacterianos sulfooxidantes. Tais vantagens incluem um aumento na relação de bio-oxidação de sulfetos frente ao uso de culturas puras, assim como a redução na formação de precipitados de sulfatos indesejáveis para o processo (ALLER et al., 2001; CARDONA; MARQUEZ, 2009; CAICEDO; MARQUEZ, 2010; ROSSI, 2014).

2.7 Dessulfurização microbiana do carvão

Como alternativa aos métodos convencionais de dessulfurização do carvão, os métodos biológicos têm despertado maior interesse nos últimos anos. Estes métodos consistem em processos mediados por microrganismos que participam dos mecanismos de transformação do enxofre (orgânico e inorgânico), formando compostos solúveis do elemento não desejado que possam ser eliminados por lixiviação (KODALI et al., 2004; PETERSEN; DIXON, 2006).

Estes processos possuem muitas vantagens frente aos métodos físicos e químicos entre os quais podemos citar:

- Capacidade de remover partículas de sulfetos finamente disseminados que não podem ser atacados por métodos físicos convencionais;
- Não produzem contaminantes gasosos, além de produzirem rejeitos sólidos e líquidos que são facilmente tratáveis;
- Possuem simplicidade e versatilidade do desenho e de operações;
- Não necessitam de mão de obra muito qualificada;
- Não fazem uso de temperaturas e pressões muito elevadas;
- São auto-regeneradoras dos agentes que atacam e transforma o enxofre, o que reduz ao máximo o consumo de reagentes durante o processo;
- Baixos custos de capital e operação;
- Possui a capacidade de reduzir o teor de cinzas após o processo de biodesulfurização, diminuindo assim, os componentes estéreis como alumínio silicatos, o qual ajuda a aumentar a capacidade calorífica bruta (CARA et al., 2005; CARDONA; MARQUEZ, 2009).

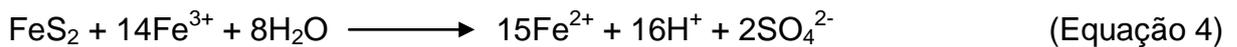
A biodessulfurização de carvão pode ser pensada também como um processo complementar a um pré tratamento físico no qual se removeriam grande parte dos estéreis e grãos de sulfeto grossos, enquanto os finos e dispersos ficariam a cargo dos microrganismos a fim de se alcançar um processo ótimo de dessulfurização com menor tempo de residência, principalmente para utilização do carvão como matéria prima num processo diferente dos de combustão (MARTINEZ et al., 2003).

Nos últimos anos, os avanços nos processos de remoção biológica de enxofre se concentram em buscar alternativas facilmente desenvolvidas dentro dos tipos de configurações para a montagem de plantas em níveis industriais (NIES, 1999; CARA et al., 2003; MALIK et al., 2004; GLEISNER et al., 2006; CAICEDO; MARQUEZ, 2010), que incluem as configurações de leitos estáticos, que consistem em um empilhamento do carvão de interesse, em tamanhos maiores que 0,5 mm por onde se percola um fluido que contém os agentes e microrganismos que interagirão com o substrato, solubilizando os produtos da oxidação do enxofre, e configurações em suspensões, que trabalham com carvão com tamanhos de partículas menores que 0,5 mm o qual se mantém em meio líquido sob agitação uniforme (RYU et al., 1993; ACHARYA et al., 2001; MALIK et al., 2001). Ambas as configurações vêm sendo

estudadas em escala de planta piloto (MORÁN et al., 1997; CARA et al., 2005; ROSSI, 2014). Para a implementação de qualquer uma das configurações é necessário que se conheçam os fatores que podem influenciar o processo de biolixiviação. Tais fatores incluem a cinética de oxidação da pirita, a disponibilidade e o tipo de carvão assim como o custo do tratamento (KLEIN, 1998).

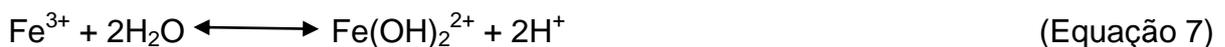
2.8 Mecanismo de biolixiviação

No processo de biolixiviação da pirita ocorrem reações químicas, enzimáticas e não enzimáticas, onde o sulfeto é oxidado por ação dos íons Fe^{3+} presentes na solução lixiviante. O mecanismo catalítico principal dos microrganismos como *At. ferrooxidans* consiste na regeneração do agente oxidante (NEMATÍ et al., 1998; SAND, 2001; TRIBUTSCH, 2001; FERGUSON; INGLEDEW, 2008).



Uma relação $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ alta, permite acelerar a oxidação do sulfeto uma vez que os íons Fe^{3+} são os principais agentes oxidantes nesse processo.

O consumo ácido por parte das bactérias geralmente é compensado pela hidrólise dos íons Fe^{3+} (SAND; GEHRKE, 2006), e também pelo aumento de acidez no meio provocado pela oxidação do enxofre elementar a ácido sulfúrico. Este elemento pode já estar presente no meio de cultivo ou ser gerado a partir da oxidação de alguns monossulfetos presentes (RAWLINGS, 2005; SAND; GEHRKE, 2006).



Concomitantemente a essas reações, ocorrem também outras reações que promovem a formação de hidrossulfatos, principalmente as jarositas, que são formadas pela precipitação de íon férrico em meios que contém sulfato e cátions alcalinos monovalentes, como encontrados na lixiviação bacteriana de sulfetos minerais (AHONEN; TUOVINEN, 1992; DAOUD; KARAMANEV, 2006).



A formação desses precipitados é dependente da temperatura e do pH, sendo que sua formação é facilitada em altas temperaturas e pH na faixa de 2 a 3 (NEMATl et al., 1998). Sua formação é indesejável no processo de biolixiviação do carvão, pois esse precipitado pode agir como um bloqueio entre a superfície do mineral a ser atacado e os microrganismos presentes no meio.

Em relação aos mecanismos pelos quais os microrganismos podem obter energia a partir de um mineral, ainda existem muitas controvérsias na literatura. São apontados três mecanismos básicos para explicar a relação entre substrato (mineral) e o catalisador microbiano: o mecanismo de contato direto, o indireto e o cooperativo (RODRIGUEZ et al., 2003).

O mecanismo indireto ocorre por meio de células planctônicas que estão principalmente envolvidas na regeneração do íon Fe^{3+} , um agente de oxidação forte presente na solução. Este ferro solúvel é responsável pela oxidação de sulfetos minerais expostos e outros compostos reduzidos (MALKI et al., 2006).

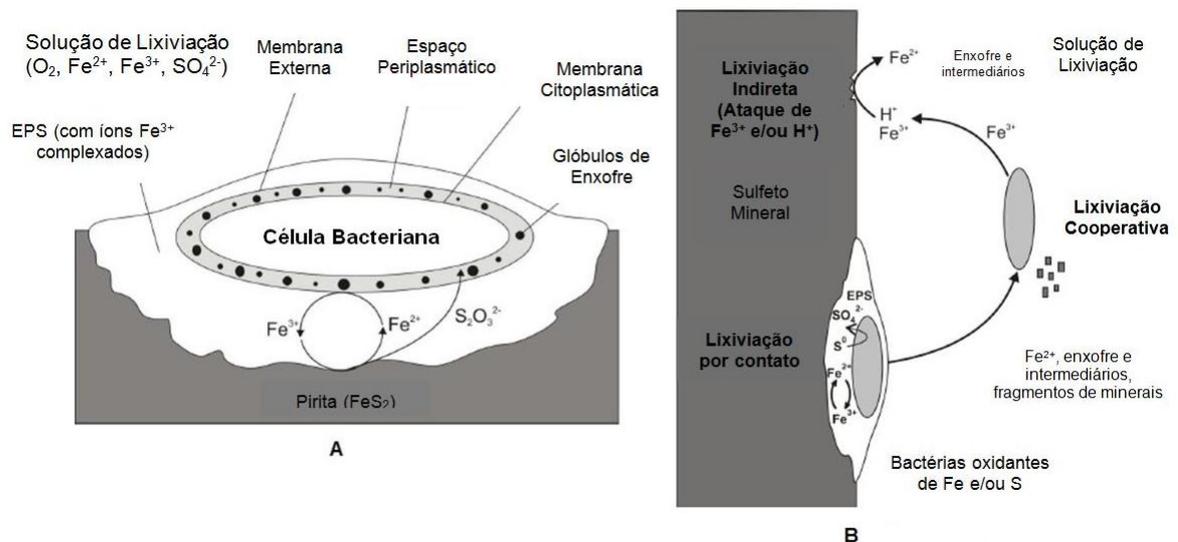
Para os outros mecanismos citados é essencial que aconteça a adesão das células bacterianas sobre a superfície do mineral (ROHWERDER et al., 2003; ZENG et al., 2011). Acredita-se que o contato bacteriano ocorre através da secreção, pela bactéria, de uma substância polimérica extracelular (EPS) como demonstrado na Figura 4 A.

O EPS é constituído principalmente por proteínas, lipídeos, açúcares e Fe^{3+} e esta combinação aumenta a esfera de reação da bactéria, além de ser o sítio da dissolução do mineral (ROHWERDER et al., 2003; LI et al., 2013). Esses autores sugerem que o ataque dos íons Fe^{3+} , dentro do EPS, extrai elétrons da superfície mineral os quais reduzem as moléculas de oxigênio através de uma cadeia redox complexa dentro das membranas bacterianas.

De acordo com Rodríguez et al. (2003) podem haver dois modos de adesão das bactérias, o reversível e o irreversível. A interação reversível resulta na formação de um complexo estável entre o mineral e a superfície bacteriana e pode se tornar uma célula livre novamente, enquanto que no contato irreversível este complexo se forma sob a secreção do EPS (LI et al., 2013).

O mecanismo cooperativo (Figura 4 B) é estabelecido entre as células aderidas e as planctônicas quando as células aderidas fornecem Fe^{2+} e enxofre para as células livres como fonte de energia. O resultado deste balanço é uma fonte eficiente de oxidantes (Fe^{3+}) para a oxidação e remoção de produtos de superfície.

Figura 4: Mecanismo proposto para a biolixiviação. (A) Adesão bacteriana sobre a superfície do mineral e (B) Esquema do mecanismo de lixiviação cooperativa.



Fonte: LI. et al., 2013 (adaptada).

2.9 Fatores que influenciam a biolixiviação da pirita

Para o monitoramento dos processos que envolvem a biolixiviação é necessário que certos parâmetros sejam observados, pois ajudam a determinar a atividade bacteriana na dessulfurização do carvão. Entre eles podemos citar:

- **Aeração:** Quando se trabalha com microrganismos aeróbios deve-se ter uma boa disponibilidade e transferência de oxigênio para o meio de modo que seu fluxo

se mantenha em excesso com relação ao seu consumo a fim de evitar que o oxigênio se converta em um reagente limitante (KARGI, 1983; RYU et al., 1993);

- Temperatura: Depende antes de tudo, do tipo de microrganismo utilizado no processo. As temperaturas de trabalho para oxidação de Fe^{2+} , enxofre elementar e sulfetos metálicos por microrganismos mesófilos, se encontram entre 30°C e 45°C, temperaturas maiores que estas podem destruir ou inibir as bactérias (ELIGWE, 1988; PRAYUENYONG, 2002);
- pH: Em geral, a tolerância e atividade dos microrganismos em relação ao pH varia muito entre as espécies, tem-se descrito valores ótimos de pH entre 1 e 5 (NEMATI et al., 1998). Para o caso de *At. ferrooxidans*, observa-se que um pH de 1,5 a 3,5 não afeta o crescimento, no entanto, valores maiores ou menores que estes podem inibi-las (NEMATI et al., 1998). É importante ressaltar que para se controlar a precipitação de ferro e jarosita o pH deve estar abaixo de 3. Alguns estudos mostram que a formação de jarosita diminui quando se trabalha com valores de pH entre 1,5 e 1,7 (DAOUD; KARAMANEV, 2006; PINEDA CAICEDO et al., 2011);
- Composição do meio lixiviante: O nitrogênio, potássio, cálcio, fósforo, ferro e magnésio são geralmente nutrientes essenciais para o crescimento dos microrganismos necessitando apenas de diferentes concentrações de acordo com as condições ambientais e as espécies envolvidas (ELIGWE, 1988);
- Concentração de íons metálicos: Muitas das bactérias oxidantes de enxofre são resistentes às altas concentrações de metais tais como Zn, Cu, Co, Cr entre outros; no entanto, alguns íons de metais como Al, U, Ag, Cd, As, Hg, Pb, são mais tóxicos para elas e altas concentrações podem, portanto, inibi-las (ELIGWE, 1988; NIES, 1999; MALIK et al., 2004; CABRERA et al., 2005);
- Concentração de ânions: Os grupos aniônicos presentes no meio de cultivo também podem interferir na velocidade de oxidação bacteriana. A *At ferrooxidans* requer SO_4^{2-} para a estabilização de complexos ferrosos a serem utilizados no sistema enzimático de oxidação (LAZAROFF, 1963; JENSEN; WEBB, 1995). Por outro lado, há relatos no qual a presença de outros ânions podem ter um efeito negativo sobre o processo, embora haja tolerância para SeO_4^{2-} , PO_3^{3-} , B_4O_7^- , TeO_4^{2-} , AsO_4^{2-} (INGLEDEW, 1908), resistência moderada a Cl^- (GAHAN, 2009) e inibição total na presença de F^- , Br^- , I^- e NO_3^- (INGLEDEW, 1908);

- Densidade de polpa do carvão: Uma alta concentração de sólido pode interferir no transporte de nutrientes e gases, além de aumentar a viscosidade do sistema. Também influencia o tipo de carvão e as formas de enxofre que ele possui (RYU et al., 1993; LOI et al., 1994; ROSSI, 2014);
- Compostos orgânicos: O carvão possui compostos orgânicos que podem conter grupos fenólicos, hidroxílicos e carboxílicos que afetam a química interfacial da solução lixiviante e influencia a atividade microbiana;
- Tamanho da partícula: A área de superfície é um dos fatores mais importantes do processo de oxidação bacteriana. A velocidade de remoção e lixiviação do mineral aumenta uma vez que aumenta a área de superfície, no entanto, existem limites na granulometria para o uso que se daria ao carvão tratado comercialmente (PRAYUENYONG, 2002; CARDONA; MARQUEZ, 2009; CAICEDO; MARQUEZ, 2010; ROSSI, 2014). Além disso, a redução no tamanho de partícula também implica num aumento da área de reação dos outros compostos presentes no carvão, entre eles os agentes alcalinos, os quais poderiam induzir a formação de precipitados insolúveis sobre o carvão (CARA et al., 2005; CARDONA; MARQUEZ, 2009);
- Forma e textura das partículas: Partículas minerais com formas irregulares e rugosas podem afetar a velocidade de reação devido a uma mudança de regime do líquido em torno da partícula (BOON et al., 1999; BLIGHT et al., 2000; RIMSTIDT; VAUGHAN, 2003; CARDONA; MARQUEZ, 2009; PINEDA CAICEDO; MÁRQUEZ, 2013);
- Fatores mineralógicos: Outro fator importante na reatividade das partículas, esta relacionada com as características intrínsecas dos cristais, tais como orientação, poli cristalinidade, presença de inclusões e fraturas. Tais características funcionam como sítios potenciais de alta reatividade, sítios preferenciais de dissolução etc., que aumentam a porosidade do material, o que aumenta a velocidade de reação (MARSDEN; HOUSE, 1992). Fatores adicionais como impurezas em nível estrutural (Ex.: Arsênio na pirita), podem afetar muito a eficiência do processo, na cinética das reações eletroquímicas, especialmente nos processos de bio-oxidação (LEHNER et al., 2007);

- Porosidade da partícula: Em sistemas heterogêneos, a velocidade de reação depende da acessibilidade da solução na superfície dos minerais (MARSDEN; HOUSE, 1992);
- Competição entre as espécies minerais: Alguns minerais presentes junto com o de interesse podem gerar reações químicas no processo que podem consumir os reagentes reduzindo assim, a velocidade da reação principal. A ação dessas reações indesejáveis pode ser eliminada mediante um tratamento prévio ao processo em si (MARSDEN; HOUSE, 1992; MALIK et al., 2004).

Com base no exposto até aqui, para qualquer aplicação do processo de biolixiviação na remoção do enxofre do carvão em escala industrial é necessário que estes parâmetros sejam estudados de acordo com a qualidade e composição do carvão a ser tratado.

Portanto, o presente trabalho visa avaliar algumas dessas condições tais como o tipo de microrganismo a ser utilizado e a adição ou não de fonte energética suplementar a fim de se estabelecer as condições ótimas para o processo de dessulfurização do carvão fornecido pela Carbonífera do Cambuí em frascos agitados para posterior aplicação em coluna.

3 OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi estudar a biodessulfurização do carvão pirítico utilizando as bactérias mesófilas *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans* isoladas e em associação no processo lixiviante.

3.1 Objetivos específicos

- Avaliar a redução do teor de enxofre presente nos carvões possibilitando assim um melhor rendimento energético desse combustível fóssil;
- Estudar as diferentes formas de enxofre presentes no carvão incluindo as fases minerais e suas composições;
- Estudar as transformações mineralógicas do carvão pirítico durante o processo e como afetam a eficiência de remoção do enxofre;
- Estudar a cinética de remoção do enxofre realizado pelas bactérias envolvidas nos ensaios durante o processo de biodessulfurização.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostra mineral

A amostra de carvão foi fornecida pela Carbonífera do Cambuí, localizada no município de Figueira no estado do Paraná. Tal amostra apresentou os seguintes dados fornecidos pela companhia e descritos na tabela 6:

Tabela 6: Análises iniciais na amostra de carvão fino nobre (dados fornecidos pela Carbonífera do Cambuí).

Amostra	% Cinzas	% Enxofre	% Carbono fixo	% Matéria volátil
Carvão Fino Nobre	10,96	3,3	55,25	34,59

Fonte: Autor

No laboratório essa amostra foi inicialmente processada em moinho de bola (MLW – KM1) até atingir uma granulometria 100% < 125 mm (115 mesh).

4.2 Material biológico

Foram utilizadas as linhagens *At. ferrooxidans* – LR, isolada de lixívia ácida de minério de urânio proveniente de Lagoa Real – Bahia e *At. thiooxidans* - FG01, isolada de drenagem ácida de mina de urânio de Figueira – Paraná (GARCIA JÚNIOR, 1991).

4.3 Manutenção das linhagens

Para manutenção periódica da linhagem bacteriana *At. ferrooxidans* foi utilizado o meio de cultura T&K, desenvolvido por Tuovinen e Kelly (1972).

Meio de cultivo T&K modificado (TUOVINEN and KELLY, 1972)

A composição e o modo de preparo do referido meio estão descritos a seguir:

Solução A:

(NH ₄) ₂ SO ₄	0,500 g
KH ₂ PO ₄	0,500 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,500 g
H ₂ O destilada	q.s.p. 800 mL
pH (H ₂ SO ₄ concentrado)	1.8

Solução B:

FeSO ₄ .7H ₂ O	33,3 g
H ₂ O destilada	q.s.p. 200 mL
pH (H ₂ SO ₄ concentrado)	1.8

A solução A foi esterilizada por 20 minutos a 120°C em autoclave e a solução B igualmente esterilizada por filtração em membrana (0.45 µm de diâmetro de poro). No momento do uso, as soluções A e B foram misturadas na proporção de 4:1, respectivamente. Frascos erlenmeyer de 500 mL foram utilizados para o cultivo bacteriano (inóculo em meio fresco de 5% v/v) em mesa agitadora (150 rpm) a 30°C.

Meio 9K

Para a manutenção e cultivo da *At. thiooxidans* utilizou-se o meio 9K (SILVERMAN; LUNDGREN, 1959). A composição e o modo de preparo estão apresentados a seguir:

Solução de sais:

(NH ₄) ₂ SO ₄	3,00 g
KH ₂ PO ₄	0,500 g
MgSO ₄	0.500 g
KCl	0,100 g
pH (H ₂ SO ₄ concentrado)	2.8

Fonte de energia

Enxofre sublimado..... 10,0 g L⁻¹

A solução de sais foi esterilizada em autoclave (120 °C, por 20 min., a 1atm) e o enxofre a 110 °C por 1 hora. No momento do uso adicionou-se 1,00 g de enxofre para 100 mL da solução de sais, em erlenmeyer de 500 mL.

4.4 Ensaios de adaptação da *At. ferrooxidans* ao carvão

Antes de iniciar os experimentos, foi realizada uma adaptação da linhagem bacteriana *At. ferrooxidans*-LR com o objetivo de promover o seu crescimento utilizando como fonte energética o conteúdo piritoso do carvão em substituições progressivas à fonte energética (Fe²⁺) do meio T&K conforme procedimento esquematizado na Tabela 7.

Tabela 7. Fases do procedimento experimental na adaptação do *At. ferrooxidans*.

Etapas	Concentração de Fe²⁺ (mMol L⁻¹)	Concentração de Carvão (% m/v)
1	60,0	0,200
2	30,0	0,400
3	15,0	0,800
4	7,50	2,00
5	-	2,50

Fonte: Autor

A adaptação bacteriana foi feita na presença de carvão estéril e não estéril. A esterilização da amostra mineral foi feita pesando-se o carvão (2,5% de densidade de polpa) em frascos erlenmeyer. Estes frascos foram então autoclavados a 120°C e 1 atm durante 20 minutos.

A bactéria utiliza rapidamente (24 - 48 horas) o íon ferroso adicionado ao meio, e após seu consumo total, a única fonte energética disponível para o crescimento e reprodução bacteriana é o sulfeto, assim o íon ferroso é utilizado

somente como um iniciador do processo metabólico da espécie (BEVILAQUA, 1999).

Cada etapa, apresentada na tabela 7, teve um tempo mínimo de incubação de 15 dias. Antes de iniciar a nova etapa, foram realizados testes de viabilidade da espécie, retirando-se uma alíquota de 1,00 mL do frasco em adaptação e inoculando-se em 10,0 mL de meio fresco T&K, nas mesmas condições de crescimento apresentada anteriormente. A viabilidade foi indicada pela oxidação total do Fe^{2+} após no máximo 15 dias de incubação. A fase posterior da adaptação somente ocorreu se a anterior respondesse positivamente aos testes realizados.

A bactéria assim adaptada foi utilizada para iniciar o processo de lixiviação da pirita, que teve suas condições experimentais definidas após os estudos de viabilidade, citados acima.

4.5 Ensaios de lixiviação em frascos agitados

Para os ensaios de biolixiviação foram utilizados frascos erlenmeyer de 500 mL, contendo a solução A do meio T&K, 5% (v/v) de inóculo e 2,5% (m/v) de carvão, resultando num volume final de 300 mL, sendo mantido sob agitação de 150 rpm a 30°C.

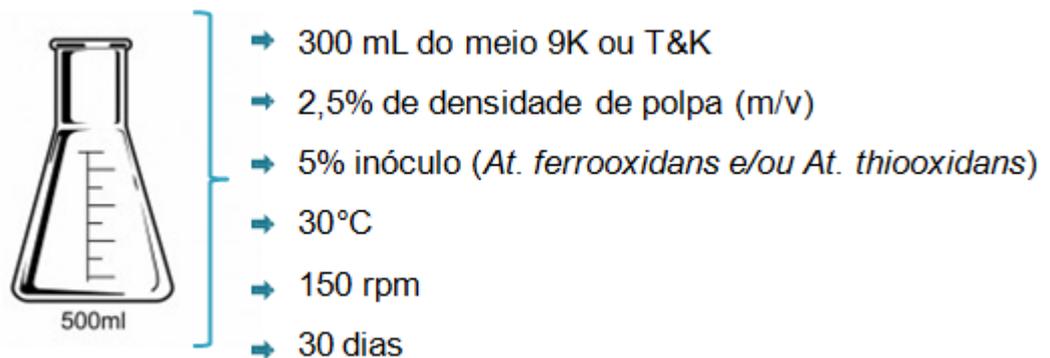
As condições estudadas foram as seguintes:

1. Meio inoculado (5% v/v) com o sobrenadante da cultura *At. ferrooxidans* – LR previamente adaptada ao carvão estéril;
2. Meio inoculado (5% v/v) com o sobrenadante da cultura *At. ferrooxidans* - LR previamente adaptada ao carvão não estéril;
3. Meio inoculado (5% v/v) com o sobrenadante da cultura *At. ferrooxidans* – LR com adição de fonte energética suplementar ($30,0 \text{ mMol L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$);
4. Meio inoculado (5% v/v) com sobrenadante da cultura *At. thiooxidans* – FG01(5% v/v) - com adição de enxofre;
5. Meio inoculado (5% v/v) com sobrenadante da cultura *At. ferrooxidans* - LR crescida em enxofre;
6. Meio inoculado (5% v/v) com sobrenadante da cultura *At. thiooxidans* – FG01 (5% v/v) - sem adição de enxofre;

7. Meio inoculado com *At. ferrooxidans* – LR (5% v/v) previamente adaptada + *At. thiooxidans* – FG01 (5% v/v).

Cada condição inoculada teve o seu respectivo controle abiótico. A figura 5 representa a composição dos frascos de acordo com cada uma das condições descritas acima.

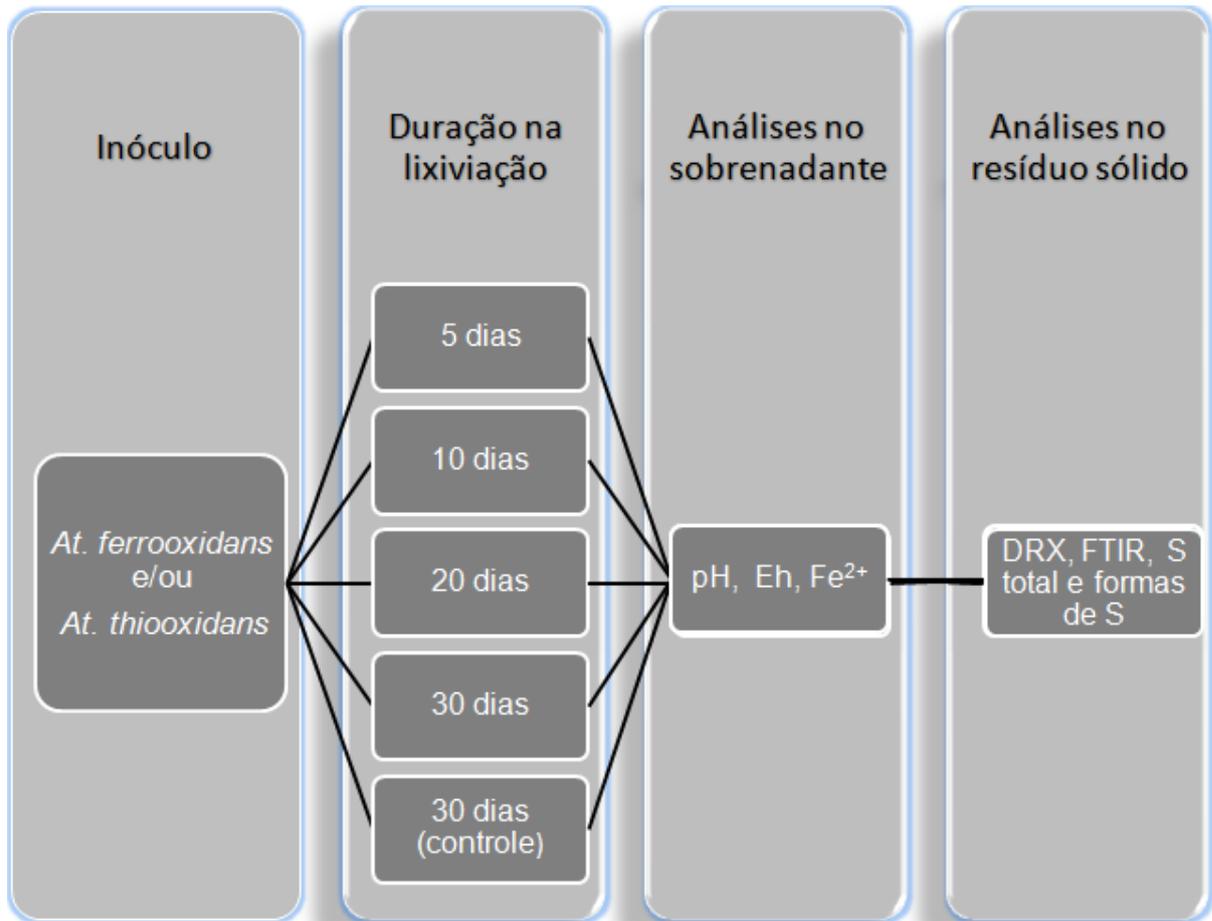
Figura 5: Composição dos frascos de acordo com cada condição estudada.



Fonte: Autor

Um esquema das amostragens e das análises feitas está representado na figura 6:

Figura 6: Esquema para realização dos ensaios para cada uma das condições.



Fonte: Autor

Todas as condições de ensaio foram realizadas em triplicata e foram acompanhadas por amostragens periódicas que incluíram medidas de pH, Eh e determinação de Fe^{2+} . A separação das fases sólida e líquida foi realizada por centrifugação a 4.000 rpm durante 4 minutos, sob refrigeração a 4°C (Centrifuge 5702R – Eppendorf).

Na fase sólida foram feitas análises por DRX e FTIR a fim de estudar as transformações mineralógicas ocorridas no carvão durante o processo e avaliar a evolução da redução de teor de enxofre presente nas formas orgânica e inorgânica, além de observar a formação de novas fases cristalinas nos resíduos sólidos.

Durante a biolixiviação o pH foi ajustado com o H_2SO_4 1,00 mol L⁻¹ esterilizado para o pH 1.8. Perdas de água por evaporação foram compensadas antes de cada amostragem pela adição de água destilada igualmente estéril.

Ao final dos ensaios, a fração sólida e líquida, dos frascos de 30 dias inoculados e dos respectivos controles, foi separada por filtração.

4.6 Metodologia analítica

4.6.1 Medidas de pH e potencial de óxido redução

O pH foi mensurado com o auxílio do pHmetro Corning 430 e o potencial de óxido-redução da solução (Eh) foi medido contra o eletrodo de Ag|AgCl|KCl (sat) em equipamento Micronal B374. Ambas as medidas foram realizadas no sobrenadante das amostras em intervalos de tempo pré-determinados.

4.6.2 Determinação de íons ferrosos (Fe^{2+})

Para monitorar a atividade microbiana para a produção de Fe^{2+} nos ensaios, a concentração de íons ferrosos foi determinada utilizando o método da 1,10-fenantrolina, que consiste na formação do complexo Fe (II) - fenantrolina, de coloração vermelha (LOVLEY; PHILLIPS, 1987). Esta análise foi feita imediatamente após a retirada da amostragem dos frascos de cada uma das condições estudadas.

Foram utilizadas as seguintes soluções:

- ✓ Solução de ortofenantrolina: monohidrato de 1,10-fenantrolina ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (2,00 g por litro de água destilada) e estocada em recipientes protegidos da luz, para evitar sua oxidação.
- ✓ Solução tampão de ácido acético/ acetato de sódio pH 3,2: 82,0 g de acetato de sódio anidro (CH_3COONa) em água destilada e completou-se o volume para 500 mL. Em outro balão volumétrico de 1,00 L adicionou-se 400 mL de água destilada e acrescentou - se 114 mL de ácido acético glacial se ajustando o volume.
- ✓ Solução padrão de íons Fe^{2+} : $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,491 g com 2,50 mL de H_2SO_4 e foi completada a 1,00 L com água deionizada).

Obtenção da curva analítica: a partir da solução padrão de íons Fe^{2+} foram preparadas soluções com concentrações crescentes de Fe^{2+} (0,00; 0,05; 0,10; 0,20; 0,50; 1,00; 1,50 e 5,00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$). A estas soluções foram adicionados 5,00 mL de

tampão acetato de sódio, 10,0 mL da solução de 1,10-fenantrolina e 100 µL de ácido clorídrico concentrado. O volume de todas as soluções foi completado para 25,0 mL em um balão volumétrico com água deionizada. Foi traçado um gráfico de absorvância em função da concentração de íons Fe^{2+} .

Para os ensaios em frascos agitados foi utilizada uma alíquota que variava de 100 µL a 400 µL de amostra com adição de 4,00 mL de solução de 1,10-fenantrolina e 2,00 mL da solução de tampão acetato de sódio, 100 µL de ácido clorídrico concentrado e o volume foi completado a 10,0 mL com água destilada. A leitura das absorvâncias foi realizada em um espectrofotômetro 600S Femto, utilizando um comprimento de onda de 510 nm.

4.6.3 Análises parciais de enxofre total

As determinações de enxofre total nos frascos sacrifícios que representaram as parciais de remoção nas amostras de carvão foram feitas pelo processo de combustão (hidróxido de sódio) utilizando o analisador de Preiser Mineco de acordo com a norma ABNT NBR 8295.

4.6.4 Análises finais de enxofre total e enxofre piritico

As análises finais dos teores de enxofre total e de enxofre piritico foram feitas nas fases sólidas separadas dos frascos de 30 dias de cada uma das condições e dos seus respectivos controles abióticos. Estas amostras foram enviadas ao laboratório SATC/LAEC - Associação Beneficente da Indústria Carbonífera de Santa Catarina - Laboratório de Análises e Ensaios de Carvão para quantificação das formas de enxofre. O teor de enxofre total foi avaliado de acordo com o método PO – 064 – REV 08 e para o enxofre piritico PO – 065 – REV 10, ambas baseadas nas normas ASTM D2492-02 e D4239-14.

4.7 Análises mineralógicas

Para realizar a caracterização da amostra original e dos resíduos foi utilizada uma combinação de técnicas como a difração de raio X (DRX) e FTIR-ATR.

4.7.1 Difração de raios X (DRX)

Para caracterização da estrutura cristalina dos materiais a difração de raios X (DRX) é a técnica padrão utilizada (MACHADO et al., 2011).

As análises de difratometria de raios X foram realizadas nas amostras iniciais e finais dos carvões em cada uma das condições estudadas. Antes de serem submetidos às análises, os sólidos foram lavados exaustivamente com água ácida (pH 1,8) e ácido clorídrico 5,00 mol L⁻¹, filtrados e secos em estufa a 60 °C.

Foi utilizado para a obtenção dos dados um difratômetro de ânodo rotatório de cobre marca Bruker modelo D8ADVANCE, e o Crystallographica Search-Match (versão 2.1.1.1), respectivamente. A região de medida foi de 3° a 70° (2 θ) passo 0,026° e varredura contínua de 2s.

4.7.2 Análise estrutural por FTIR-ATR

Quando a radiação eletromagnética irradiada possuir frequência de radiação correspondente à frequência de vibração da molécula, a energia de radiação infravermelha é absorvida pela molécula alterando o estado vibracional das ligações da molécula (McMURRY, 2005; SOLOMONS, 2001). Se durante a vibração a molécula sofrer variação, em seu momento dipolar o sinal será captado e observado a partir de um espectro.

A espectroscopia Refletância Total Atenuada (ATR) ou reflexão interna foi utilizada para a análise da amostra de carvão e esta técnica consiste na passagem do feixe de luz infravermelho por um cristal que está em contato com a amostra, detectando a variação no sinal (FERRÃO, 2001).

A técnica de FTIR, além de fornecer informações mineralógicas, pode ser utilizada para reconhecer compostos orgânicos na estrutura do carvão. No entanto, uma das maiores dificuldades relacionadas às amostras de carvão analisadas é a

sobreposição de bandas orgânicas e inorgânicas (CARDONA; MÁRQUEZ, 2009), bem como acontece com as análises de DRX.

Os minerais possuem bandas de absorção características na faixa do infravermelho, números de onda que variam de 4000 a 400 cm^{-1} o que possibilita a identificação qualitativa do mineral. No entanto, o espectro de uma amostra natural contém muitos componentes e é significativamente mais difícil de extrair resultados quantitativos (JI, J. et al., 2009).

As análises espectroscópicas no Infravermelho foram feitas no Espectrofotômetro Bruker FT-IR, modelo Vertex 70, detector DLaTGS com o contato direto da amostra sob o cristal (feixe de infravermelho) com resolução espectral de 4 cm^{-1} , 72 scan e limites entre 4000 a 400 cm^{-1} . As medidas foram realizadas no Laboratório de Multiusuários, localizado no Instituto de Química – UNESP-Araraquara/SP.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

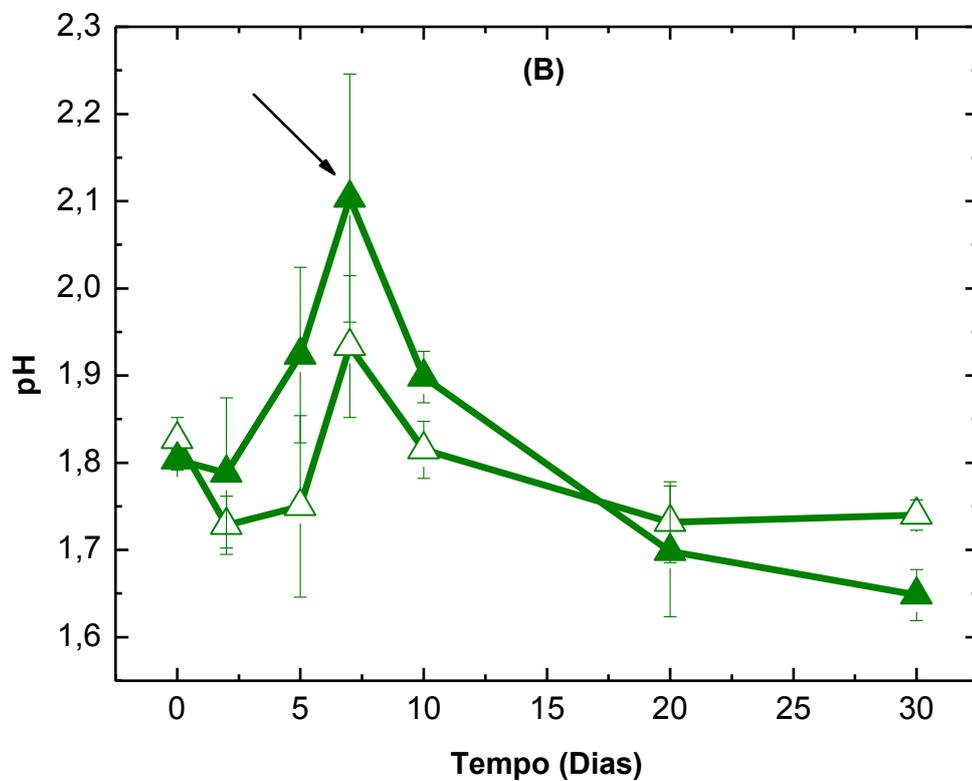
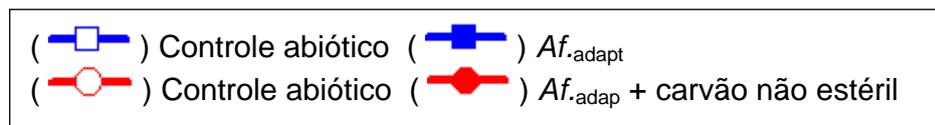
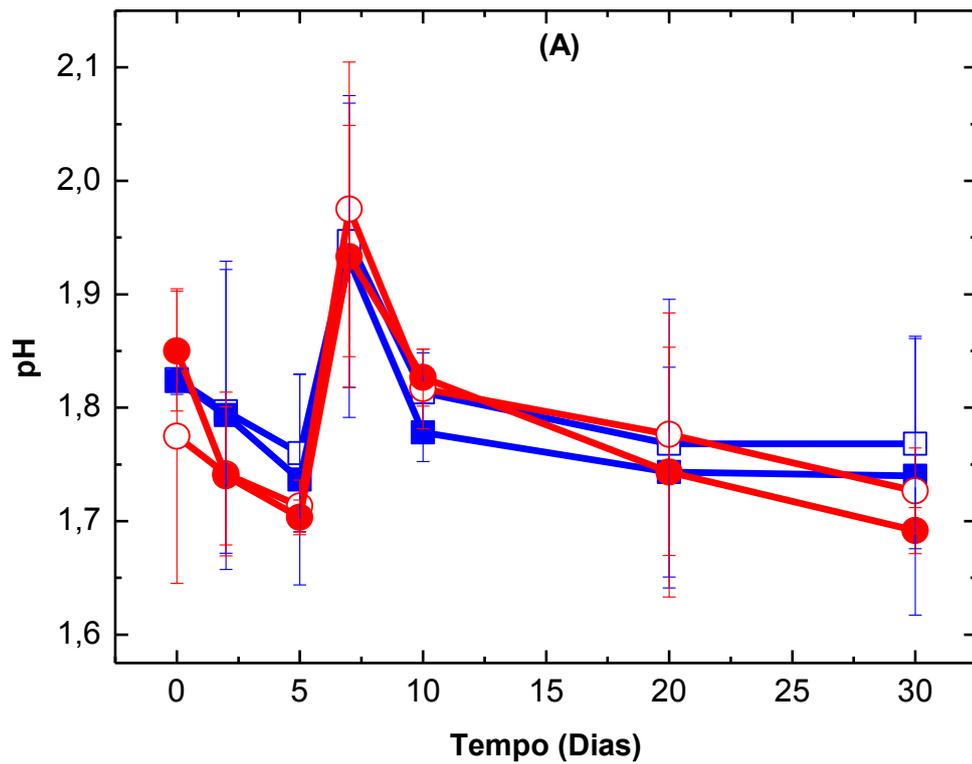
5.1 Ensaio de biolixiviação

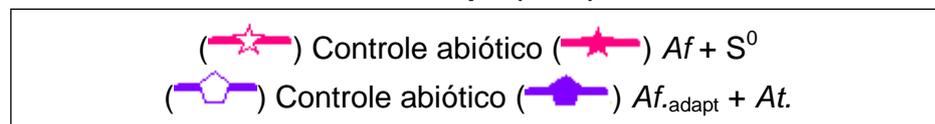
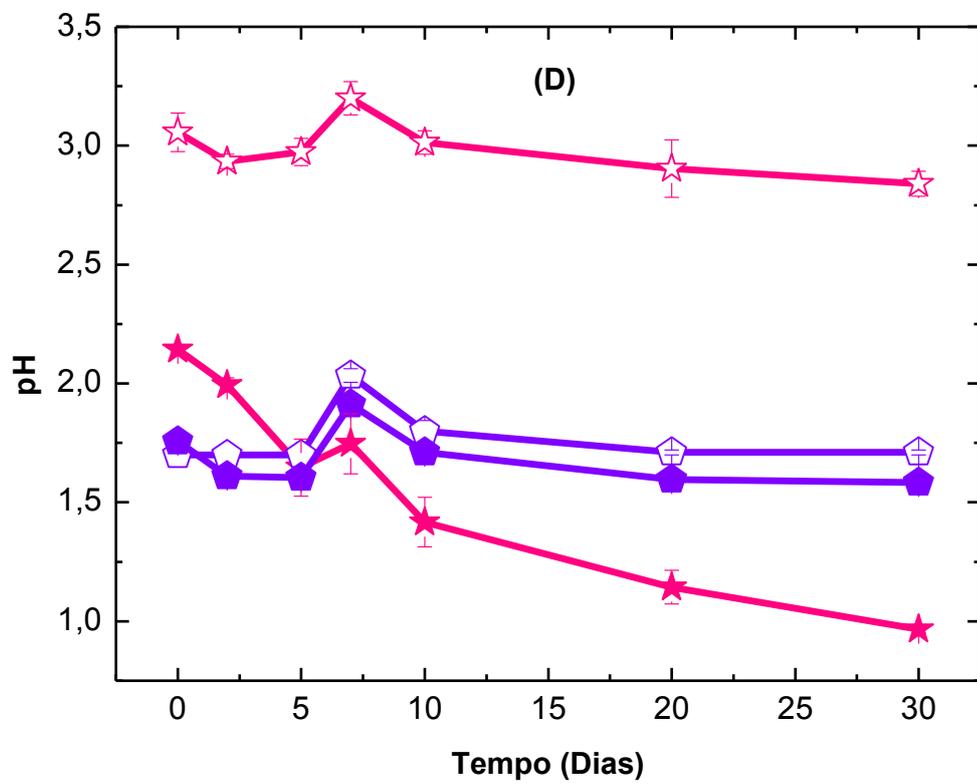
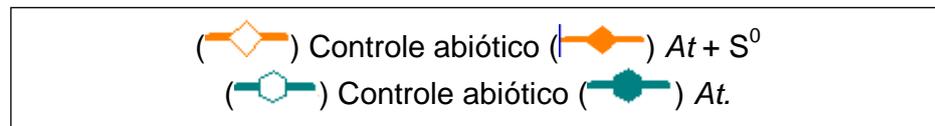
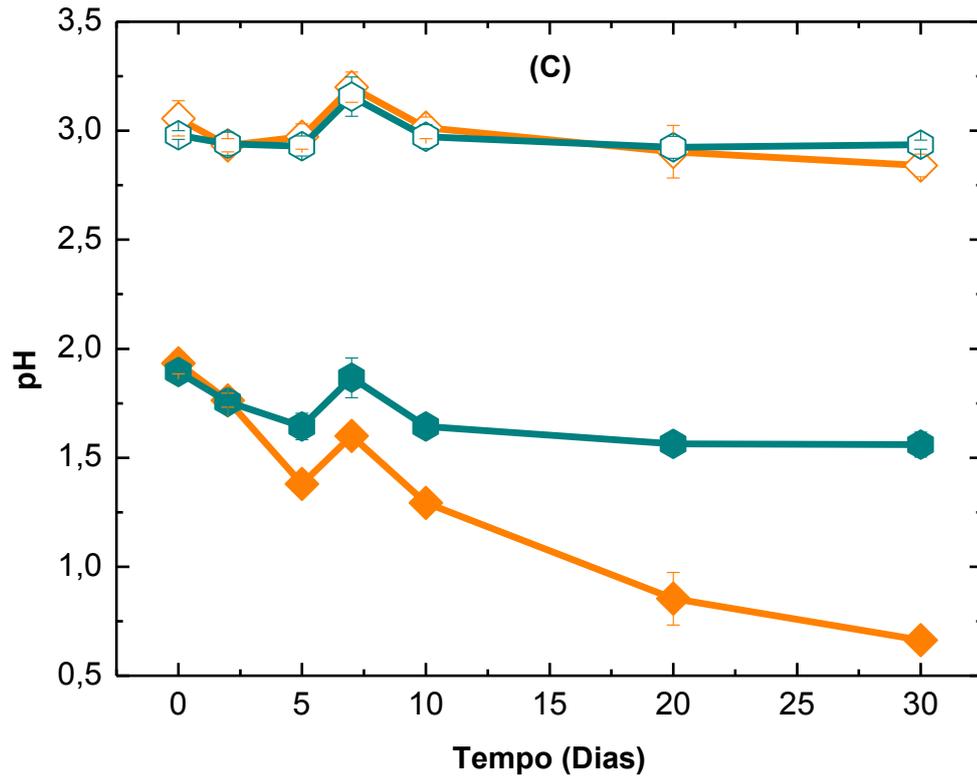
Considerando as condições propostas na metodologia, a aquisição dos resultados experimentais foi obtida utilizando cepas das bactérias *At. ferrooxidans* e *At. thiooxidans* isoladas e em consórcio, aplicadas em carvões estéreis e não estéreis.

5.1.1 pH

O primeiro parâmetro a ser monitorado durante o processo de biolixiviação para cada uma das condições estudadas está apresentado na figura 7. Nela podemos observar os resultados da variação de pH em função do tempo e seus respectivos controles abióticos.

Figura 7 – Variação do pH nos ensaios de biolixiviação. (A) *At. ferrooxidans* adaptado, (B) *At. ferrooxidans* com adição de fonte energética, (C) *At. thiooxidans*, (D) Consórcio microbiano e *At. ferrooxidans* crescida em enxofre.





Para as condições inoculadas com *At. ferrooxidans* em meio de cultivo T&K com e sem adição de fonte energética suplementar (figuras 7 A e 7 B) os valores de pH mantiveram-se praticamente constantes com o tempo e não foi observada grandes diferenças em relação ao controle abiótico nem em relação à utilização de carvão estéril e ao não estéril. No entanto, pode-se observar que no 7º dia dos ensaios houve, em todas as condições inoculadas com este microrganismo, um aumento de pH no meio seguido de um decaimento gradual. Pode-se observar um comportamento parecido na condição onde foi utilizando o consórcio microbiano envolvendo *At. ferrooxidans* e *At. thiooxidans*.

Diferentemente do comportamento observado com a *At. ferrooxidans*, nas condições utilizando *At. thiooxidans* houve uma diminuição progressiva dos valores de pH com o tempo atingindo valores próximos a 0,5 no final do ensaio (figura 7 C).

De maneira análoga, este comportamento também pode ser observado na condição onde foi utilizada a bactéria *At. ferrooxidans* crescida em meio 9K no qual se utilizou enxofre elementar como fonte de energia. Neste caso, porém, a diminuição do pH chegou a valores próximos a 1 ao fim do 30º dia (figura 7 D).

As diferenças observadas nos valores de pH refletem as características dos microrganismos envolvidos em cada ensaio.

É interessante notar que no sétimo dia o pH se elevou em todas as condições avaliadas, em maior ou menor extensão. Como os ensaios foram realizados em tempos diferentes sugere-se que este aumento de pH seja característico da amostra, pois mesmo na ausência de microrganismos este aumento foi observado.

De maneira a evitar que esta elevação do pH favorecesse reações de precipitação de ferro na forma de jarosita, uma vez que esses precipitados podem interferir na eficiência do processo de remoção de enxofre, e visando proporcionar à bactéria condições ótimas para seu crescimento, fez-se uma correção ácida no ensaio utilizando *At. ferrooxidans* com adição de 30,0 mmol L⁻¹ de Fe²⁺ pois (figura 7 B), foi o único que apresentou valores de pH acima de 2. Essa correção ácida foi feita com a utilização de H₂SO₄ 1,00 mol L⁻¹ estéril.

Por outro lado, os ensaios inoculados com a *At. thiooxidans* possuem como característica de sua atividade microbiana a diminuição de seus valores de pH. Essa diminuição está associada à produção de ácido sulfúrico como resultado da oxidação de compostos reduzidos de enxofre. A condição abiótica manteve-se praticamente inalterada com o tempo e próximo ao pH inicial do meio de cultura

(2,8). Nesta situação não ocorreu a formação de ácido sulfúrico que é promovido apenas na presença do microrganismo.

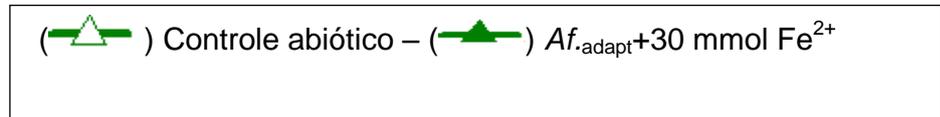
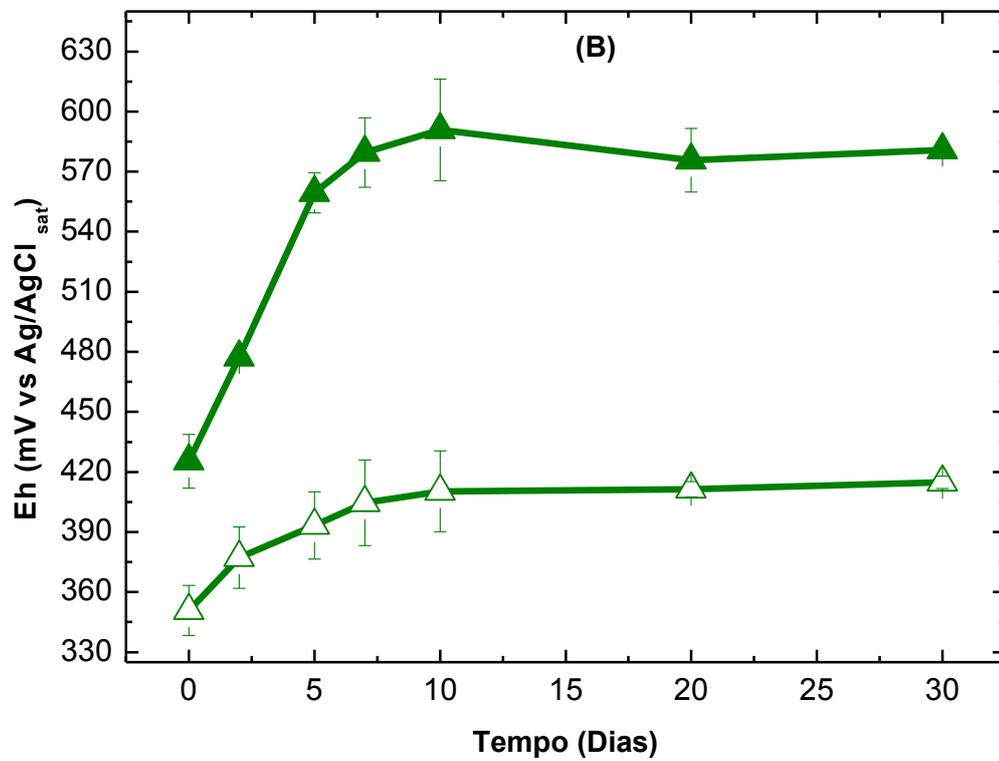
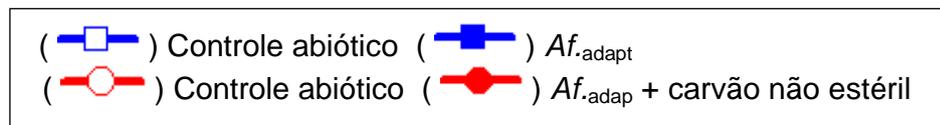
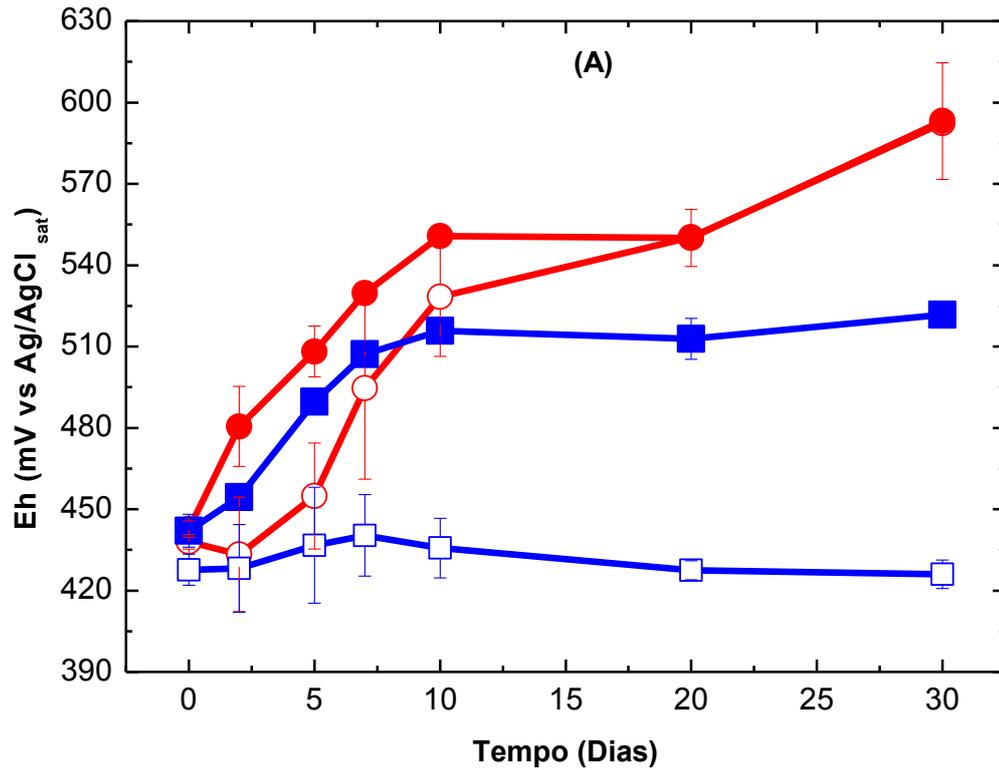
5.1.2 Eh

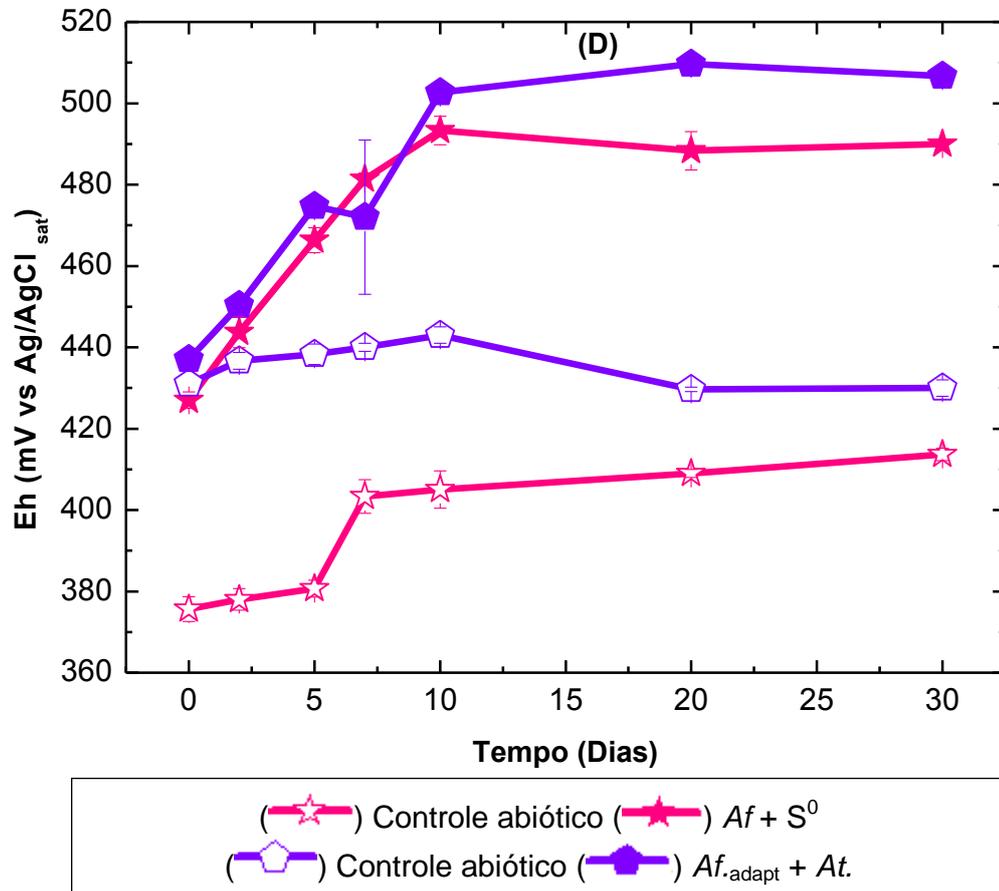
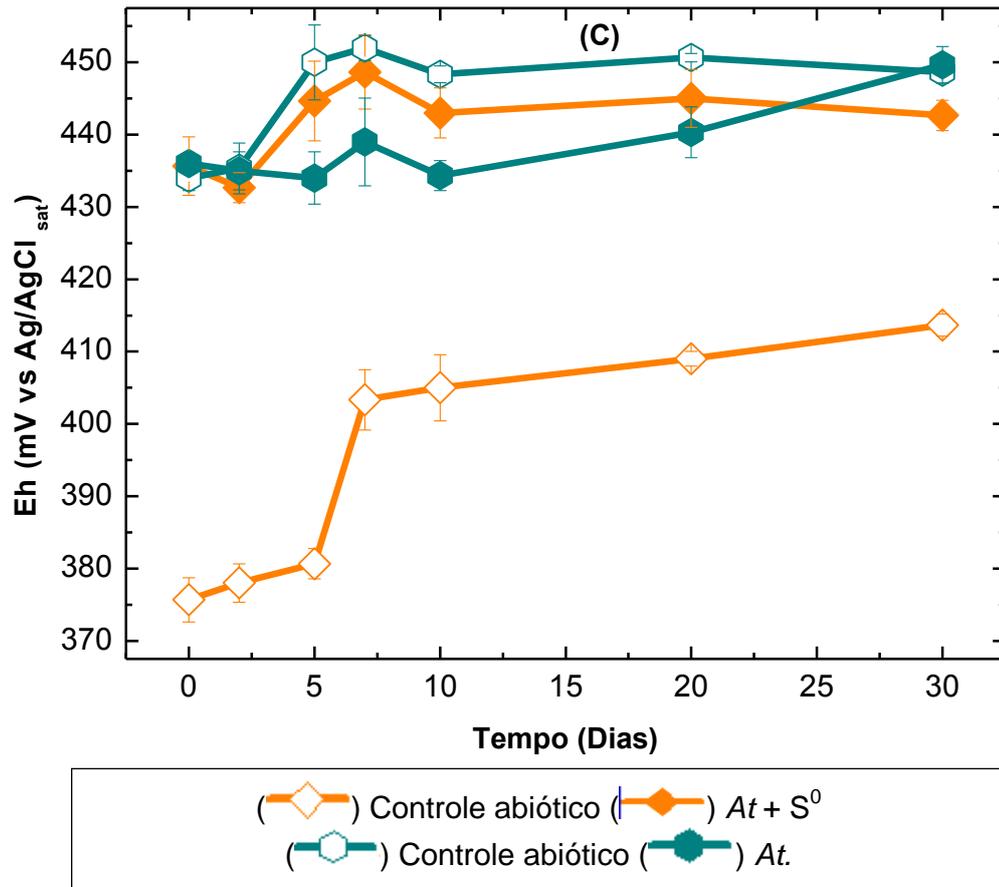
Outro parâmetro que foi estudado inclui o potencial redox durante o processo de dessulfurização.

A figura 8 apresenta o comportamento do potencial redox para todas as condições.

Figura 8: Variação do potencial de óxido-redução nos ensaios de biolixiviação.

(A) *At. ferrooxidans* adaptado, (B) *At. ferrooxidans* com adição de fonte energética, (C) *At. thiooxidans*, (D) Consórcio microbiano e *At. ferrooxidans* crescida em enxofre.





Os ensaios com a *At. ferrooxidans* apresentaram um comportamento crescente do Eh atingindo valores próximos a 600 mV. Os seus respectivos controles abióticos se mantiveram praticamente constantes não passando de 420 mV. Cabe ressaltar, no entanto, que este comportamento nos meios abióticos não foi observado quando foi utilizado carvão não estéril. Para este caso, o Eh atingiu praticamente os mesmos valores que seu respectivo meio inoculado após o décimo dia.

Para o ensaio utilizando *At. thiooxidans* a variação do Eh foi muito pequena tanto nos meios inoculados como nos seus controles abióticos. Tais valores não ultrapassaram 450 mV.

No caso da condição onde foi utilizado o consórcio bacteriano observa-se que houve predominância do comportamento típico da *At. ferrooxidans* com uma curva crescente de Eh em seus meios inoculados atingindo valores próximos a 500 mV enquanto seus controles abióticos não apresentaram mudanças tão significativas. O mesmo comportamento ocorreu para a bactéria *At. ferrooxidans* crescida em enxofre.

A elevação dos valores de Eh quando se utilizam cepas da *At. ferrooxidans* é característico da atividade bacteriana, uma vez que a atividade dos organismos oxidantes de ferro eleva a razão Fe^{3+}/Fe^{2+} . O ensaio abiótico onde foi utilizado o carvão não estéril apresentou um comportamento típico de meios inoculados. Isto pode ser explicado pelo crescimento microbiano dos microrganismos nativos do carvão que podem estar aderidos na superfície desse material uma vez que foram fornecidas as condições ótimas para seu crescimento.

Para o caso dos ensaios inoculados com *At. thiooxidans*, estas bactérias utilizam apenas compostos reduzidos de enxofre como fonte energética não utilizando, portanto, o ferro. Sendo assim a mudança no valor do Eh se deve apenas a oxidação química natural da amostra mineral no meio lixiviante que é favorecido no ensaio inoculado devido à produção de ácido sulfúrico pela bactéria que diminuiu gradualmente seu valor de pH.

Deste modo, o potencial de óxido – redução representa a tendência de uma solução ser oxidada ou reduzida, ou seja, sua capacidade de capturar ou liberar elétrons. O potencial redox também permite inferir sobre a atividade metabólica bacteriana. Nas amostras contendo microrganismos o potencial da solução se deve em função da razão Fe^{3+}/Fe^{2+} enquanto nas condições abióticas o potencial redox

se deve ao potencial eletroquímico dos íons hidratados. Seu valor pode ser calculado de acordo com a equação de Nerst:

$$E_h = E^0 + \frac{2,3 * R * T}{n * F} \log \left(\frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]} \right) \quad (\text{Equação 11})$$

Onde,

E_h = potencial de óxido-redução (V);

E^0 = potencial de óxido-redução padrão, 0,77V para Fe^{3+}/Fe^{2+} ;

R = constante dos gases perfeitos, 8,314 J/mol.K ;

T = temperatura (K);

n = número de moles de elétrons trocados na reação;

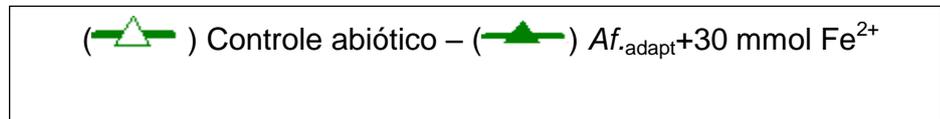
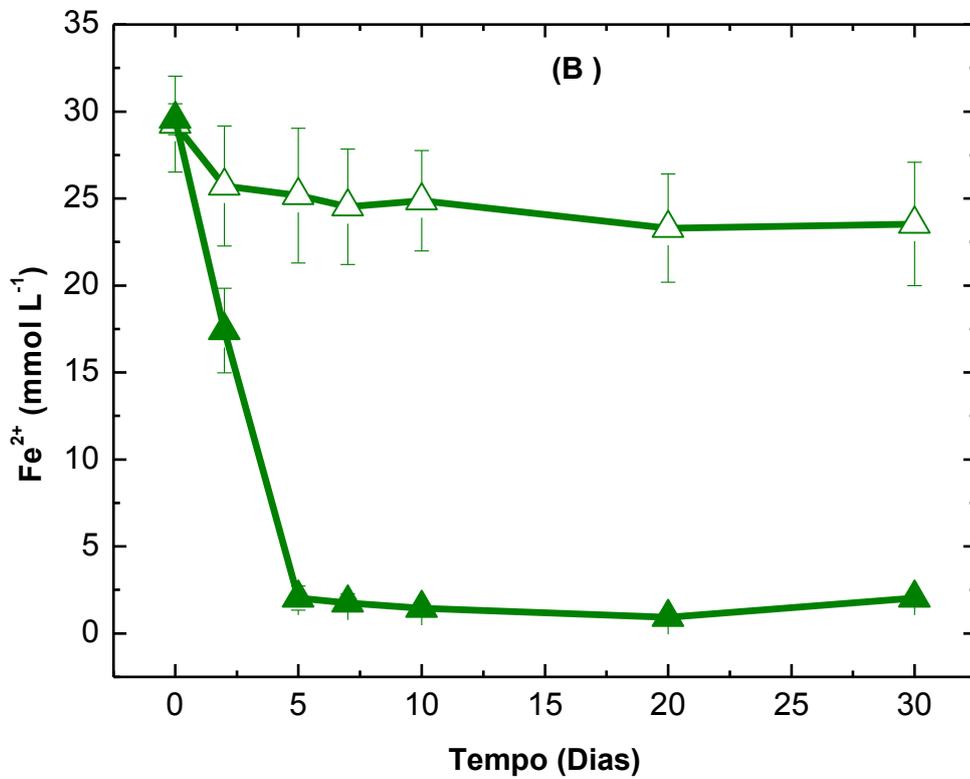
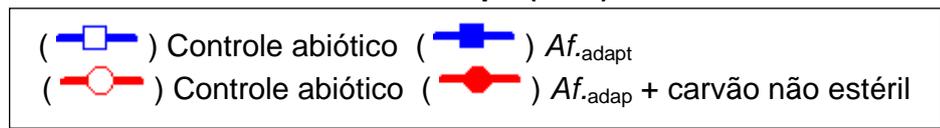
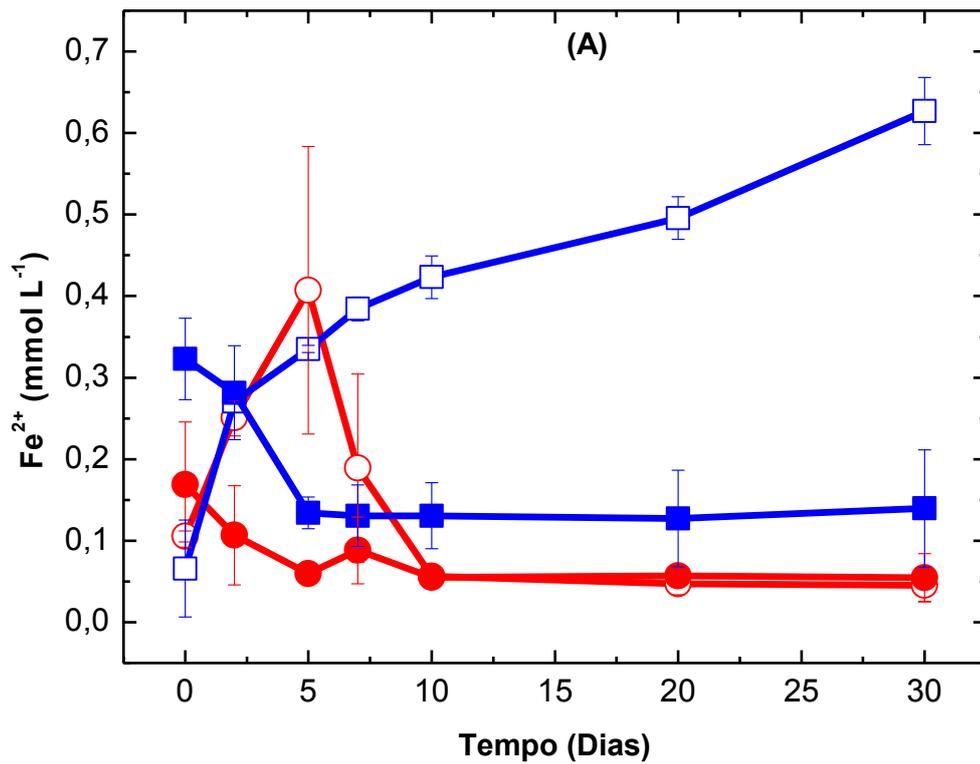
F = constante de Faraday 96,485 C/mol e^- ;

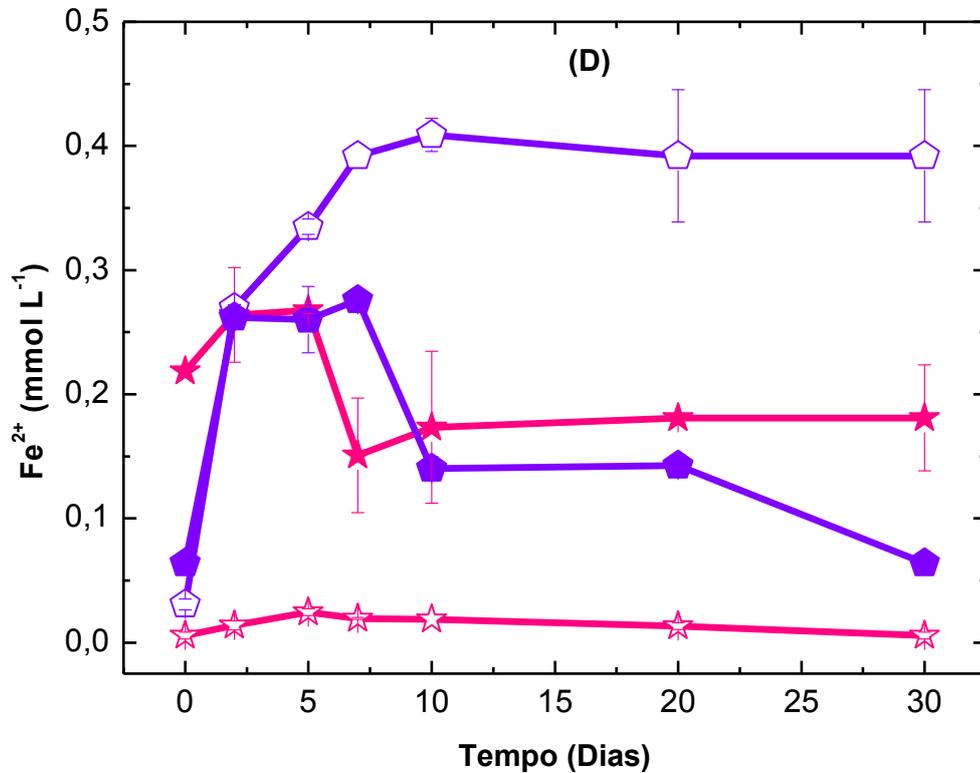
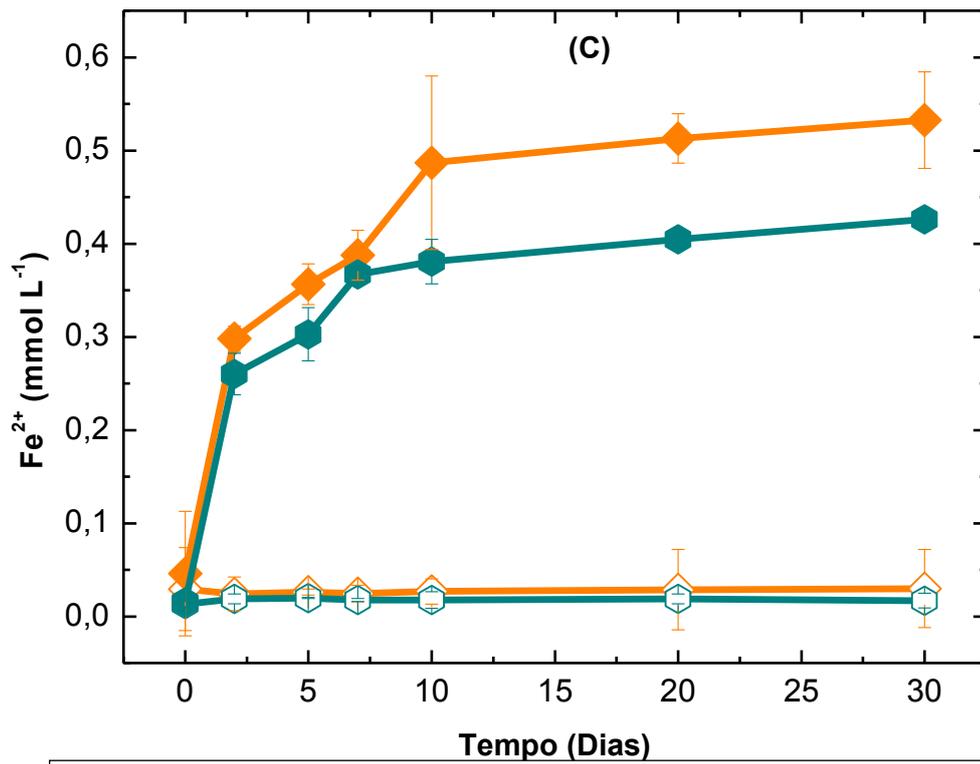
[] = concentrações molares das espécies iônicas.

5.1.3 Concentração de Fe^{2+}

Para monitorar a atividade bacteriana foram acompanhadas a variação da concentração dos íons Fe^{2+} nas soluções lixivantes e os resultados estão apresentados na figura 9.

Figura 9: Variação nas concentrações dos íons Fe^{2+} nos ensaios de biolixiviação. (A) *At. ferrooxidans* adaptado, (B) *At. ferrooxidans* com adição de fonte energética, (C) *At. thiooxidans*, (D) Consórcio microbiano e *At. ferrooxidans* crescida em enxofre.





Analisando as figuras 9 A e 9 B que foram inoculados com *At. ferrooxidans*, podemos observar que logo no 1º dia de ensaio, inicia-se um declínio na curva de concentração de Fe^{2+} até sua estabilização nas concentrações com valores menores que $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$ de Fe^{2+} . Já seus respectivos frascos controles apresentaram comportamentos diferentes entre si. No frasco onde se utilizou carvão estéril sem adição de fonte suplementar de energia houve um aumento em sua concentração de Fe^{2+} , ao contrário do que ocorreu quando foram adicionados $30,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de Fe^{2+} onde a curva do controle abiótico manteve-se estável durante o processo. Para o caso onde se utilizou carvão não estéril, nota-se um aumento na concentração de Fe^{2+} até o 5º dia de ensaio quando então se inicia um declínio em sua curva estabilizando-se em concentrações menores que $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$ de Fe^{2+} .

O mesmo comportamento de aumento de concentração de Fe^{2+} seguido de sua diminuição ocorreu nos ensaios da figura 9 D para os meios inoculados.

Por outro lado, as condições em que o inoculo foi a *At. thiooxidans* apresentaram comportamentos semelhantes, tanto para os frascos inoculados com adição de fonte energética suplementar quanto para os frascos sem esta adição, com curvas crescentes de concentração de Fe^{2+} estabilizando por volta de $0,60 \text{ mmol L}^{-1}$. Seus controles abióticos não apresentaram variações consideráveis.

De modo geral, a bactéria *At. ferrooxidans* apresenta a capacidade de oxidar íons ferrosos de maneira bem rápida e eficiente. Isto pode ser observado nos frascos inoculados nos quais, ao final dos ensaios, terminaram com concentrações destes íons próximos a zero. No controle abiótico do frasco com carvão estéril (Figura 9 A) ocorreu um aumento na concentração desse íon que pode ser explicado pela solubilização do sulfato ferroso que estava presente na composição natural do carvão além da solubilização de outros compostos minerais contendo Fe^{2+} que podem ser favorecidos pela condição ácida do ensaio. Para o caso em que foi utilizado o carvão não estéril a diminuição das concentrações de Fe^{2+} a partir do 5º dia pode ser atribuída ao crescimento dos microrganismos oxidantes de ferro, conforme discutido anteriormente para esta condição em relação ao potencial de óxido-redução.

Nos ensaios com a *At. thiooxidans* o aumento da concentração de íons ferrosos também pode ser relacionado com a maior solubilização do sulfato ferroso e de outros sais minerais ferrosos presentes na estrutura do carvão. Esta solubilização

é favorecida pela condição ácida fornecida pela atividade bacteriana ao longo do processo.

Para o caso do consórcio, o aumento inicial da concentração dos íons ferrosos indica que pode ter ocorrido uma maior atividade da bactéria *At. thiooxidans* até o 7º dia, em seguida ocorre o consumo destes íons, que é característico da atividade microbiana da *At. ferrooxidans*.

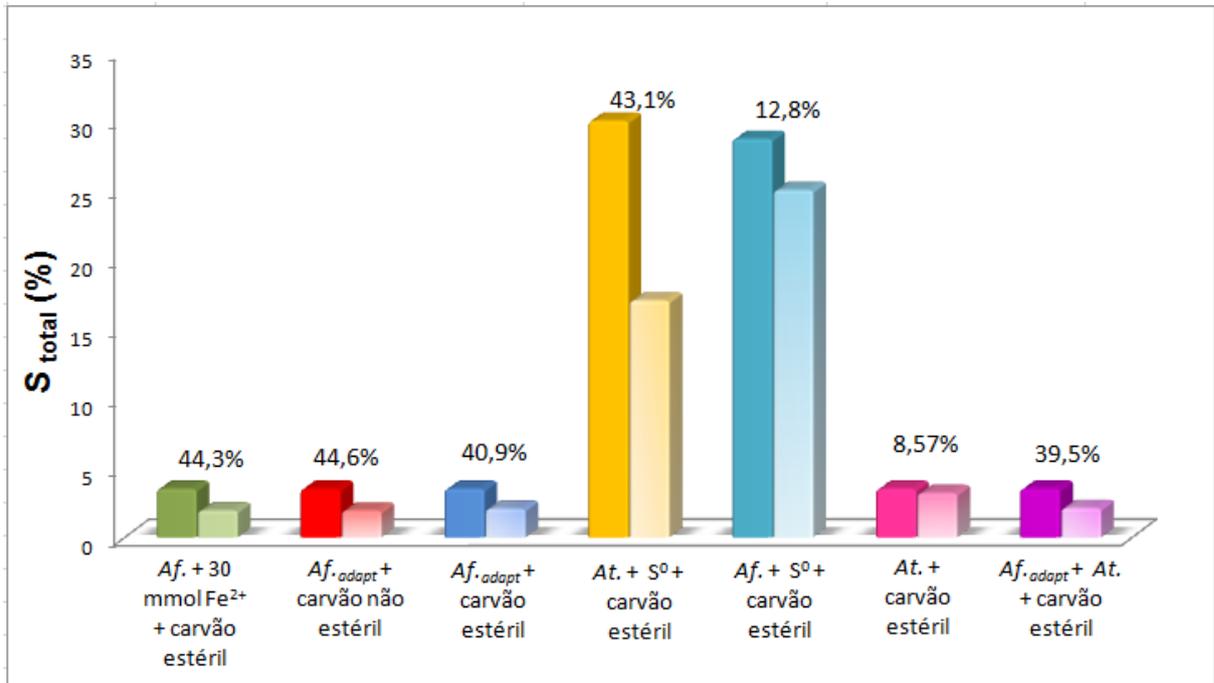
Devido ao fato da *At. ferrooxidans* utilizar como fonte energética tanto compostos reduzidos de ferro como de enxofre, numa das condições esta bactéria foi adaptada para crescer em meios com a presença de enxofre. Para este ensaio, até o 5º dia esta condição apresentou um comportamento parecido com a *At. thiooxidans*, no entanto a partir daí, observa-se que ocorre uma preferência pelo consumo de Fe^{2+} com o conseqüente declínio da curva observado na figura 9 D.

5.2 Remoção de enxofre total

Ao final dos ensaios, foi realizada uma filtração a fim de separar a fração sólida do carvão de seu meio lixiviante. O carvão filtrado foi lavado exaustivamente com água destilada acidificada ($\text{pH} \simeq 1,8$) e com HCl 5 mol L^{-1} para que todo o precipitado solúvel e as formas de sulfato formadas durante o processo biolixiviante, as quais tenham ficado retidos junto ao carvão, fossem removidos. Após a lavagem esses sólidos foram secos em estufa a 60°C .

Este material foi então submetido à análise de enxofre total. Os resultados das análises estão representados na figura 10:

Figura 10: Porcentagem de enxofre total para cada condição avaliada. A porcentagem de remoção entre a condição inicial e final está indicada acima de cada barra.



Fonte: Autor

De acordo com os resultados expostos, podemos ver que a *At. ferrooxidans* em sua condição natural de crescimento isolada ou em consórcio, apresenta remoção do enxofre total em torno de 44%.

Por outro lado a *At. thiooxidans* não conseguiu reduzir de forma significativa os teores de enxofre total das amostras de carvão.

A fração do carvão utilizada nos ensaios continha inicialmente cerca de 3,5% de enxofre total. Para o caso onde foi adicionado enxofre ao meio de cultura para propiciar o crescimento dos microrganismos, essa adição foi levada em consideração para a definição de enxofre total inicial da amostra. Por conta dessa adição, ambas as condições não puderam indicar se houve remoção do enxofre da amostra ou se a remoção foi do próprio enxofre acrescentado. Desse modo, essas condições não foram consideradas para os demais parâmetros analisados.

Por fim, a melhor condição de remoção do enxofre foi aquela no qual se utilizou como inóculo a *At. ferrooxidans* adaptada e o carvão não estéril. Esta condição obteve 44,6% de remoção nos teores de enxofre total.

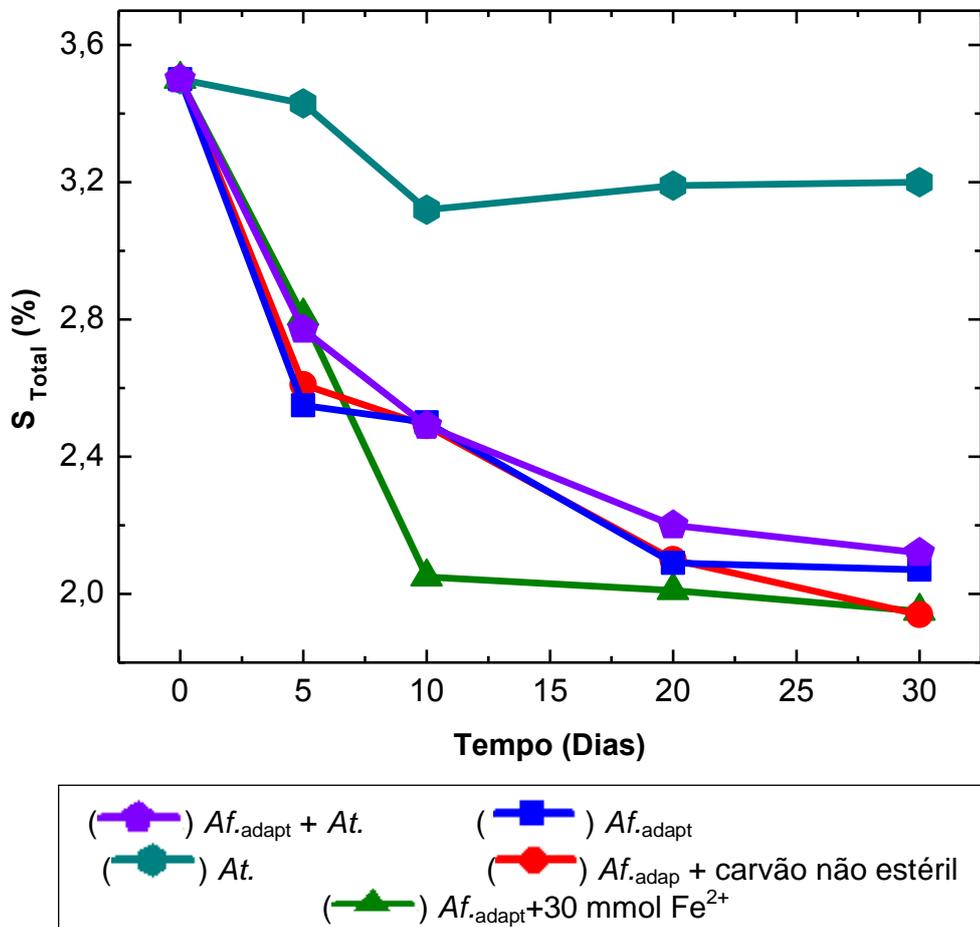
Deste modo, podemos observar que o microrganismo que efetivamente sustenta a remoção microbiana de enxofre nas amostras de carvão foi a *At. ferrooxidans*.

5.3 Evolução da remoção de enxofre total

Os frascos correspondentes ao período de 5, 10 e 20 dias, chamados de frascos sacrifícios, foram igualmente filtrados e lavados com água destilada acidificada ($\text{pH} \approx 1,8$) e com $\text{HCl } 5 \text{ mol L}^{-1}$ para remoção de resíduos indesejáveis e secos em estufa a 60°C .

Estes materiais foram então submetidos à análises de enxofre total que representaram a remoção parcial do enxofre com o decorrer do tempo de ensaio. Os resultados das análises estão representados na figura 11:

Figura 11: Evolução na remoção de enxofre total.



Analisando os resultados obtidos, podemos observar que a maior remoção de enxofre total ocorre nos primeiros 20 dias de tratamento para todas as condições avaliadas. Destaca-se no entanto, a remoção de enxofre total para a condição utilizando a *At. ferrooxidans* com adição de 30 mmol L⁻¹ de Fe²⁺. Para tal situação observamos que a remoção ocorre praticamente nos primeiros 10 dias de ensaio. Podemos sugerir que esta remoção inicial de forma mais rápida, quando comparada as demais condições, se deve ao fornecimento de Fe²⁺ ao microrganismo. Este é um comportamento já descrito pela literatura no qual o fornecimento de fonte energética suplementar aumenta a cinética inicial dos processos.

5.4 Remoção do enxofre piritico e total por ASTM

Completados os 30 dias de ensaios, os frascos finais correspondentes a esse período foram filtrados para separação da fase sólida e da fase líquida e lavados com soluções ácidas. Os resíduos sólidos secos dos frascos em triplicata foram misturados e homogeneizados para então serem enviadas ao laboratório SATC-LAEC para quantificação dos teores finais de enxofre total e enxofre piritico utilizando as normas ASTM.

Os resultados estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8: Teores de enxofre total e piritico antes e depois dos tratamentos.

Condição	S Total			S Piritico		
	Inicial	Final	Remoção (%)	Inicial	Final	Remoção (%)
<i>Af.</i> + 30 mmol Fe ²⁺	3,5	1,95	44,3	1,68	0,34	79,8
Controle		3,4	2,9		1,7	-1,2
<i>Af. adapt</i> + carvão não estéril	3,5	1,94	44,6	1,68	0,16	90,5
Controle		2,07	40,9		0,22	86,9
<i>Af. adapt</i>	3,5	2,07	40,9	1,68	0,25	85,1
Controle		3,38	3,4		1,7	-1,2
<i>At.</i>	3,5	3,2	9,4	1,68	1,63	3,0
Controle		3,47	0,9		1,8	-7,1
<i>Af. adapt</i> + <i>At.</i>	3,5	2,12	39,4	1,68	0,22	86,9
Controle		3,38	3,4		1,7	-1,2

Fonte: Autor

A maior redução de enxofre total foi o tratamento biológico utilizando *Af. ferrooxidans* em carvão não estéril. No entanto, não houve diferença significativa se

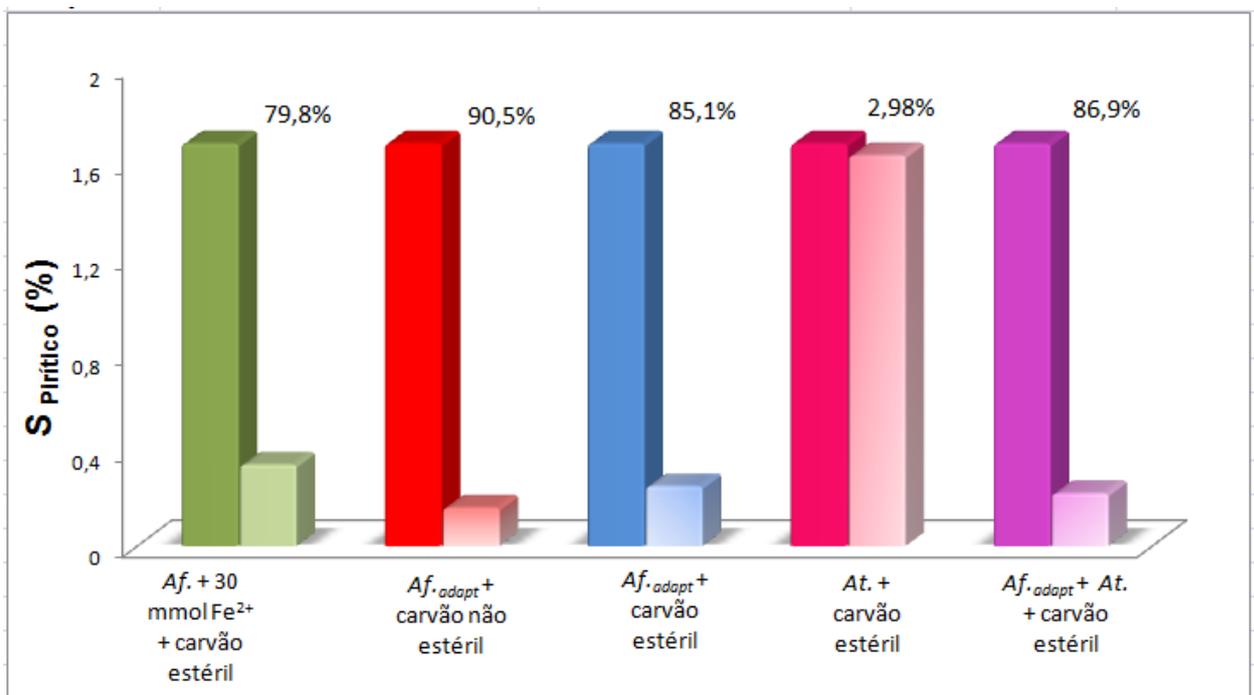
comparada com o tratamento no qual houve adição de fonte energética suplementar. A diferença em relação ao teor final de enxofre total não é significativa, porém quando observamos a evolução da remoção de enxofre total durante os 30 dias de ensaio, pode-se observar que o tratamento com adição de Fe^{2+} apresentou uma cinética inicial mais rápida quando comparada ao tratamento sem adição.

Em todas as condições avaliadas os respectivos controles abióticos não apresentaram variação nos teores iniciais e finais de enxofre. Salvo a condição onde o carvão utilizado foi o não estéril.

Ao analisarmos a remoção do enxofre pirítico pode-se notar que houve uma remoção mínima de cerca de 80% nos valores iniciais em todos os tratamentos biológicos estudados quando foram utilizados como inóculo a *At. ferrooxidans*.

A remoção do teor de enxofre pirítico pode ser comparada através da figura 12.

Figura 12: Porcentagem de enxofre pirítico para cada condição avaliada. A porcentagem de remoção entre a condição inicial e final está indicada acima de cada barra.



Fonte: Autor

A maior remoção com valores acima de 90% foi obtida quando se utilizou *At. ferrooxidans* em carvão não estéril. Essa maior remoção de enxofre pirítico foi

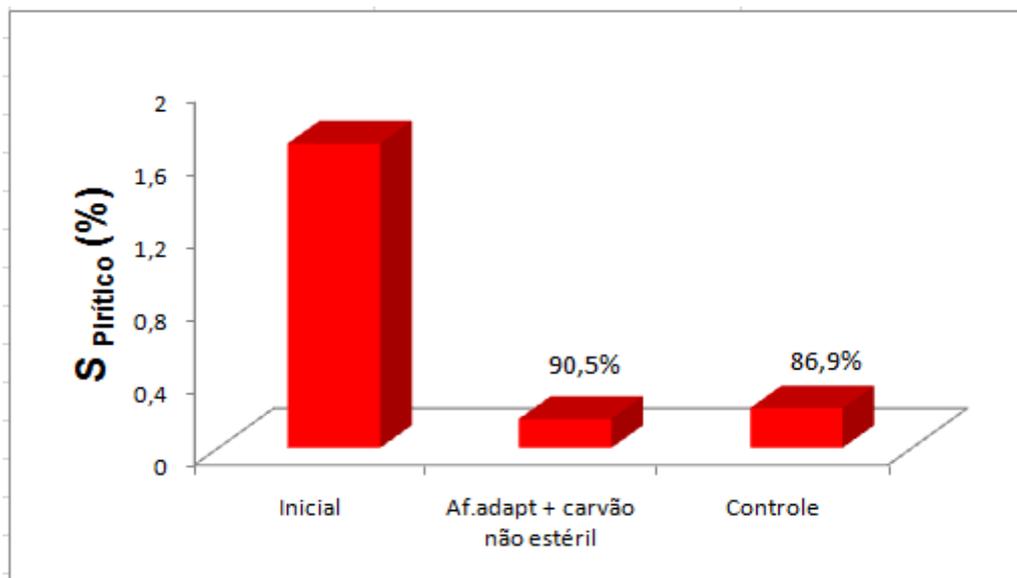
potencializada pelo desenvolvimento dos microrganismos nativos do carvão que auxiliaram no processo de remoção da pirita.

A menor redução para esse mesmo tipo de inóculo foi observado na condição em que foi fornecida fonte energética suplementar. Tal condição removeu cerca de 80% dos teores de enxofre pirítico. Este resultado aliado ao obtido para a redução de enxofre total indica que, para este caso, houve uma redução em outras formas de enxofre presentes no carvão em detrimento a sua forma pirítica.

De modo similar ao que ocorreu na análise de enxofre total, a *At. thiooxidans* não conseguiu remover a pirita das amostras de carvão obtendo valores menores que 3%. Este resultado, juntamente com os obtidos de redução de enxofre total, confirma que este microrganismo por si só não é capaz de promover a redução dos teores de enxofre das amostras de carvão.

A condição na qual foi utilizado o carvão não estéril apresentou uma peculiaridade quanto ao seu controle abiótico. Enquanto os controles abióticos das demais condições não obtiveram alterações significativas quanto a remoção de enxofre pirítico inicial, o controle abiótico para este ensaio atingiu a mesma remoção de enxofre total de algumas condições inoculadas. Este resultado pode ser visto na figura 13:

Figura 13: Porcentagem de enxofre pirítico utilizando carvão não estéril.



Fonte: Autor

Observa-se que o tratamento utilizando o carvão não estéril obteve porcentagem de remoção muito próximas dos alcançados tanto no meio inoculado como no meio sem adição de inóculo, sugerindo que não houve necessidade de adição da bactéria. O fornecimento do meio nutritivo para o crescimento dos microrganismos aderidos na superfície do carvão foi suficiente para promover a redução dos teores de enxofre pirítico do mineral. Estes microrganismos podem ser de diversas espécies e estão adaptados às condições de utilização dos componentes presentes no carvão como fonte energética. Os resultados apresentados assemelham-se com o obtido por Cardona e Marquez (2009) que conseguiram cerca de 90% de remoção do enxofre pirítico utilizando microrganismos nativos isolados da drenagem ácida de mina (DAM). Embora haja diferenças mineralógicas entre o carvão brasileiro e o carvão colombiano estudado por esses autores, observa-se que os microrganismos presentes na matriz sólida do carvão podem ser utilizados como inóculo em substituição àqueles provenientes da DAM não necessitando de isolamento e nem de processo de adaptação.

5.5 Caracterizações Mineralógicas

5.5.1 Análise DRX

Os difratogramas de raio-X da amostra do carvão antes e após os tratamentos biológicos foram analisados e uma tabela com as fases cristalinas presentes nas amostras está a seguir.

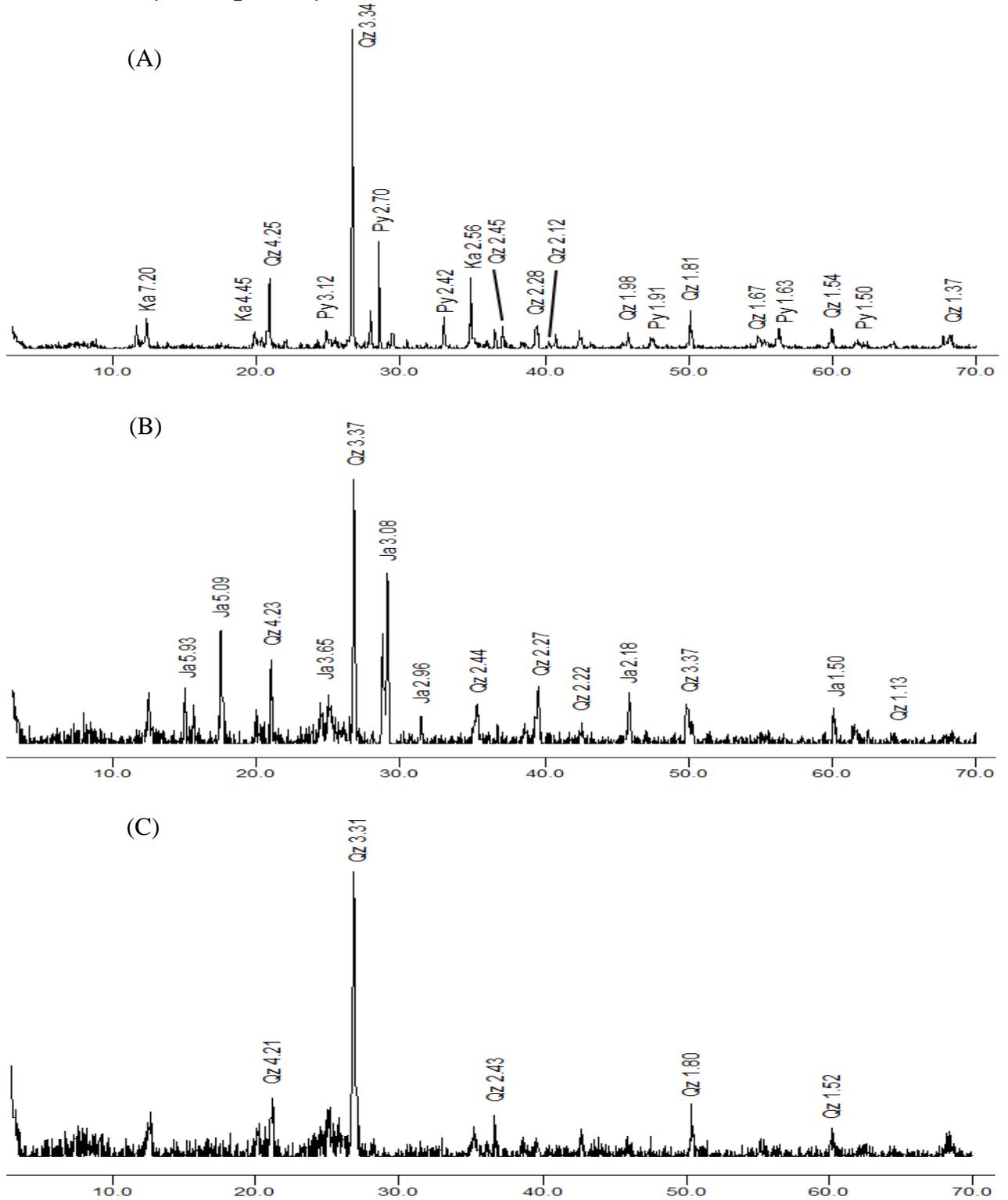
Tabela 9 – Minerais identificados através das fases cristalinas mostradas na Figura 13.

PDF nº	Nome do composto	Fórmula química
29-1488	Caulinita	$\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$
42-1340	Pirita	FeS_2
89-8937	Quartzo	SiO_2
22-827	Jarosita	$\text{X}^*(\text{Fe}_3(\text{SO}_4)_2 (\text{OH})_6)$

Sendo que X pode ser: K^+ , Na^+ , H_3O^+ ou NH_4^+

Fonte: Autor

Figura 14 – Difratomogramas de raios X da amostra original do carvão (A) e dos resíduos finais do ensaio de biolixiviação na condição de melhor remoção de enxofre total *Af. adapt* + Fe^{2+} (B), e na condição de melhor condição de remoção do enxofre pirítico *Af. adapt* + carvão não estéril (C). Símbolos: Ka, caulinita; Ja, jarosita; Py, pirita; Qz, quartzo. Os números acima da identificação dos sinais indicam a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina.



A amostra inicial de carvão evidenciou a presença predominante de pirita, caulinita e quartzo (LU et al., 2001).

Mesmo considerando que esta não é uma análise quantitativa, podemos observar que em ambos os tratamentos houve a redução dos picos característicos da pirita.

O tratamento biológico utilizando *At. ferrooxidans* adaptada com a adição de fonte suplementar de energia apresentou picos típicos de jarosita, além de quartzo, enquanto que no difratograma do tratamento utilizando o mesmo inóculo em carvão não estéril houve a presença predominante do quartzo.

A jarosita é um hidroxissulfato comum formado durante os processos de biolixiviação que contenham sulfetos de ferro em condições ácidas e constituem um produto indesejável na biodessulfurização do carvão por fazer o enxofre biolixiviado retornar a fase sólida novamente. De acordo com estudos anteriores, valores de pH acima 2,0 são críticos para a formação da jarosita (DAOUD; KARAMANEV 2006). Ao analisarmos o comportamento da curva de pH para esta condição podemos observar que essa faixa de pH foi alcançada no 7º dia de ensaio, período no qual sugere-se que houve a formação de tal mineral.

O quartzo aparece mesmo após o tratamento biológico em ambas as condições analisadas mostrando-se, portanto, inerte à lixiviação bacteriana.

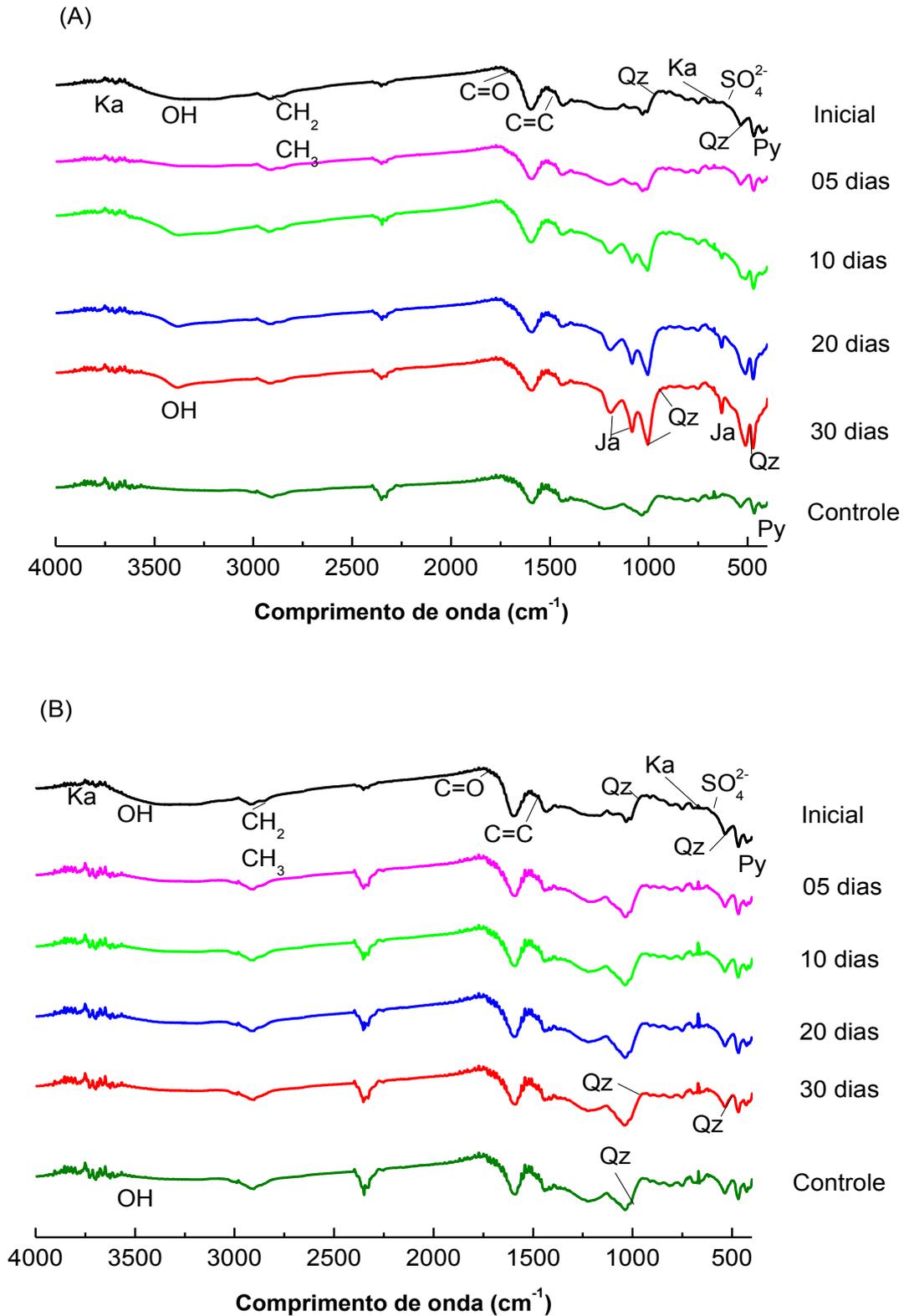
Já a caulinita, derivada principalmente pelas alterações de alumínio-silicato foi consumida durante o processo de lixiviação em relação à amostra original.

5.5.2 FTIR-ATR

As análises dos espectros de FTIR- ATR das amostras de carvão foram feitas igualmente para as condições com maior remoção de enxofre total e de enxofre pirítico. Os resultados são apresentados na Figura 15.

Além das informações mineralógicas, essa técnica pode ser utilizada para reconhecer os compostos orgânicos presentes na estrutura do carvão, embora a maior dificuldade encontrada quando são analisadas amostras desse material seja a sobreposição de bandas orgânicas e inorgânicas (CARDONA; MÁRQUEZ, 2009).

Figura 15 - Espectros de FTIR- ATR de amostras de carvão antes e após o processo de biolixiviação e de seu controle abiótico para o ensaio utilizando *Af.*_{adapt} + Fe^{2+} (A) e para o ensaio com *Af.*_{adapt} + carvão não estéril.



Fonte: Autor

A amostra inicial de carvão apresentou bandas características da pirita (SAIKIA et al., 2007), bem como a da caulinita e do quartzo (ligações com Si-O associadas ao quartzo: 441 cm^{-1} , 945 cm^{-1} e 1103 cm^{-1}) (BARUAH et al., 2003; Johansson et al., 1998; SAIKIA et al., 2007 e WANG; GRIFFITHS, 1985); e ligações Si-O-Al associadas com a caulinita em 644 cm^{-1} (BARUAH et al., 2003; CHRISTY et al., 1987; JOHANSSON et al., 1998 e WANG; GRIFFITHS, 1985), ligações O-H associadas com a caulinita em 3673 cm^{-1} (MUNKHTSETSEG et al., 2007). Também podemos observar bandas correspondentes a sulfatos em 617 cm^{-1} (BARUAH et al., 2003).

Também se observaram na amostra inicial bandas correspondentes a matriz orgânica com ligações C=C em 1470 cm^{-1} associadas a grupos aromáticos (MUNKHTSETSEG et al., 2007; WANG; GRIFFITHS, 1985), ligações CH₂ em 2862 cm^{-1} e CH₃ em 2940 cm^{-1} associadas a cadeias alifáticas (MACHNIKOWSKA et al., 2002).

Podemos ver na figura 15 A, que existe um aumento gradual da intensidade das bandas a 1188 cm^{-1} , 1083 cm^{-1} e 630 cm^{-1} relacionadas à jarosita. A intensidade da banda em 3400 cm^{-1} aumenta devido a incorporação de H₂O na estrutura de sulfatos como a jarosita (FULLER et al., 1982; FULLER; SMYRL, 1985; LIU et al., 2011 ; OSSA; MÁRQUEZ, 2010 e XIAO et al., 1990).

Bandas de $3600\text{-}3800\text{ cm}^{-1}$, 417 cm^{-1} e 536 cm^{-1} correspondem ao quartzo e a caulinita. Ocorre uma diminuição da intensidade de bandas correspondentes a caulinita em ambos os tratamentos, indicando uma oxidação dessa fase mineral. Este fenômeno tem sido relatado para processos bacterianos semelhantes e esta associado com a ação dos microrganismos e a elevada acidez do meio.

Comparando-se os espectros dos tratamentos abióticos dos dois ensaios é possível notar na figura 15 B que ocorre a formação de bandas semelhantes ao espectro do respectivo meio biótico devido a utilização do carvão não estéril o qual possibilitou o crescimento de microrganismos no meio que foram capazes de promover essas alterações no mineral.

De modo geral, todos os espectros são semelhantes apresentando pequenas variações nas intensidades de bandas relacionadas com minerais e quase nenhuma mudança com os correspondentes compostos da fase orgânica do carvão.

Portanto, pode-se dizer que os microrganismos empregados nos ensaios são capazes de interagir apenas com a fase inorgânica do carvão como já descrito pela literatura (ACHARYA et. al., 2001).

6. CONCLUSÃO

Pelos resultados apresentados podemos concluir que a *At. ferrooxidans* é o microrganismo que foi capaz de promover a redução dos teores de enxofre total e pirítico presentes na amostra de carvão e que a função da *At. thiooxidans*, quando utilizado o consórcio, é apenas de auxiliar o processo mantendo o pH do meio em condições mais ácidas de modo a evitar a formação de precipitados indesejáveis no meio lixiviante.

A adição de fonte energética suplementar (Fe^{2+} e S^0) não influenciou de maneira efetiva os resultados finais em relação à remoção de enxofre. Tanto a adição de ferro como de enxofre para as respectivas bactérias serviram para um aumento na cinética inicial do sistema finalizando os ensaios com resultados próximos aos meios onde não foram fornecidos tais suplementos.

O melhor resultado quanto à redução do teor inicial de enxofre pirítico na amostra mineral foi obtido a partir do fornecimento de meio de cultura T&K com a utilização de carvão não estéril que atingiu uma redução de 90% e diminuição de 44% nos valores de enxofre total.

O controle abiótico desta mesma condição alcançou valores muito próximos de remoção de enxofre. Este fato indica que não há necessidade de adição de inóculo para que ocorra a redução do teor de enxofre total e pirítico quando considerado o período completo de 30 dias de tratamento. O simples fornecimento de meios nutritivos para que os microrganismos nativos cresçam já é suficiente para efetivação do processo. Estes microrganismos, por sua vez, são responsáveis pela redução do teor de enxofre total e pirítico da amostra de carvão, provavelmente por

serem de espécies oxidantes de ferro e/ou enxofre e por estarem extremamente adaptadas às condições de utilização das fontes energéticas associadas ao mineral. Provavelmente a utilização desta comunidade microbiana como inóculo inicial deve favorecer ainda mais este processo.

Apesar dos microrganismos nativos serem eficientes na remoção do enxofre, a cinética de remoção é auxiliada pela adição de inóculo e de fonte suplementar de energia promovendo as mesmas porcentagens de remoção num período de tempo menor. Do ponto de vista do processo industrial esses incrementos reduzem o tempo de remoção de enxofre em 10 dias tornando o processo mais rápido.

As análises por difratometria de raio X indicaram a presença de pirita, quartzo e caulinita como fases minerais presentes nas amostras de carvão e revelaram a diminuição de intensidade dos picos correspondentes a pirita e a caulinita durante o tratamento biológico da amostra. Foi detectada jarosita como nova fase cristalina no tratamento em que houve o fornecimento de Fe^{2+} como fonte energética suplementar.

As análises dos espectros do FTIR-ATR foram condizentes com as análises obtidas pelos difratogramas de raios-X e demonstraram que a interação dos microrganismos utilizados neste estudo ocorre apenas na fase inorgânica do carvão.

A redução dos teores de enxofre total inicial obtida após os tratamentos biológicos, além de torná-lo um mineral com menor potencial de causar efeitos danosos ao meio ambiente, também tem como consequência, uma elevação considerável no preço da venda da tonelada de carvão, quadruplicando seu valor econômico. Porém, cabe ressaltar que a diminuição dos teores de enxofre nas amostras de carvão é uma condição necessária, mas não suficiente para melhorar a

qualidade desse combustível fóssil e mudar sua classificação. Para uma reclassificação seria necessário avaliar se houve ganho por exemplo, no poder calorífico, no teor de carbono fixo e se o teor de cinzas foi diminuído durante o tratamento biológico. Apesar destes outros parâmetros não terem sido avaliados neste trabalho, segundo a literatura a biodissolução de enxofre pirítico contribui para o aumento da capacidade calorífica e diminuição do teor de cinzas.

Através dos estudos apresentados podemos concluir que o processo de biolixiviação aplicado na amostra de carvão foi capaz de reduzir quase que totalmente o enxofre em sua forma pirítica presente no mineral. Deste modo, podemos indicar a biolixiviação para a remoção desse elemento como uma rota alternativa de tratamento que se apresenta como ambientalmente mais adequada.

REFERÊNCIAS

- ACHARYA, C.; KAR, R.; SUKLA, L. Bacterial removal of sulphur from three different coals. **Fuel**, v. 80, n. 15, p. 2207-2216, Dec. 2001.
- ACHARYA, C.; SUKLA, L.; MISRA, V. Review biodepyritisation of coal. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 79, n. 1, p. 1-12, Jan. 2004.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA. Carvão mineral. In: _____. **Atlas da energia elétrica do Brasil**. 2. ed. Brasília, DF, 2005. Cap. 8, p. 119-126. Disponível em: <[http://www2.aneel.gov.br/aplicacoes/atlas/pdf/08-Carvao\(2\).pdf](http://www2.aneel.gov.br/aplicacoes/atlas/pdf/08-Carvao(2).pdf)>. Acesso em: 25 ago. 2016.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA. Carvão mineral. In: _____. **Atlas da energia elétrica do Brasil**. 3. ed. Brasília, DF, 2008. Cap. 9, p. 129-141. Disponível em: <<http://www2.aneel.gov.br/arquivos/PDF/atlas3ed.pdf>>. Acesso em: 25 ago. 2016.
- AHONEN, L.; TUOVINEN, O. Alterations in surfaces and textures of minerals during the bacterial leaching of a complex sulfide ore. **Geomicrobiology Journal**, v. 10, n. 3/4, p. 207-217, July/Dec. 1992.
- AKTAS, Z.; KARACAN, F.; OLCAY, A. Centrifugal float-sink separation of fine Turkish coals in dense media. **Fuel Processing Technology**, v. 55, n. 3, p. 235-250, June 1998.
- ALLER, N. et al. Biodesulphurisation of coal by microorganisms isolated from the coal itself. **Fuel Processing Technology**, v. 69, n. 1, p. 45-57, Jan. 2001.
- ANTUNES, M. Carvão mineral: protagonista no mundo, coadjuvante no Brasil. **Mineração e Sustentabilidade**, v. 3, p. 30-33, jan./fev. 2014.
- AYHAN, F.; ABAKAY, H.; SAYDUT, A. Desulfurization and deashing of Hazro coal via a flotation method. **Energy & Fuels**, v. 19, n. 3, p. 1003-1007, May/June 2005.
- BARUAH, M. K.; KOTOKY, P.; BORAH, G. C. Distribution and nature of organic/mineral bound elements in Assam coals, India. **Fuel**, v. 82, p. 1783-1791, 2003.
- BEVILAQUA, D. **Estudo da interação do *Acidithiobacillus ferrooxidans* com calcopirita (CuFeS₂) e bornita (Cu₅FeS₄)**. 2003. 103 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.
- BEVILAQUA, D. **Solubilização da calcopirita (CuFeS₂) e da bornita (Cu₅FeS₄) por *Thiobacillus ferrooxidans***. 1999. 91 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1999.

BLIGHT, K.; RALPH, D.; THURGATE, S. Pyrite surfaces after bioleaching: a mechanism for bio-oxidation. **Hydrometallurgy**, v. 58, p. 227-237, 2000.

BOON, M. et al. Comparison of the oxidation kinetics of different pyrites in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans* or *Leptospirillum ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 53, p. 57-72, 1999.

BORBA, R. F. Carvão mineral. In: BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Departamento Nacional de Produção Mineral. **Balanco mineral brasileiro 2001**. Brasilia, DF, 2001. Disponível em: <file:///C:/Users/win7/Downloads/BALANCO_MINERAL_006_2001.pdf>. Acesso em: 25 ago. 2016.

BOSECKER, K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. **Fems Microbiology Reviews**, v. 20, n. 3/4, p. 591-604, July 1997.

BOZDEMIR, T. et al. Biodessulfurization of Turkish lignites: 1. Optimization of the growth parameters of *Rhodococcus rhodochrous*, a sulfur-removing bacterium. **Fuel**, v. 75, p. 1596-1600, 1996.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. **Plano nacional de energia 2030**. Brasília, DF, 2007. 146 p.

CABRERA G, G. J., CANTERO D. Influence of heavy metals on growth and ferrous sulphate oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans* in pure and mixed cultures. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 2683-2687, 2005.

CAICEDO, G.; MARQUEZ, M. Selection procedures of consortia bacterial with *A. ferrooxidans* like bacteria and *A. thiooxidans* like bacteria in coal biodesulfurization process. **Revista Facultad de Ingenieria**, n. 52, p. 88-94, marzo 2010.

CAICEDO PINEDA, G. A.; MÁRQUEZ GODOY, M. A. Effect of chloride salts on biodesulfurization process of a colombian coal. **Revista Facultad Ingeniería**, v. 68, p. 115-123, 2013.

CAICEDO PINEDA, G. A.; MÁRQUEZ GODOY, M. A.; MORENO HERERA, C. X. Particle size, iron concentration and pH influence in biodesulfurization process of coal – laboratory tests. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v. 13, p. 199-209, 2011.

CALKINS, W. The chemical forms of sulfur in coal: a review. **Fuel**, v. 73, p. 475-484, 1994.

CARA, J. et al. The biodesulphurization of a semianthracite coal in a packed-bed system. **Fuel**, v. 82, n. 1517, p. 2065-2068, Oct./Dec. 2003.

CARA, J. et al. Biodesulphurisation of high sulphur coal by heap leaching. **Fuel**, v. 84, n. 14/15, p. 1905-1910, Oct. 2005.

CARDONA, I. C.; MARQUEZ, M. A. Biodesulfurization of two Colombian coals with native microorganisms. **Fuel Processing Technology**, v. 90, n. 9, p. 1099-1106, Sept. 2009.

CARRILLO, F. R. P. et al. Coals desulfurization in oxidative acid media using hydrogen peroxide and ozone: a kinetic and statistical approach. **Energy & Fuels**, v. 23, p. 3703-3710, 2009.

CHAN, L.; GU, X. Y.; WONG, J. W. C. Comparison of bioleaching of heavy metals from sewage sludge using iron and sulfur oxidizing bacteria. **Advances Environmental Resource**, v. 7, p. 603-607, 2003.

CHANDRAPRABHA, M.; NATARAJAN, K. Surface chemical and flotation behaviour of chalcopyrite and pyrite in the presence of *Acidithiobacillus thiooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 83, n. 1/4, p. 146-152, Sept. 2006.

CHOU, C. Sulfur in coals: a review of geochemistry and origins. **International Journal of Coal Geology**, v. 100, p. 1-13, Oct. 2012.

CHRISTY, A. et al. Multivariate calibration of diffuse reflectance infrared spectra of coals as an alternative two rank determination by vitrinite reflectance. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 2, p. 199-207, 1987.

DAI, S. et al. Surface analysis of pyrite in the No. 9 coal seam, Wuda Coalfield, Inner Mongolia, China, using high-resolution time-of-flight secondary ion mass-spectrometry. **International Journal of Coal Geology**, v. 55, n. 2/4, p. 139-150, Aug. 2003.

DAOUD, J.; KARAMANEV, D. Formation of jarosite during Fe²⁺ oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Minerals Engineering**, v. 19, n. 9, p. 960-967, July 2006.

DEMIRBAS, A. Demineralization and desulfurization of coals via column froth flotation and different methods. **Energy Conversion and Management**, v. 43, n. 7, p. 885-895, May 2002.

DEVECI, H.; BALL, T. A visual insight into the oxidation of sulfide minerals during bioleaching and chemical leaching of a complex ore. **Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review**, v. 31, n. 3, p. 176-190, 2010.

DURUSOY, T. et al. Biodesulfurization of Turkish lignites. 2. Microbial desulfurization of Mengen lignite by the mesophilic microorganism *Rhodococcus rhodochrous*. **Fuel**, v. 76, n. 4, p. 341-344, Mar. 1997.

ELIGWE, C. Microbial desulfurization of coal. **Fuel**, v. 67, n. 4, p. 451-458, Apr. 1988.

FALLAVENA, V. L. V. **Determinação da matéria mineral por tratamento térmico e dos teores de formas de enxofre por peroxidação do carvão brasileiro**. 2011. 168 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) - Faculdade de Engenharia; Faculdade de Química; Faculdade de Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

FERRÃO, M. F. Técnicas de reflexão no infravermelho aplicadas na análise de alimentos. **Tecno-lógica**, v. 5, n. 1, p. 63-85, 2001.

FERGUSON, S.; INGLEDEW, W. Energetic problems faced by micro-organisms growing or surviving on parsimonious energy sources and at acidic pH: I. *Acidithiobacillus ferrooxidans* as a paradigm. **Biochimica et Biophysica Acta: Bioenergetics**, v. 1777, n. 12, p. 1471-1479, Dec. 2008.

FREME, F. U.S. coal supply and demand: 2005 review. **U.S. Energy Information Administration**, 2005. Disponível em: <<https://www.eia.gov/coal/review/pdf/feature05.pdf>>. Acesso em: 25 ago. 2016.

FULLER, E.; SMYRL, N. Chemistry and structure of coals. **Fuel**, v. 64, p. 1143-1150, 1985.

FULLER, M. et al. Diffuse reflectance infrared spectrometry of powdered coals. **Fuel**, v. 61, p. 529-536, 1982.

GAHAN, C. S.; SUNDKVIST, J. E.; SANDSTRÖM Å. A study on the toxic effects of chloride on the biooxidation efficiency of pyrite. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, n. 2/3, p. 1273-1281, 2009.

GAHAN, C. S. et al. Biohydrometallurgy and biomineral processing technology: a review on its past, present and future. **Research Journal of Recent Science**, v. 1, p. 85-99, 2012.

GARCIA JÚNIOR, O. Isolation and purification of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans* from some coal and uranium mines of Brazil. **Revista de Microbiologia**, v. 22, n. 1, p. 1-6, 1991.

GARCIA JÚNIOR, O.; URENHA, L. C. Lixiviação bacteriana de minérios. In: LIMA, U. de A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W. (Coord.). Processos de fermentação enzimática. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. Cap. 22, p. 285-512. (Biotecnologia industrial, v. 3).

GARCIA JUNIOR, O.; BIGHAM, J. M.; TUOVINEN, O. H. Oxidation of isochemical FeS₂ (marcasite-pyrite) by *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Mineral Engineering**, v. 20, p. 98-101, 2007.

GLEISNER, M.; HERBERT, R.; KOCKUM, P. Pyrite oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans* at various concentrations of dissolved oxygen. **Chemical Geology**, v. 225, n. 1/2, p. 16-29, Jan. 2006.

INGLEDEW, W. J.; COBLEY, J. G. A potentiometric and kinetic study on the respiratory chain of ferrous-iron-grown *Thiobacillus ferrooxidans*. **Biochimica et Biophysica Acta: Bioenergetics**, v. 590, p. 141-158, 1980.

IVANOV, I. P. Main trends in the biotechnological processing of coals: a review. **Solid Fuel Chemistry**, v. 41, p. 3-10, 2007.

JENSEN, A.; WEBB, C. Ferrous sulphate oxidation using *Thiobacillus ferrooxidans*: a review. **Process Biochemistry**, v. 30, p. 225-236, 1995.

JI, J.; GE, Y.; BALSAM, W.; DAMUTH, J. E.; CHEN, J. Rapid identification of dolomite using a fourier transform infrared spectrophotometer (FTIR): a fast method for identifying Heinrich events in IODP Site U1308. **Marine Geology**, v. 258, n. 1/4, p. 60-68, 2009.

JOHANSSON, U. et al. Isotopic exchange of kaolinite hydroxyl protons: a diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy study. **Analyst**, v. 123, p. 641-645, 1998.

JUSZCZAK, A. et al. Microbial desulfurization of coal with *Thiobacillus-Ferrooxidans* bacteria. **Fuel**, v. 74, n. 5, p. 725-728, May 1995.

KARACA, H.; CEYLAN, K. Chemical cleaning of Turkish lignites by leaching with aqueous hydrogen peroxide. **Fuel Processing Technology**, v. 50, n. 1, p. 19-33, Jan. 1997.

KARACA, S.; AKYUREK, M.; BAYRAKCEKEN, S. The removal of pyritic sulfur from Askale lignite in aqueous suspension by nitric acid. **Fuel Processing Technology**, v. 80, n. 1, p. 1-8, Jan. 2003.

KARGI F, C. T. An airlift-recycle fermenter for microbial desulfurization of coal. **Biotechnology Letters**, v. 5, p. 33-38, 1983.

KIM, D. et al. Microbial desulfurization of three different coals from Indonesia, China and Korea in varying growth medium. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 3, p. 680-687, Mar. 2013.

KLEIN, J. Technological and economic aspects of coal biodesulfurisation. **Biodegradation**, v. 9, n. 3/4, p. 293-300, 1998.

KODALI, B. et al. Effect of biochemical reactions in enhancement of rate of leaching. **Chemical Engineering Science**, v. 59, n. 22/23, p. 5069-5073, Nov./Dec. 2004.

LAZAROFF, N. Sulfate requirement for iron oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*. **Journal of Bacteriology**, v. 85, p. 78-83, 1963.

LEHNER, S. et al. The effect of As, Co, and Ni impurities on pyrite oxidation kinetics: an electrochemical study of synthetic pyrite. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 71, p. 2491-509, 2007.

- LI, Y. et al. A review of the structure, and fundamental mechanisms and kinetics of the leaching of chalcopyrite. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 197/198, p. 1-32, 2013.
- LIU, H.; GU, G.; XU, Y. Surface properties of pyrite in the course of bioleaching by pure culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and a mixed culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 108, p. 143-148, 2011.
- LIU, H. et al. SEM and AFM images of pyrite surfaces after bioleaching by the indigenous *Thiobacillus thiooxidans*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 62, n. 4, p. 414-420, Sept. 2003.
- LOI, G. et al. Bioreactor performance versus solids concentration in coal biodepyritization. **Fuel Processing Technology**, v. 40, p. 251-260, 1994.
- LOLJA, S. A model for alkaline removal of sulfur from a low-rank coal. **Fuel Processing Technology**, v. 60, n. 3, p. 185-194, Aug. 1999.
- LOVLEY, D.; PHILLIPS, E. Rapid assay for microbially reducible ferric iron in aquatic sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, n. 7, p. 1536-1540, July 1987.
- LU, L. et al. Quantitative X-ray diffraction analysis and its application to various coals. **Carbon**, v. 39, p. 1821-1833, 2001.
- MACHADO, A. S.; MEXIAS, A. S.; VILELA, A. C. F.; OSÓRIO, E. Quantificação por DRX dos componentes carbonosos presentes no pó de balão do alto-forno. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração**, v. 8, n. 4, p. 254-260, 2011.
- MACHNIKOWSKA, H.; KRZTON, A.; MACHNIKOWSKI, J. The characterization of coal macerals by diffuse reflectance infrared spectroscopy. **Fuel**, v. 81, p. 245-252, 2002.
- MALIK, A.; DASTIDAR, M.; ROYCHOUDHURY, P. Biodesulphurization of coal: effect of pulse feeding and leachate recycle. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 28, n. 1, p. 49-56, Jan. 2001.
- MALIK, A.; DASTIDAR, M.; ROYCHOUDHURY, P. Factors limiting bacterial iron oxidation in biodesulphurization system. **International Journal of Mineral Processing**, v. 73, n. 1, p. 13-21, Jan. 2004.
- MALKI, M. Importance of the iron cycle in biohydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 83, n. 1/4, p. 223-228, 2006.
- MARRECO, J. M.; PEREIRA JUNIOR, A.; TAVARES, M. E. Perspectiva para a geração termelétrica a carvão. **Revista Brasileira de Energia**, v. 12, n. 2, 2006. Disponível em: <file:///C:/Users/win7/Downloads/v12n02_perspectivas-para-a-gerao-termeltrica-a-carvo.pdf>. Acesso em: 25 ago. 2016.

MARSDEN, J.; HOUSE, I. **The chemistry of gold extraction**. New York: Ellis Horwood, 1992.

MARTINEZ, O. Biodesulphurization as a complement to the physical cleaning of coal. **Fuel**, v. 82, n. 9, p. 1085-1090, June 2003.

McMURRY, J. Determinação de estruturas: espectrometria de massas e espectrometria da região do infravermelho. In: _____. **Química orgânica**. 6. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2005. v. 1, cap. 12, p. 388-418.

MORÁN, A. et al. Microbiological desulfurization of column-packed coal. **Fuel Process Technology**, v. 52, p. 155-164, 1997.

MUKHERJEE, S.; SRIVASTAVA, S. Kinetics and energetics of high-sulfur northeastern India coal desulfurization using acidic hydrogen peroxide. **Energy & Fuels**, v. 18, n. 6, p. 1764-1769, Nov./Dec. 2004.

MUNKHTSETSEG, S. et al. Infrared absorption spectra of coals with different degrees of coalification. **Journal of Applied Spectroscopy**, v. 74, p. 338-343, 2007.

NEMATI, M. Biological oxidation of ferrous sulphate by *Thiobacillus ferrooxidans*: a review on the kinetic aspects. **Biochemical Engineering Journal**, v. 1, n. 3, p. 171-190, June 1998.

NIES, D. Microbial heavy-metal resistance. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 51, n. 6, p. 730-750, June 1999.

OLIVER, D. J.; DE, G. C.; PESIC, B. M. Effect of heavy metals on the ferrous iron oxidizing ability of *Thiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 44, n. 1/2, p. 53-63, 1997.

OSSA, D.; MÁRQUEZ, M. Jarosite pseudomorph formation from arsenopyrite oxidation using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 104, p. 162-168, 2010.

PANDEY, R. Microbial desulphurization of coal containing pyritic sulphur in a continuously operated bench scale coal slurry reactor. **Fuel**, v. 84, n. 1, p. 81-87, Jan. 2005.

PETERSEN, J.; DIXON, D. Competitive bioleaching of pyrite and chalcopyrite. **Hydrometallurgy**, v. 83, n. 1/4, p. 40-49, Sept. 2006.

PIRES, M. J. R. **Caracterização e modelamento das emissões atmosféricas da usina termoeleétrica Jacuí I**. 1990. 207 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e dos Materiais) - Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1990.

PRAYUENYONG, P. Coal biodesulfurization processes. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 24, p. 493-507, 2002.

- QUATRINI, R.; JEDLICKI, E.; HOLMES, D. Genomic insights into the iron uptake mechanisms of the biomining microorganism *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 32, n. 11/12, p. 606-614, Dec. 2005.
- RAWLINGS, D. E. Characteristics and adaptability of iron and sulfur oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates. **Microbial Cell Factories**, v. 4, n. 13, p. 1-15, 2005.
- RIMSTIDT, J.; VAUGHAN, D. Pyrite oxidation: a state-of-the-art assessment of the reaction mechanism. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 67, p. 873-880, 2003.
- RODRIGUEZ, Y. et al. New information on the pyrite bioleaching mechanism at low and high temperature. **Hydrometallurgy**, v. 71, n. 1/2, p. 37-46, Oct. 2003.
- ROHWERDER, T. et al. Bioleaching review part A: progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 63, p. 239-248, 2003.
- ROSSI, G. The microbial desulfurization of coal. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**. v. 142, p. 147-167, 2014.
- RYU, H.; CHANG, Y.; KIM, S. Microbial coal desulfurization in an airlift bioreactor by sulfur oxidizing bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. **Fuel Processing Technology**, v. 36, n. 1/3, p. 267-275, Dec. 1993.
- SAIKIA, B.; BORUAH, R.; GOGOI, P. FT-IR and XRD analysis of coal from Makum coalfield of Assam. **Journal of Earth System Science**, v. 116, n. 6, p. 575-579, Dec. 2007.
- SAMPSON, M.; PHILLIPS, C.; BLAKE, R. Influence of the attachment of acidophilic bacteria during the oxidation of mineral sulfides. **Minerals Engineering**, v. 13, n. 4, p. 373-389, Apr. 2000.
- SAND, W.; GEHRKE, T. Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron(III) ions and acidophilic bacteria. **Research in Microbiology**, v. 157, n. 1, p. 49-56, Jan./Feb. 2006.
- SAND, W. et al. (Bio)chemistry of bacterial leaching—direct vs. indirect bioleaching. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 159-175, 2001.
- SCHIPPERS, A.; SAND, W. Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 1, p. 319-321, Jan. 1999.
- SILVERMAN, M.; LUNDGREN, D. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*. I. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields. **Journal of Bacteriology**, v. 77, n. 5, p. 642-647, 1959.

SILVERMAN, M.; ROGOFF, M.; WENDER, I. Bacterial oxidation of pyritic materials in coal. **Applied Microbiology**, v. 9, n. 6, p. 491-496, 1961.

SINGH, P. Control of different pyrite forms on desulfurization of coal with bacteria. **Fuel**, v. 106, p. 876-879, Apr. 2013.

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. Compostos de carbono representativos: grupos funcionais, forças intermoleculares e espectroscopia de infravermelho (IV). In: _____. **Química orgânica**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2001. v. 1, cap. 2, p. 43-75.

SRIPRIYA, R. Critical evaluation of factors affecting the operation of dense medium cyclones treating medium coking coals. **International Journal of Mineral Processing**, v. 63, n. 4, p. 191-206, Dec. 2001.

SRIPRIYA, R. Development of an alternative to magnetite for use as heavy media in coal washeries. **International Journal of Mineral Processing**, v. 71, n. 1/4, p. 55-71, Sept. 2003.

SUMÁRIO MINERAL. Brasília, DF: DNPM, 2014. 152 p.

TRIBUTSCH, H. Direct versus indirect bioleaching. **Hydrometallurgy**, v. 59, n. 2/3, p. 177-185, Feb. 2001.

TUOVINEN, O.; KELLY, D. Biology of *Thiobacillus ferrooxidans* in relation to microbiological leaching of sulfide ores. **Zeitschrift Fur Allgemeine Mikrobiologie**, v. 12, n. 4, p. 311-346, 1972.

VASILAKOS, N.; CLINTON, C. Chemical beneficiation of coal with aqueous hydrogen peroxide sulfuric acid solutions. **Fuel**, v. 63, n. 11, p. 1561-1563, 1984.

VASSILEV, S. V.; TASCÓN, J. M. D. Methods for characterization of inorganic and mineral matter in coal: a critical overview. **Energy & Fuels**. v. 17, n. 2, p. 271-281, 2003.

VASSILEV, S. V.; VASSILEVA, C. G. Occurrence abundance and origin of minerals in coals and coal ashes. **Fuel Processing Technology**, v. 48, p. 85-106, 1996.

WANG, S. H.; GRIFFITHS, P. Resolution enhancement of diffuse reflectance i. r. spectra of coal by Fourier self-deconvolution. **Fuel**, v. 64, p. 229-236, 1985.

XIAO, L.; SOMASUNDARAN, P.; VASUDEVAN, T. V. Effect of air oxidation on the floatability of bituminous coals: diffuse reflectance infrared fourier transform (DRIFT) spectroscopic analysis. **Colloids and Surfaces**, v. 50, p. 231-240, 1990.

ZENG, W. Electrochemical behaviour of massive chalcopyrite electrodes bioleached by moderately thermophilic microorganisms at 48°C. **Hydrometallurgy**, v. 105, n. 3/4, p. 259-263, 2011.