

DANIEL RODRIGUES DA SILVA

**Efeito da adição de nanopartículas na biolixiviação da calcopirita (CuFeS_2) por
Acidithiobacillus ferrooxidans LR**

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

Orientadores: Prof. Dr. Oswaldo Garcia Junior (in memoriam)
Profa. Dra. Denise Bevilaqua

Araraquara
2011

FICHA CATALOGRÁFICA

S586e Silva, Daniel Rodrigues da
Efeito da adição de nanopartículas na biolixiviação da calcopirita (CuFeS₂) por *Acidithiobacillus ferrooxidans* LR / Daniel Rodrigues da Silva. – Araraquara : [s.n], 2011
81 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Denise Bevilaqua
Orientador: Oswaldo Garcia Júnior (in memorian)

1. Bioquímica. 2. *Acidithiobacillus ferrooxidans*.
3. Nanopartículas. 4. Biohidrometalurgia. I. Título.

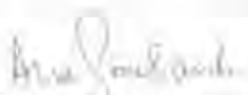
DANIEL RODRIGUES DA SILVA

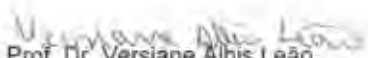
Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 02 de junho de 2011

BANCA EXAMINADORA


Profª Drª Denise Bevilaqua (Orientadora)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara


Profª Drª Ana Teresa Lombardi
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – UFSCar – São Carlos


Prof. Dr. Versiane Albis Leão
Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP – Ouro Preto

FORMAÇÃO ACADÊMICA

I. BACHARELADO EM QUÍMICA TECNOLÓGICA

Curso de Bacharelado em Química Tecnológica concluído em 2008 no Instituto de Química de Araraquara – UNESP.

I.1 ESTÁGIO SUPERVISIONADO

Estágio supervisionado obrigatório realizado no Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química do Instituto de Química de Araraquara – UNESP sob a orientação do Prof. Dr. Oswaldo Garcia Junior, no período de 07/2008 a 12/2008.

Título: Efeito da Adição de Nanopartículas de SnO_2 e de SnO_2 dopado com 2% de Antimônio na Biolixiviação da Calcopirita por *Acidithiobacillus ferrooxidans* LR

II TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

SILVA, D. R. ; GARCIA JUNIOR, O. ; BEVILAQUA, D. ; NOVELLO, A. P. F. .
Oxidação da Molibdenita (MoS_2) por *Acidithiobacillus ferrooxidans* na Presença de Cisteína. In: **XX Congresso de Iniciação Científica da UNESP**, 2008. São José dos Campos (SP).

RESUMO

A biolixiviação (lixiviação bacteriana) é uma alternativa para a extração de metais presentes em sulfetos minerais empregando microorganismos. Dentre as principais vantagens da biohidrometalurgia em relação aos métodos convencionais podem ser destacadas a não-emissão de SO_2 para a atmosfera, pequeno gasto com insumos, pois são produzidos pelos próprios microorganismos, baixa demanda energética e o tratamento de minérios contendo metais em baixo teor. Uma das espécies envolvidas na biolixiviação de sulfetos minerais mais estudadas é *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Essa bactéria é gram negativa, aeróbia, acidófila, mesófila e obtém energia através da oxidação de íons Fe^{2+} e compostos reduzidos de enxofre. A calcopirita é a principal fonte de cobre presente na crosta terrestre. Uma das principais propriedades desse sulfeto é a sua alta refratariedade ao ataque químico e bacteriano, consequência da sua elevada energia de rede cristalina. Além disso, a formação de uma camada protetora, constituída basicamente por polissulfetos, sobre a sua superfície diminui a dissolução desse minério. Por isso, diversos grupos de pesquisa buscam alternativas para a resolução desses problemas visando elevar as extrações de cobre a partir desse sulfeto. Com esse objetivo, o presente trabalho estudou o efeito da adição de nanopartículas, polares e apolares, na biolixiviação da calcopirita por *A. ferrooxidans* LR. O único estudo relacionado à lixiviação envolvendo nanopartículas demonstrou que a adição de nanosílica elevou as taxas de dissolução da calcopirita mediante utilização de agentes oxidantes, meio reacional ácido e temperatura moderada. Para avaliar o efeito da adição de nanopartículas no crescimento bacteriano, foi monitorada a concentração de íons Fe^{2+} presentes em sistemas contendo *A. ferrooxidans* LR e diferentes concentrações de partículas nanométricas. Assim, foi verificado que altas quantidades de nanopartículas ($> 2,5\%$, m/v) afetam o crescimento da bactéria. Ensaio em frascos agitados foram realizados para determinar o efeito da adição de nanopartículas em diferentes concentrações na biolixiviação da calcopirita. A partir de amostras semanais foram determinados parâmetros como pH, potencial de oxido-redução (Eh) e dissolução de cobre para todas as condições testadas. Resíduos obtidos ao final dos ensaios de biolixiviação foram analisados por difratometria de raios-X e microscopia eletrônica de varredura. Foi observado que a

adição de nanopartículas apolares não provocou grandes alterações no comportamento bacteriano frente ao sulfeto mineral estudado. Quando foram empregadas nanopartículas polares, a dissolução da calcopirita foi acelerada em baixas concentrações alcançando valores finais de extração de cobre superiores. A formação de uma dupla camada elétrica ao redor de cada uma das nanopartículas polares, além de erosão causada pelo choque de cada uma delas com a calcopirita devido à agitação do sistema e ação bacteriana, pode ser uma explicação para esses resultados. Para altas concentrações de material nanoparticulado, o efeito na extração de cobre foi negativo. Isso pode estar associado à adesão das partículas nanométricas a superfície do sulfeto estudado e, conseqüentemente, provocando um bloqueio físico do sulfeto com o meio reacional e com as bactérias presentes em solução. Outro fator agravante é o aumento das forças de repulsão provocado pelo maior número de nanopartículas polares dispersas em solução.

Palavras-chave: Calcopirita. *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Nanopartículas.

ABSTRACT

Bioleaching is an alternative for metal extraction from mineral sulfides using microorganisms. The main advantages of the biotechnological processes in comparison with usual methods of metal extraction are the non-emission of SO₂ to atmosphere, lower inputs cost, as they are produced by the microorganisms themselves, lesser energy requirements and treatment of low-grade ores. One of the most studied microbes involved in the bioleaching of mineral sulfides is *Acidithiobacillus ferrooxidans*. This bacterium is Gram-negative, aerobic, acidophilic, mesophilic and oxidizes Fe²⁺ ions and reduced forms of sulfur to obtain energy. Chalcopyrite is the main copper source present in the world. One of its main properties is the high resistance to the chemical and bacterial attacks, result of its great crystal lattice energy. Also, the formation of a protective layer, mainly constituted by polysulfides, over its surface reduces the dissolution of that ore. For those reasons, several research groups throughout the world are investigating alternatives to solve these problems and promote the higher copper extraction from this sulfide. This work studied the effect of adding nanoparticles, polar and non-polar, in the bioleaching of chalcopyrite by *A. ferrooxidans* LR. The only study related to leaching involving nanoparticles, published in 2005, demonstrated that the addition of nano-sized silica raised the dissolution rates of chalcopyrite when using oxidizing agents, acidic medium and moderate temperature. To evaluate the effect of adding nanoparticles in bacteria growth, it was monitored the Fe²⁺ ions concentration present in flasks that contained *A. ferrooxidans* LR and different concentrations of nanoparticles. Thus, it was observed that high amounts of nanoparticles (> 2.5% m/v) affected the bacteria growth. Shake flasks experiments were conducted to determine the effect of adding nanoparticles in different concentrations in the bioleaching of chalcopyrite. From weekly samples, parameters like pH, redox potential (Eh) and copper extraction were measured for each condition. In the end of the bioleaching experiments, residues were obtained and analyzed by X-ray diffractometry and scanning electron microscopy. It was observed that the addition of non-polar nanoparticles to the system did not affect the bacterial behavior concerning the studied mineral sulfide. When small amounts of polar nanoparticles were added, the dissolution of chalcopyrite was accelerated and reached higher copper extraction

values. The probable generation of an electric double layer around every polar nanoparticle, in addition to erosion caused by collisions with chalcopyrite grains due to system agitation, and bacterial attack, can be responsible for those results. For high amounts of nanoparticles, it was observed a negative effect for the extraction of copper, probably due to adhesion of these particles on the chalcopyrite surface. As a consequence it was formed a barrier blocking the contact of the sulfide and the leaching medium. The increase of repulsion forces generated by the greater number of polar nanoparticles dispersed in solution helped to prevent higher values of copper extraction.

Keywords: Chalcopyrite. *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Nanoparticles

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1.	Biohidrometalurgia.....	15
2.2.	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	20
2.3.	Mecanismos de Interação Bactéria/Substrato	23
2.3.1.	<u>Mecanismo Indireto</u>	23
2.3.2.	<u>Mecanismo Indireto de Contato</u>	24
2.3.3.	<u>Mecanismo Direto de Contato</u>	24
2.4.	Calcopirita.....	24
2.5.	Nanopartículas.....	27
3.	OBJETIVOS	31
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1.	Linhagem Bacteriana	33
4.2.	Amostra Mineral	33
4.3.	Meio de Cultivo e Obtenção de Células.....	34
4.4.	Nanopartículas.....	35
4.5.	Ensaio de Oxidação do Íon Ferroso (Fe^{2+})	36
4.6.	Ensaio de Biolixiviação em Frascos Agitados.....	37
4.7.	Determinação de Íon Férrico (Fe^{3+}) e Ferro Total	38
4.8.	Difratometria de Raios-X (DRX)	38
4.9.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	39
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1.	Ensaio de Oxidação do Íon Ferroso (Fe^{2+})	41
5.1.1.	<u>Nanopartículas Apolares (AP)</u>	41
5.1.2.	<u>Nanopartículas Polares (P)</u>	41
5.1.2.1.	<u>P/M5</u>	41
5.1.2.2.	<u>P/H-5</u>	43

5.2.	Ensaio de Biolixiviação em Frascos Agitados	44
5.2.1.	<u>Nanopartículas Apolares</u>	44
5.2.1.1.	<u>pH</u>	44
5.2.1.2.	<u>Potencial de Óxido-Redução (Eh)</u>	45
5.2.1.3.	<u>Extração de Cobre</u>	47
5.2.1.4.	<u>Análise por DRX</u>	49
5.2.1.5.	<u>Análise por MEV</u>	51
5.2.2.	<u>Nanopartículas Polares</u>	53
5.2.2.1.	<u>P/M5</u>	53
5.2.2.1.1.	<i>pH</i>	53
5.2.2.1.2.	<i>Potencial de Óxido-Redução (Eh)</i>	54
5.2.2.1.3.	<i>Extração de Cobre</i>	56
5.2.2.1.4.	<i>Análise por DRX</i>	58
5.2.2.1.5.	<i>Análise por MEV</i>	60
5.2.2.2.	<u>P/H-5</u>	62
5.2.2.2.1.	<i>pH</i>	62
5.2.2.2.2.	<i>Potencial de Óxido-Redução (Eh)</i>	63
5.2.2.2.3.	<i>Extração de Cobre</i>	64
5.2.2.2.4.	<i>Análise por DRX</i>	66
5.2.2.2.5.	<i>Análise por MEV</i>	68
6.	CONCLUSÕES	73
7.	PERSPECTIVAS FUTURAS	75
	REFERÊNCIAS	77
	ANEXO	81

1 INTRODUÇÃO

O cobre é um dos metais de maior interesse econômico devido às suas mais variadas aplicações que abrangem diversas áreas como, por exemplo, as telecomunicações, transmissão de energia elétrica e a fabricação de ligas. A calcopirita (CuFeS_2) é a principal fonte de cobre presente na crosta terrestre, sendo responsável por aproximadamente 70% das reservas minerais desse metal (CÓRDOBA et al., 2008).

O método convencional pirometalúrgico para o tratamento desse sulfeto mineral apresenta diversas desvantagens como alta demanda energética e, conseqüentemente, alto custo operacional, além de um grande impacto ambiental devido às emissões de dióxido de enxofre (SO_2 , um dos principais constituintes da chuva ácida) para a atmosfera. Por esses problemas, alternativas vêm sendo estudadas com o objetivo de desenvolver um processo que seja viável do ponto de vista econômico e que diminua a emissão de gases e outros resíduos nocivos para o planeta.

Um desses métodos alternativos é a hidrometalurgia. Ela consiste em lixiviar esse minério estaticamente em pilhas para posterior extração por solventes e eletrólise do cobre. Esse método possui várias vantagens em relação ao processo pirometalúrgico pois, apresenta baixos custos de operação, não é necessária mão-de-obra especializada para sua operação e seus resíduos são mais fáceis de serem controlados, não prejudicando o meio ambiente.

Quando são empregados microorganismos oxidantes de sulfetos minerais, esse método é conhecido como biohidrometalúrgico, ou lixiviação bacteriana (biolixiviação). Essa alternativa possui algumas vantagens sobre a hidrometalurgia, pois não há grande consumo de ácido, uma vez que ele é produzido pelo próprio microorganismo, e pode ser utilizada para o tratamento de minérios e rejeitos com baixo teor do metal de interesse.

Um dos microorganismos mais conhecidos que atuam nesse processo é *Acidithiobacillus ferrooxidans*, um bacilo gram-negativo que utiliza íons ferrosos (Fe^{2+}) e formas reduzidas de enxofre para obtenção de energia. Essa espécie não-patogênica é mesofílica, apresentando 30°C como temperatura ideal para seu crescimento, e acidofílica (pH ótimo = 1,8).

A calcopirita é altamente refratária frente ao ataque bacteriano devido às transformações na sua superfície que geram uma camada passivadora de polissulfetos de cobre, reduzindo sua velocidade de dissolução e a extração de cobre. Por essa razão, qualquer proposta para um processo (bio)hidrometalúrgico economicamente viável deve levar em consideração os aspectos químicos e eletroquímicos que são responsáveis pela sua lixiviação.

Diversos grupos de pesquisa em todo o mundo vêm buscando maneiras para otimizar esse processo. Um estudo publicado em 2005 revelou que a adição de nanopartículas de sílica promoveu a dissolução da calcopirita em meio ácido e temperatura moderada utilizando agentes oxidantes como FeCl_3 , Fe_2SO_4 e H_2O_2 . Os valores de cobre extraído alcançaram até 80% após 70 horas de experimento (MISRA; FUERSTENAU, 2005).

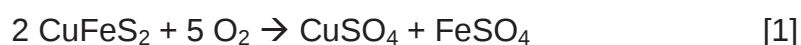
Porém, a relação entre a adição de nanopartículas e as taxas superiores de dissolução da calcopirita não foram justificadas até o presente momento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nessa revisão bibliográfica foram abrangidos diversos assuntos relativos à biolixiviação da calcopirita e a utilização de nanopartículas em diversas aplicações na biotecnologia.

2.1 Biohidrometalurgia

Os metais são matérias-primas de grande interesse econômico e industrial devido ao seu grande número de aplicações em inúmeros materiais. Tradicionalmente, a extração de metais é realizada através do processo pirometalúrgico que é baseado na oxidação do minério mediante utilização de altas temperaturas para sua oxidação. Esse processo é denominado ustulação quando são empregados sulfetos metálicos. A reação 1 a seguir exemplifica esse processo para a calcopirita:



O alto custo do processo pirometalúrgico o torna economicamente viável somente em jazidas com alto teor do metal de interesse. Outra desvantagem na oxidação de sulfetos minerais é a liberação de dióxido de enxofre (SO_2) para a atmosfera, um dos gases responsáveis pela formação da chuva ácida.

Enquanto a demanda mundial por cobre cresce, há a necessidade de se processar minérios de baixo teor e resíduos gerados pelos tratamentos atuais (WATLING, 2006). Portanto, é extremamente importante o desenvolvimento de métodos alternativos para o tratamento de minérios contendo baixos teores desses metais.

Entre esses métodos alternativos está a Hidrometalurgia, caracterizada por utilizar soluções ácidas ou básicas para o tratamento mineral e recuperação do metal de interesse. Os processos hidrometalúrgicos apresentam os seus custos energéticos como principal vantagem em relação ao processo convencional.

A extração (lixiviação) hidrometalúrgica de cobre a partir de minérios, além da posterior precipitação do mesmo na solução resultante por tratamento com ferro metálico (cimentação), é uma técnica muito antiga. Os chineses praticavam uma

variação desse processo em 100-200 a.C. e, provavelmente, até antes dessa data (ROSSI, 1990). Porém, a percepção de que cobre poderia ser derivado de uma solução de sulfato de cobre penta-hidratado obtida quando um minério de cobre era lixiviado, surgiu possivelmente com a descoberta de que ferro metálico em contato com tal solução resultava na precipitação de cobre (EHRlich, 2001).

Registros históricos indicam que a lixiviação de minérios de cobre e sua cementação eram também conhecidas na Europa e na Ásia Menor por volta do século II d.C.. A técnica era provavelmente conhecida por essas civilizações muito antes desta data. Se esse conhecimento foi trazido da China, levado aos chineses ou descoberto independentemente, esse fato é desconhecido. A lixiviação era a única forma que os povos antigos conheciam para extrair cobre de sulfetos minerais, uma vez que, antigamente, o processo de fundição era conduzido em lareiras e, por isso, eficaz somente para óxidos e carbonatos de cobre (EHRlich, 2001).

A prática da lixiviação e da cementação de cobre foi refinada com o passar dos séculos. Os mouros durante a conquista da Espanha parecem ter instituído a lixiviação em pilhas nas minas do Rio Tinto. Em 1752, os espanhóis desenvolveram um processo de lixiviação de cobre a partir de minérios parcialmente torrados nesse mesmo local (ROSSI, 1990). Outros registros relatam que mais de dois milhões de toneladas de cobre foram lixiviadas na mina Falen, Suécia, desde 1687 (HALLBERG, 1973 apud EHRlich, 2001, p.128). A cementação de cobre foi utilizada durante vários séculos mas, atualmente, sua prática foi abolida.

Apesar do longo período em que a prática de lixiviar sulfetos minerais de cobre foi utilizada, o envolvimento de certos tipos de bactéria nesse processo não foi descoberto até meados do século XX, uma vez que a existência de bactérias era desconhecida até a metade do século XVII (EHRlich, 2001).

A biohidrometalurgia começou a ser aplicada comercialmente somente na década de 50 quando foi implementado um processo para biolixiviar cobre presente em minérios de baixo teor em uma mina da Kennecott Copper em Utah (EUA). Desde então, outras operações semelhantes vêm sendo realizadas por todo o mundo (BRIERLEY, J.; BRIERLEY, C., 2001).

A biolixiviação em pilhas sofreu diversas modificações com o passar dos anos. Alterações no modelo das pilhas para evitar sua queda e otimização da aeração foram os principais fatores para a melhoria do processo. A recuperação do metal presente na lixívia por cementação foi substituída por etapas de extração por

solventes e eletrodeposição (EHRlich, 2001). Entretanto, pouco esforço foi feito para melhorar o componente microbiológico envolvido nesse processo (BRIERLEY, J.; BRIERLEY, C., 2001).

A biohidrometalurgia expandiu sua atuação para recuperar outros metais somente na década de 80, quando a primeira planta comercial para pré-tratamento de um concentrado refratário contendo ouro foi posta em operação na África do Sul. Atualmente, a biolixiviação em pilhas persiste como um processo de baixo custo para extrair cobre de minérios que não podem ser tratados por outro método do ponto de vista econômico. Todas as operações que lançam mão dessa técnica estão situadas em países no hemisfério sul. Deve ser destacado que o trabalho pioneiro realizado na América do Norte não sofreu avanços para ser implementado comercialmente. Onze plantas de biolixiviação de cobre em pilhas e uma “in-situ” são operadas desde 1980, como demonstra a Tabela 1 (BRIERLEY, C., 1997 apud BRIERLEY, J.; BRIERLEY, C., 2001, p. 234):

Tabela 1 – Plantas comerciais de biolixiviação de cobre em pilhas.

Planta	Capacidade (ton/d)	Anos em operação
Lo Aguirre, Chile	16000	1980 – 1996
Mina Gunpowder's Mammoth, Austrália	in situ ¹	1991 - Atualmente
Mt. Leyshon, Austrália	1370	1992 – 1998
Cerro Colorado, Chile	16000	1993 – Atualmente
Girilambone, Austrália	2000	1993 – Atualmente
Ivan-Zar, Chile	1500	1993 – Atualmente
Quebrada Blanca, Chile	17300	1994 – Atualmente
Andacollo, Chile	10000	1996 – Atualmente
Dos Amigos, Chile	3000	1996 – Atualmente
Cerro Verde, Peru	15000	1996 – Atualmente
Zaldivar, Chile	≈ 20000	1998 – Atualmente
S&K Copper Project, Myanmar	15000	1998 – Atualmente

¹ reserva aproximada de 1,2 milhões de toneladas.

Fonte: BRIERLEY, J. A.; BRIERLEY, C. L., 2001, p. 234.

A planta de Quebrada Blanca é um dos melhores exemplos para ilustrar a evolução da biohidrometalurgia na área de mineração. Ela está localizada no norte do Chile em uma altitude de 4400 metros e contraria as críticas que recebeu antes de sua implantação de que as bactérias envolvidas no processo de biolixiviação não agiriam eficazmente sob as baixas temperaturas e a baixa pressão parcial de oxigênio encontrada na região (BRIERLEY, J.; BRIERLEY, C., 2001). Nessa planta,

17.300 toneladas por dia de sulfeto mineral são moídas de forma que sua granulometria seja 100% inferior a 9 mm e posteriormente são aglomeradas com ácido sulfúrico e água quente e amontoadas para formar pilhas de 6 m a 6,5 m de altura. A atividade bacteriana é facilitada graças à aeração utilizando um conjunto de linhas de ar instaladas sob a pilha e ventiladores de baixa pressão. A monitoração do processo bacteriano inclui medidas de respiração no local (BRIERLEY, J.; BRIERLEY, C., 2001).

Outro exemplo de sucesso da biolixiviação em pilhas é a mina de Talvivaara na Finlândia. Ela compreende uma das maiores reservas conhecida de níquel em toda a Europa, com um bilhão de toneladas de minério, o suficiente para uma produção desse metal por um período mínimo de 45 anos (RIEKOLLA-VANHANEN, 2010).

Para avaliar a viabilidade desse método de extração frente às baixas temperaturas da região, foi posta em operação uma planta-piloto em maio de 2005. O tamanho da pilha foi grande o suficiente para gerar uma elevada quantidade de calor no seu interior. A oxidação de pirrotita (Fe_{1-x}S , onde $x = 0$ a $x = 0,2$) e pirita (FeS_2) foi responsável por esse fato. No interior da pilha, houve um gradiente de temperaturas, variando de 30°C a 90°C, aproximadamente (RIEKOLLA-VANHANEN, 2010).

Após 400 dias de operação, a extração de níquel obtida foi de 80%. Os valores de extração de zinco alcançaram esse mesmo patamar após 480 dias. Além de zinco, cobre e cobalto foram subprodutos desse processo. Contudo, para a extração desses dois últimos, a pilha foi transportada para outro local próximo e revolvida para que áreas que não entraram em contato anteriormente com a solução lixiviante pudessem ser lixiviadas. Assim, as extrações de cobre e cobalto foram de, aproximadamente, 22% e 35%, respectivamente, após três anos de operação (RIEKOLLA-VANHANEN, 2010).

É estimado que essa mina produza anualmente por volta de 50 mil toneladas de níquel quando estiver totalmente operacional. Além disso, ela deve produzir por ano 90 mil toneladas de zinco, 15 mil toneladas de cobre e 1.800 toneladas de cobalto (RIEKOLLA-VANHANEN, 2010).

A biolixiviação em pilhas vem obtendo resultados satisfatórios na extração de cobre de sulfetos metálicos secundários, como a calcocita (Cu_2S), em diversos

países. Entretanto, a lixiviação em pilhas da calcopirita, um refratário sulfeto de cobre primário, ainda não foi implementada em escala comercial (WATLING, 2006).

Os processos biohidrometalúrgicos para a extração de metais e os que contribuem para extraí-los estão principalmente associados à mineração de ouro e de cobre. Contudo, eles também vêm sendo utilizados para a recuperação de zinco, níquel e cobalto (POULIN; LAWRENCE, 1996).

Essa técnica requer pequeno gasto com insumos (ácidos e agentes oxidantes) por serem produzidos pelo próprio microorganismo, baixos custos de energia, de investimento de capital, de operação, além de reduzida mão-de-obra especializada na operação em relação aos demais processos de beneficiamento de metais e de aproveitamento de rejeitos de minérios contendo metais em baixo teor.

A ação natural de bactérias presentes no minério promove a oxidação do sulfeto insolúvel ligado ao metal de interesse (MS, onde M é o metal-alvo) ao sulfato solúvel correspondente (MSO_4). Em alguns casos, como no caso da lixiviação bacteriana de urânio, o metal de interesse não está sob a forma de sulfeto. Neste caso, a oxidação é realizada mediante atuação bacteriana em algum sulfeto presente no minério para que haja formação de agentes lixiviantes como o íon férrico (Fe^{3+}), solubilizando o metal não-sulfetado. A biolixiviação em tanques agitados é utilizada para concentrados de ouro refratários, nos quais o ouro está presente na matriz pirita/arsenopirita. Esse é um processo que consiste na utilização de tanques arranjados em série ou paralelo. Os tanques são alimentados com o concentrado, microorganismos, nutrientes e ar, fornecendo o oxigênio necessário para as reações de lixiviação (MORIN, 2006). Devido ao seu custo operacional mais elevado quando comparado à lixiviação em pilhas, essa técnica é empregada principalmente no pré-tratamento de concentrados contendo ouro na sua composição.

A complexidade do minério do qual se deseja extrair um metal de interesse também é um fator relevante para a escolha do método mais adequado para o seu processamento. A presença de impurezas e outros minérios associados faz com que a (bio)hidrometalurgia seja a única opção viável economicamente para dissolver tais minérios (NORGATE; JAHANSHAH, 2010).

Como exemplo, 70% do níquel disponível na crosta terrestre está na forma de lateritas e os 30% restantes na forma de sulfetos. Contudo, as lateritas são responsáveis por apenas 40% da produção desse metal. A complexidade

mineralógica e química dos minérios lateríticos faz com que o seu processamento seja mais complicado, uma vez que esses compostos apresentam dificuldades para serem concentrados. Os sulfetos e, aproximadamente, 35% das lateritas são processados pela pirometalurgia enquanto que o restante desses complexos minérios são tratados por métodos hidrometalúrgicos (NORGATE; JAHANSHAH, 2010).

Atualmente, a biohidrometalurgia não é mais vista como uma técnica promissora e sim é reconhecida como uma alternativa ou processo complementar para a recuperação e obtenção de metais de minérios de teores reduzidos ou de alta complexidade mineralógica e química.

2.2 *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Entre 1950 e 1951, Temple e Hinkle relataram que a drenagem ácida de minas de carvão era resultado da oxidação bacteriana de inclusões de pirita em veios de carvão betuminoso expostas ao ar e à umidade (COLMER; TEMPLE; HINKLE, 1950; TEMPLE; COLMER, 1951). Durante a mesma época, surgiram os primeiros relatórios de bactérias envolvidas na lixiviação de cobre (BRYNER et al., 1954; BRYNER; ANDERSON, 1957; BRYNER; JAMESON, 1958 apud EHRLICH, 2001, p. 128). Além disso, L.C. Bryner, J.V. Beck e seus alunos na universidade Brigham Young em Provo, Utah (EUA) encontraram as mesmas bactérias, *Thiobacillus ferrooxidans* e *Thiobacillus thiooxidans*, em drenagem de uma mina de cobre em Bingham Canyon, Utah.

Estes mesmos autores demonstraram em experimentos de laboratório que *T. ferrooxidans* era capaz de lixiviar vários sulfetos minerais de cobre assim como a molibdenita (MoS_2). Contudo, ela somente era lixiviada na presença de pirita. Isso decorria da oxidação da pirita que gerava íon férrico, o qual precipitava molibdato, tóxico para a bactéria. Pouco tempo depois, a biolixiviação de outros sulfetos minerais como esfalerita (ZnS), pentlandita (NiS) e galena (PbS) foi relatada.

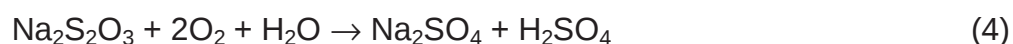
Ela foi reclassificada por Kelly e Wood (2000) como *Acidithiobacillus ferrooxidans* e, das espécies envolvidas na biolixiviação de sulfetos minerais, é a mais estudada e, conseqüentemente, a mais utilizada nos processos biohidrometalúrgicos. Ela é quimiolitotrófica autótrofa e obtém energia através da

oxidação de íons Fe^{2+} e diversos compostos de enxofre como enxofre elementar, tiosulfato, tritionato, tetrationato e sulfato (SCHIPPERS, 2006).

A estequiometria da reação de oxidação do íon Fe^{2+} pelo *A. ferrooxidans* pode ser vista na equação 2:



Além do Fe^{2+} , a espécie oxida ainda formas reduzidas de enxofre para a produção de energia:



Em 1964, foi relatado que *A. ferrooxidans* detinha a capacidade de oxidar a arsenopirita (FeAsS). Durante esse processo, o arsenato, As^{5+} , formado é resultado da oxidação química do arsenito, As^{3+} , pelo íon férrico gerado pela bactéria de acordo com a equação 5 (HOQUE; PHILIP, 2011):



Décadas depois, Eric Livsey-Goldblatt propôs que esse microorganismo poderia ser utilizado para biobeneficiar minérios de ouro pirítico em um processo de biooxidação que seria significativamente mais econômico do que o tratamento pirometalúrgico, baseado em testes realizados em laboratório (EHRlich, 2001).

Esse processo se provou viável economicamente e é utilizado até hoje para pré-tratamento de minérios de ouro pirítico. Nesse tipo de minério, a pirita e a arsenopirita recobrem o ouro, tornando-o inacessível a agentes lixiviantes como cianeto ou tiouréia. A oxidação parcial da pirita e da arsenopirita torna o ouro disponível para a extração e, ao mesmo tempo, diminui o consumo de cianeto durante o processo (EHRlich, 2001).

Há vários relatos na literatura de que essa bactéria pode oxidar outros sulfetos minerais como calcocita (Cu_2S), bornita (Cu_5FeS_4), calcopirita, covelita (CuS), enargita ($3\text{Cu}_2\text{S} \cdot \text{As}_2\text{S}_5$), pirita, marcasita (FeS_2), stibnita (Sb_2S_3), pirrotita,

tetraedrita ($\text{Cu}_8\text{Sb}_2\text{S}_7$) e sulfeto de gálio (GaS). *A. ferrooxidans* também apresenta atividade oxidante sobre diversos sulfetos sintéticos como CdS, CoS, CuS, Cu_2S , FeS, MnS, MoS_2 , NiS, PbS, SnS e ZnS (SCHIPPERS, 2006).

A capacidade de oxidar íons ferrosos (e pirita) é a principal característica dessa espécie do gênero *Acidithiobacillus*. Durante seu crescimento em compostos sulfurosos, foi observado que essa bactéria acumula depósitos estreitos de enxofre que estão predominantemente associados a sua parede celular. Esse microorganismo também cresce anaerobicamente tendo compostos de enxofre como doador de elétrons e íons Fe^{3+} como aceptores eletrônicos (SCHIPPERS, 2006). Esta energia é utilizada para a fixação de CO_2 atmosférico, sua fonte de carbono.

O *A. ferrooxidans* é um microorganismo não patogênico e se apresenta como bastonetes Gram-negativos com dimensões médias de 0,5 a 0,6 μm de diâmetro por 1,0 a 2,0 μm de comprimento. Apresentam flagelo polar e se reproduzem através de divisão binária simples (HOLT, 1994). A espécie é considerada um microorganismo mesofílico sendo 30°C a temperatura ideal de crescimento. Porém, essa espécie ainda apresenta atividade metabólica entre 10°C e 37°C. Essa bactéria é acidofílica, pois seu pH ideal para crescimento é ao redor de 1,8. Acima de pH 4,5 ou abaixo de pH 1,3, a bactéria não apresenta crescimento (SCHIPPERS, 2006).

Como *A. ferrooxidans* sobrevive em um hábitat com altas concentrações de íons metálicos, essa espécie é resistente a muitos metais catiônicos, embora metais sob a forma de aniões tendam a ser altamente tóxicos. Por exemplo, foi observada atividade metabólica dessa bactéria em altas concentrações de metais como: 800 mM de Cu^{2+} , 1071 mM de Zn^{2+} , 500 mM de Cd^{2+} e 1000 mM de Ni^{2+} . Este microorganismo também tolera uma quantidade alta de arsênio (84 mM de As^{3+}) (SCHIPPERS, 2006).

Essas características têm atraído uma considerável atenção nos últimos anos, não somente pelo desafio que essas descobertas têm causado nos conhecimentos dos limites da vida microbiana, mas principalmente pelo seu potencial biotecnológico.

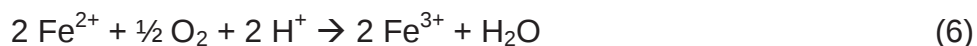
2.3 Mecanismos de Interação Bactéria/Substrato

A primeira hipótese criada para explicar a interação entre microorganismos e sulfetos metálicos durante sua oxidação foi feita por Silverman e Ehrlich (1964 apud WATLING, 2006, p. 88). Sua hipótese evoluiu para uma complexa descrição química/eletroquímica/bioquímica das interações bacterianas com os sulfetos metálicos (WATLING, 2006).

Existem três mecanismos pelos quais microorganismos (especificamente *A. ferrooxidans*) podem interagir com um sulfeto metálico:

2.3.1 Mecanismo Indireto

A principal função de *A. ferrooxidans* nesse mecanismo é regenerar o íon férrico (Fe^{3+}) a partir do íon ferroso (Fe^{2+}) na solução:



O íon Fe^{2+} provém da oxidação química do sulfeto metálico pelo íon Fe^{3+} :



Na equação 7, MS representa o sulfeto metálico e M^{2+} é o íon metálico bivalente formado.

Além de oxidar Fe^{2+} , a bactéria oxida o S^0 , formado na oxidação química do sulfeto metálico, a ácido sulfúrico (H_2SO_4) (EHRlich, 2001):



Segundo Garcia Junior e Urenha (2001), para a calcopirita o mecanismo indireto pode ocorrer pela equação a seguir:



Tanto o Fe^{3+} quanto H_2SO_4 são agentes lixiviantes que promovem a dissolução dos metais presentes no sulfeto. Sendo assim, pode-se afirmar que esse microorganismo possui uma função catalítica nesse mecanismo.

2.3.2 Mecanismo Indireto de Contato

Os microorganismos se aderem à superfície do sulfeto metálico e oxidam Fe^{2+} a Fe^{3+} no interior de um biofilme compreendido entre a bactéria e seu material exopolimérico. Esses íons férricos gerados oxidam o sulfeto (CRUNDWELL, 2003).

2.3.3 Mecanismo Direto de Contato

As bactérias aderidas à superfície do sulfeto metálico oxidam esse último biologicamente e diretamente. Não são necessários íons férricos ou ferrosos nesse processo (WATLING, 2006). Ocorre uma oxidação enzimática com elétrons sendo transportados para uma molécula de O_2 . Esses elétrons são provenientes da fração reduzida do mineral, geralmente o sulfeto (EHRlich, 2001):



2.4. Calcopirita

A calcopirita é a mais abundante e importante fonte de cobre disponível na crosta terrestre, porém é a mais difícil de ser lixiviada quimicamente ou por bactérias (JOHNSON et al., 2008). Ela é constituída de partes aproximadamente iguais de cobre, ferro e enxofre. A fórmula química é geralmente descrita como CuFeS_2 , uma vez que o cobre está principalmente no estado cuproso e o ferro no estado férrico. Ela é encontrada associada a muitos sulfetos minerais de origem magmática em rochas ígneas e em sedimentos. Também pode ocorrer em zonas secundárias de enriquecimento de muitos depósitos minerais (THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY AND COMMUNITY COLLEGE SYSTEM OF NEVADA, 2004).

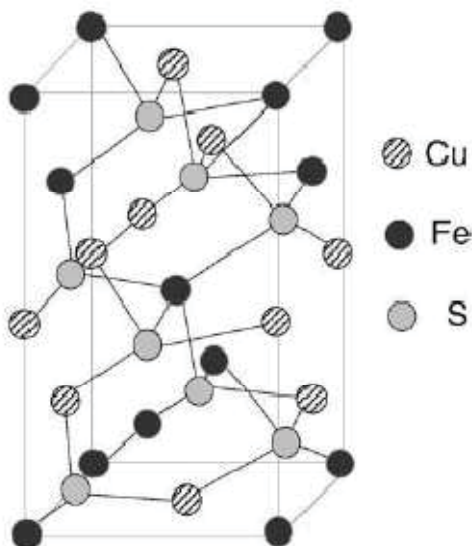
Um único cristal de calcopirita se comporta como um típico semicondutor com uma condutividade elétrica entre 8 e 20 $\text{ohm}^{-1} \text{cm}^{-1}$. É antiferromagnética com uma dureza entre 3,5 e 4,0 na escala Mohr. Está intimamente relacionada a bornita

(Cu_5FeS_4), a idaíta (Cu_5FeS_6) e a cubanita (CuFe_2S_3) (THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY AND COMMUNITY COLLEGE SYSTEM OF NEVADA, 2004).

A estrutura cristalina da calcopirita é tetragonal, próxima à cúbica, e é aproximadamente o dobro da correspondente à esfalerita. Cada átomo metálico (Cu e Fe) está coordenado por um tetraedro de átomos de enxofre e o átomo de S por um tetraedro de dois átomos de cobre e dois átomos de ferro. Entretanto, o átomo de enxofre está levemente deslocado para o centro do tetraedro metálico, em direção à aresta Fe-Fe (THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY AND COMMUNITY COLLEGE SYSTEM OF NEVADA, 2004).

A Figura 1 ilustra a estrutura cristalina da calcopirita. No primeiro e no quinto planos, correspondentes às faces inferior e superior do prisma tetragonal, os átomos de ferro estão localizados nos ângulos retos enquanto que os átomos de cobre estão situados no centro das faces. No terceiro plano, centro do prisma, a ordem é invertida. No segundo e no quarto planos, dois átomos de cobre estão ligados a dois átomos de enxofre. Porém, há átomos de ferro sob os átomos de cobre no segundo plano e vice versa no quarto plano (CÓRDOBA et al., 2008).

Figura 1 - Estrutura cristalina da calcopirita.



Fonte: CÓRDOBA, 2008, p. 81.

A distância interatômica de Cu-S é de 230,2 pm enquanto que para Fe-S, ela é igual a 225,7 pm. Uma das principais propriedades desse sulfeto é a sua alta refratariedade, conseqüência da sua energia de formação de rede cristalina que é de aproximadamente $17000 \text{ kJ.mol}^{-1}$. A ligação é essencialmente covalente com os

átomos se alternando entre dois estados iônicos, $\text{Cu}^+\text{Fe}^{3+}\text{S}_2^{2-}$ e $\text{Cu}^{2+}\text{Fe}^{3+}\text{S}_2^{2-}$. É sugerido que a resistência da calcopirita ao ataque bacteriano se deva principalmente a esses dois estados iônicos. A primeira espécie é mais resistente do que a segunda à ação de microorganismos (THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY AND COMMUNITY COLLEGE SYSTEM OF NEVADA, 2004).

A camada de enxofre que se forma na superfície da calcopirita é passivadora e altamente protetora, diminuindo a velocidade das reações de lixiviação e, conseqüentemente, a sua dissolução. Segundo a literatura esta camada pode ser constituída de polissulfetos de cobre (CuS_n) (HACKL et al., 1995).

Análises de XPS revelaram a existência de enxofre em três estados diferentes (S^{2-} , S^0 e S^{6+}) quando os experimentos foram realizados sob uma combinação de lixiviações química e bacteriana (BALAZ et al., 1996). Outros pesquisadores afirmam que o enxofre é elementar (ANTONIJEVIC et al., 1994). Também é afirmado que as propriedades do enxofre variam com as condições experimentais. Quando foi monitorado por alguns dias, o enxofre alterou sua coloração, tornando-se mais claro, devido a sua transformação para a fase rômica (BIEGLER; SWIFT, 1979). Entretanto, não há consenso quanto à natureza do enxofre associado à camada passivadora formada durante a lixiviação da calcopirita.

A extração de metais de sulfetos metálicos pode ser realizada por processos oxidativos, em geral, a lixiviação da calcopirita em solução ácida contendo íons férricos procede de acordo com a equação 9. Com o íon férrico como agente oxidante, nesta reação, o sulfeto metálico é oxidado a enxofre elementar (GARCIA JUNIOR; URENHA, 2001).

A solução ácida, na presença de oxigênio e bactéria, também pode promover a oxidação da calcopirita de acordo com a reação 11 (GARCIA JUNIOR; URENHA, 2001).



A biohidrometalurgia é aplicada em diversos países em desenvolvimento, como o Brasil. Levando em consideração todas as desvantagens apresentadas pelo método pirometalúrgico convencional de dissolução da calcopirita, tanto ambientais quanto econômicas, e as dificuldades em lixiviá-la, é de extrema importância que os

países em desenvolvimento que lançam mão dessa técnica invistam em pesquisa e otimização dos processos já existentes (ACEVEDO, 2002).

2.5 Nanopartículas

Estudos nas áreas de nanotecnologia e nanociência receberam uma grande atenção na última década. Esses estudos envolvem diversas áreas de pesquisa e de atividades industriais, desde ciências fundamentais (física, química e biologia) a ciências aplicadas, como eletrônica e de materiais, em escala nanométrica ($1\text{nm} = 10^{-9}\text{m}$). Um dos maiores avanços nos estudos em nanotecnologia e nanociência é a produção e aplicação de nanopartículas em ciências biológicas (LIU, 2006).

Em geral, nanopartículas apresentam dimensões inferiores a 100 nm, contém de 20 a 15.000 átomos e existem em um ambiente governado pelas escalas quânticas e Newtonianas (LIU, 2006). As nanopartículas de determinados materiais apresentam propriedades únicas que diferenciam dos materiais de origem. Essas propriedades podem ser eletrônicas, ópticas, magnéticas, mecânicas, reatividade química etc.

Nanoestruturas possuem tamanho intermediário entre as estruturas moleculares e microscópicas. Vistas como moléculas, são tão grandes que permitem observar o comportamento quântico. Quando são analisadas como materiais, são tão pequenas que possuem aspectos não vistos em estruturas maiores (mesmo a $0,1\text{ }\mu\text{m}$) (TARTAJ, 2004).

Elas podem ser produzidas a partir de diferentes materiais em formas diversas como esferas, hastes, fios e tubos. As nanopartículas podem ser classificadas com base no tipo de material em metálicas, semicondutoras e poliméricas.

Suas aplicações são relatadas em diversas áreas incluindo materiais avançados, eletrônicos, magnéticos e optoeletrônicos, biomedicina, fármacos, cosméticos, energia e catálise, além de monitoração e detecção ambiental (LIU, 2006).

Do ponto de vista tecnológico, as nanopartículas podem ser trabalhadas quimicamente, através da modificação de suas superfícies com moléculas específicas ou polímeros, ampliando enormemente suas aplicações. Nanopartículas de materiais semicondutores, por exemplo, seleneto de cádmio (CdSe) e sulfeto de

zinco (ZnS), já estão sendo utilizadas como marcadores biológicos fluorescentes em função de sua maior estabilidade em relação aos corantes orgânicos tradicionais, possibilitando o rastreamento das moléculas receptoras por tempos mais longos (TOMA, 2005).

Na área da biotecnologia, partículas nanomagnéticas são utilizadas principalmente para auxiliar na separação, purificação e concentração de diferentes biomoléculas. Para separar magneticamente um material biológico de interesse como, por exemplo, uma célula específica, uma proteína ou fragmentos de DNA, de uma matriz mais complexa. Geralmente são empregadas esferas de óxido de ferro (Fe_2O_3 ou Fe_3O_4) com diâmetros que variam de poucos nanômetros a alguns micrômetros. Essas partículas são denominadas superparamagnéticas porque são atraídas por um campo magnético, mas não retêm magnetismo residual após a remoção desse campo (TARTAJ, 2004).

Uma aplicação comum de nanopartículas superparamagnéticas é a separação de células imuno específicas. Um anticorpo específico e partículas nanomagnéticas são misturados para imobilização do material biológico na superfície das nanopartículas. Em seguida, as partículas são imersas em uma solução contendo células, proteínas e/ou antígenos de interesse. As nanopartículas se ligam às superfícies das células desejadas e essas biomoléculas podem ser coletadas através de um ímã que atrai as nanopartículas. Métodos similares são empregados no isolamento ou remoção de vários tipos de células incluindo linfócitos, células tumorais ou antígenos específicos (TARTAJ, 2004).

Outra aplicação de partículas nanomagnéticas na biotecnologia é o transporte de medicamentos ministrados, no tratamento do câncer, para tumores. Essas drogas apresentam radioatividade e são retidas nas partículas magnéticas, as quais são injetadas no paciente. Então, com o posicionamento de um campo magnético sobre o tumor, as nanopartículas contendo o medicamento são atraídas para uma área específica do paciente onde as células tumorais são atacadas seletivamente (TARTAJ, 2004).

As nanopartículas também são aplicadas em estudos ambientais. Várias pesquisas utilizaram nanopartículas bimetálicas como um oxidante efetivo, ao invés de metal granular de valência zero, na remoção de contaminantes ambientais. Esses experimentos são justificados pelo fato de que partículas nanométricas podem se difundir e penetrar em uma zona de contaminação onde micropartículas não podem

alcançar. Além disso, elas apresentam uma reatividade superior com contaminantes suscetíveis a reações de óxido-redução em relação a partículas micrométricas (LIU, 2006).

Como exemplo de tal aplicação, pode ser citado que óxidos recobertos com ferro metálico podem formar complexos fracos com contaminantes como tetracloreto de carbono (CCl_4). Através de transferência de elétrons, CCl_4 pode ser reduzido a metano (CH_4), monóxido de carbono (CO) ou formiato (CHO^{2-}). Além disso, nanotubos de TiO_2 podem ser utilizados para degradar pentaclorofenol ($\text{C}_6\text{HCl}_5\text{O}$) através de uma reação fotoeletrocatalítica (QUAN et al., 2005).

Nanopartículas poderão ser utilizadas em um futuro próximo para imobilizar células microbianas que degradam ou recuperam compostos específicos. Diferentemente do método convencional para imobilização de células em um meio de dimensões micrométricas ou sobre uma superfície fixa, nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 foram funcionalizadas com oleato de amônio e utilizadas no recobrimento da superfície de *Pseudomonas delafieldii* (SHAN et al., 2005).

Embora as nanopartículas sejam alvo de grande interesse graças às suas mais diversas aplicações, vários estudos demonstraram os seus efeitos potenciais adversos na saúde humana e no meio ambiente (AITKEN; CREELY; TRAN, 2004). É provável que resíduos gerados durante a produção e utilização desses materiais estejam presentes em diversos ambientes em um futuro próximo. Há uma grande possibilidade de que seres humanos estejam expostos a essas nanopartículas através de inalação, adsorção pela derme e digestão (LIU, 2006).

Os efeitos potenciais das nanopartículas na saúde ainda não estão claros. Entretanto, estudos revelaram que esses materiais podem ser absorvidos pela superfície de membranas celulares e possivelmente digeridas e degradadas nas células, provocando efeitos citotóxicos. Nanofios e nanotubos podem se comportar de maneira semelhante à microagulhas, danificando paredes celulares e prejudicando o crescimento de células (LIU, 2006).

O efeito tóxico potencial das nanopartículas nos organismos presentes na natureza ainda é desconhecido. Porém, com a atual prática de descarte de resíduos nanoparticulados, esses materiais fatalmente encontrarão rotas que levam às redes de esgoto e, conseqüentemente, a estações de tratamento de efluentes, atingindo eventualmente ambientes aquáticos dos mais diversos. Portanto, é necessário compreender os riscos potenciais das nanopartículas na saúde humana e em outros

organismos enquanto a utilização desses materiais continuar sendo empregado na medicina e em outros estudos científicos (LIU, 2006).

Em relação à lixiviação, o único estudo envolvendo nanopartículas foi publicado por Misra e Fuerstenau (2005). Os autores demonstraram que a adição de nanopartículas de sílica (SiO_2) promoveu um aumento nos valores de dissolução da calcopirita através de lixiviação química mediante a utilização de agentes oxidantes (FeCl_3 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ e H_2O_2), meio reacional ácido e temperatura moderada.

Como melhor resultado, a dissolução da calcopirita atingiu cerca de 85% após 72h utilizando 40 g.L^{-1} de FeCl_3 como agente oxidante e $17,5 \text{ g.L}^{-1}$ de sílica nanoparticulada quando o experimento foi conduzido a 75°C . Contudo, na ausência de nanopartículas e sob as mesmas condições a dissolução do sulfeto foi de aproximadamente 70%.

Este estudo, publicado em 2005, deu origem a uma patente (THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY AND COMMUNITY COLLEGE SYSTEM OF NEVADA, 2004) na qual os autores declaram que a adição de uma substância lixivante e um composto contendo sílica ou titânio a um sulfeto mineral de cobre resultam em extrações superiores desse metal.

O papel das nanopartículas ainda é desconhecido embora os autores tenham afirmado que pesquisa seria feita na tentativa de elucidar o mecanismo envolvido nesse processo. O fato é que, até o presente momento, nada foi publicado sobre esse assunto.

Com os resultados promissores observados para a lixiviação química da calcopirita após a adição de nanopartículas de sílica, deve ser questionado se a utilização de microorganismos oxidantes de sulfetos minerais, aliada às partículas nanométricas, promoveria a extração de cobre a valores superiores aos já relatados na literatura. Além disso, as interações que ocorrem durante o processo de lixiviação entre as nanopartículas e esse importante sulfeto mineral devem ser mais bem compreendidas.

3 OBJETIVOS

Avaliar o efeito da adição de nanopartículas polares e apolares no crescimento de *A. ferrooxidans* LR bem como determinar a influência do material nanoparticulado estudado na biolixiviação da calcopirita por esse mesmo microorganismo.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Linhagem Bacteriana

Para a realização dos ensaios foi utilizada a linhagem bacteriana *Acidithiobacillus ferrooxidans* LR, isolada de licor de lixiviação estática de minério de urânio proveniente da mina de Lagoa Real-Bahia (GARCIA JUNIOR, 1991). Essa linhagem foi a escolhida porque, dentre todas as linhagens conhecidas dessa bactéria, é a mais estudada.

4.2 Amostra Mineral

Foi utilizada a calcopirita mineral fornecida pela Companhia Vale proveniente da mina de Sossego/PA. O sulfeto de cobre e ferro foi processado em moinho de bolas para uma granulometria 100% inferior a 200 mesh (75 μm). Uma análise do sulfeto utilizado nesse trabalho realizada no CNEN-COLAB (Poços de Caldas, MG) e os resultados apresentaram como impurezas principais, cálcio e silício (Tabela 2).

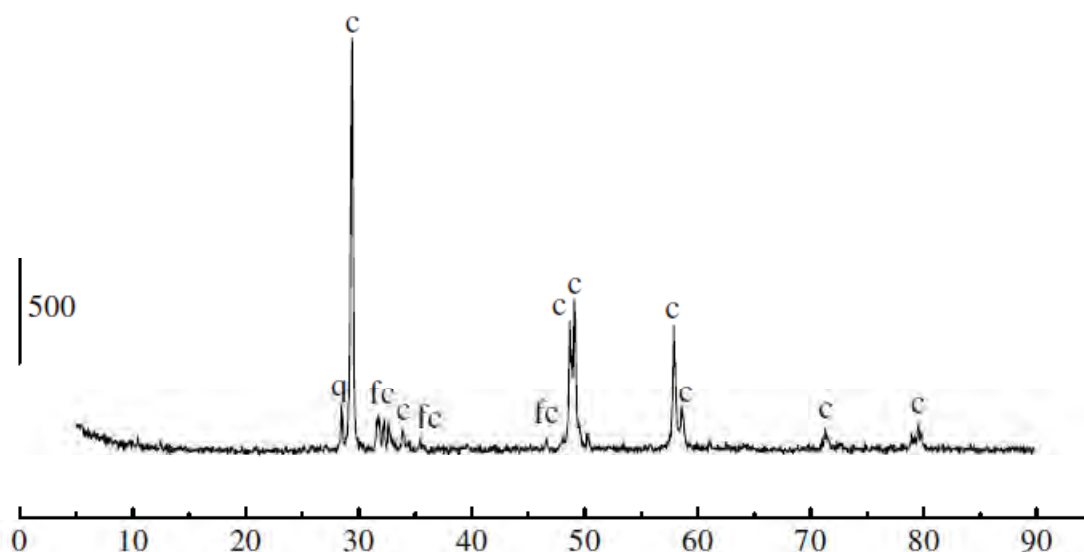
Tabela 2 - Composição química da calcopirita utilizada.

Elemento	Massa (%)	Desvio
Ferro	27,3	0,1
Cobre	23,0	0,2
Enxofre (pirítico)	22,5	0,1
Enxofre (sulfático)	0,390	0,03
Enxofre (total)	22,9	0,1
Silício	3,20	0,2
Cálcio	7,00	0,1

Fonte: HORTA, 2008, p. 46.

Pode ser visto pelo difratograma da Figura 2 que as impurezas mais importantes encontradas na amostra de calcopirita utilizada foram quartzo (SiO_2) e compostos fosfatados de cálcio como $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{S}$, $\text{Ca}_9\text{HPO}_4(\text{PO}_4)_5\text{OH}$ e $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$.

Figura 2 - Difratoograma de raios-X obtido para a calcopirita utilizada. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os símbolos indicam: calcopirita (c), quartzo (q) e compostos fosfatados de cálcio (fc).



Fonte: HORTA, 2008, p. 47

4.3 Meio de Cultivo e Obtenção de Células

Para a manutenção periódica da linhagem bacteriana *A. ferrooxidans* LR, adaptação do microorganismo ao sulfeto mineral, avaliação do efeito das nanopartículas no crescimento microbiano e obtenção de inóculo para os experimentos de biolixiviação, foi utilizado o meio T&K com pequenas modificações (TUOVINEN; KELLY, 1973). A composição e o modo de preparação do referido meio estão descritos a seguir: solução A, contendo os sais minerais, e solução B contendo sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) como fonte energética com pH 1,8 corrigido com H_2SO_4 concentrado.

Solução A:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,5 g
K_2HPO_4	0,5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 g
pH(H_2SO_4 concentrado).....	1,8
água destilada	800 mL

Solução B:

FeSO ₄ ·7H ₂ O.....	33,3 g
pH(H ₂ SO ₄ concentrado).....	1,8
água destilada	200 mL

A solução A foi esterilizada em autoclave (120°C, 20 min), e a solução B por filtração em membrana de acetato de celulose (0,45 µm de diâmetro de poro – Millipore® – HAWP 04700). No momento do uso as soluções A e B são misturadas na proporção de 4:1.

Antes dos experimentos foi realizada a adaptação de *A. ferrooxidans* LR ao sulfeto mineral estudado. Essa climatização consiste em substituir a fonte energética em etapas sucessivas. Partindo de uma alíquota retirada de um inóculo no final da fase log de crescimento, FeSO₄·7H₂O foi substituído pela calcopirita em pequenas quantidades semanalmente. As células apresentaram o mesmo comportamento quanto ao seu crescimento, mesmo após a substituição total da fonte energética, e foram, posteriormente, utilizadas nos ensaios.

4.4 Nanopartículas

Foram utilizados compostos com granulometria inferior a 100 nm e que, portanto, podem ser considerados como nanopartículas. Todos estão descritos a seguir:

Nanopartículas Apolares

1. Sílica com superfície modificada com dimetildiclorosilano CAB-O-SIL® TS-610, área superficial de 125 m²/g, fornecida pela Cabot Corporation®, Billerica, Estados Unidos **(AP)**.

Nanopartículas Polares

2. Dióxido de silício ou sílica (SiO₂) CAB-O-SIL® M5, área superficial de 200 m²/g, fornecida pela Cabot GmbH®, Werk Rheinfelden, Alemanha **(P/M5)**.

3. Sílica CAB-O-SIL[®] H-5, área superficial de 300 m²/g, fornecida pela Cabot GmbH[®], Werk Rheinfelden, Alemanha (P/H-5).

4.5 Ensaios de Oxidação do Íon Ferroso (Fe²⁺)

Esses ensaios tiveram como finalidade avaliar o efeito da adição de nanopartículas no crescimento da linhagem bacteriana a ser utilizada acompanhado pela oxidação de Fe²⁺. Os ensaios foram realizados em meio T&K na ausência e presença das nanopartículas em estudo em diferentes concentrações [0,5%; 1,0%; 2,5% e 5,0% (m/v)]. O volume total da solução nos frascos foi igual a 50 mL com inóculo de 5% (v/v) de células de *A. ferrooxidans* LR. Os frascos foram mantidos sob agitação constante (150 rpm) a 30°C até oxidação total de Fe²⁺. Alíquotas de 1 mL foram retiradas em diferentes intervalos de tempo para posterior titulação com dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) (VOGEL, 1981) com a finalidade de se determinar a concentração de Fe²⁺ remanescente na solução.

A determinação de íon ferroso foi realizada em duplicata segundo procedimento descrito por Vogel (1981), pelo qual alíquotas de 1 mL do sobrenadante foram retiradas para a análise imediata de Fe²⁺ nos intervalos de tempo determinados ou até a oxidação completa de Fe²⁺.

Reagentes

H ₃ PO ₄ :H ₂ SO ₄ (1:1)	2,0 mL
Difenilaminosulfonato de bário (C ₂₄ H ₂₀ NaN ₂ O ₆ S ₂)	0,3% (m/v)
Água Destilada	50 mL
K ₂ Cr ₂ O ₇	Agente Titulante

Procedimento

Foram retiradas alíquotas de 1 mL de amostra de cada um dos frascos. As mesmas foram acidificadas com 2 mL de solução H₃PO₄:H₂SO₄ na proporção de 1:1. Depois, o volume do frasco de titulação foi completado a 50 mL com água destilada e foram adicionadas cinco gotas do indicador difenilaminosulfonato de bário para posterior titulação com K₂Cr₂O₇. A titulação prosseguiu até mudança de coloração da solução (verde clara para lilás).

4.6 Ensaios de Biolixiviação em Frascos Agitados

Foi realizado previamente o crescimento da linhagem bacteriana na presença da calcopirita, como única fonte de energia.

Os ensaios foram efetuados em erlenmeyers de 250 mL contendo a solução “A” do meio T&K e calcopirita em densidade de polpa de 2,5% (m/v). Em cada um dos frascos foi inoculado 5% (v/v) de um meio previamente crescido de *A. ferrooxidans* LR. O volume final em cada um dos frascos foi 150 mL. Para cada uma das condições estudadas houve o respectivo controle abiótico. As condições analisadas estão descritas abaixo:

- a) 150 mL de solução A do meio de cultura T&K e calcopirita 2,5% (m/v) (Condição-controle);
- b) 150 mL de solução A do meio de cultura T&K, calcopirita 2,5% (m/v) e nanopartículas 0,25% (m/v);
- c) 150 mL de solução A do meio de cultura T&K, calcopirita 2,5% (m/v) e nanopartículas 0,5% (m/v);
- d) 150 mL de solução A do meio de cultura T&K, calcopirita 2,5% (m/v) e nanopartículas 1,0% (m/v);
- e) 150 mL de solução A do meio de cultura T&K, calcopirita 2,5% (m/v) e nanopartículas 2,5% (m/v);
- f) 150 mL de solução A do meio de cultura T&K, calcopirita 2,5% (m/v) e nanopartículas 5,0% (m/v);

A condição “f” somente foi utilizada para o ensaio de biolixiviação empregando as nanopartículas polares do tipo M5.

A evaporação de cada frasco foi estimada pela perda de peso e compensada pela adição de água destilada previamente esterilizada. Este controle foi realizado uma vez por semana.

Foram retiradas alíquotas de aproximadamente 5,0 mL das polpas dos frascos semanalmente para separação das fases sólida e líquida por centrifugação a 4000 rpm por 15 minutos (centrífuga Sorvall-RT7-DuPont, rotor RTH-750®) e determinação em duplicata dos valores de pH, Eh, Fe²⁺, Fe³⁺ e Cu²⁺ na fase líquida. As determinações de pH e Eh foram realizadas com um eletrodo combinado de Pt

(contra $\text{Ag}^0/\text{AgCl KCl } 3\text{mol.L}^{-1}$). Fe^{2+} , Fe^{3+} foram determinados conforme descrito por Vogel (1981) e Karamanev (2002) respectivamente. A determinação de Cu^{2+} foi realizada através de espectroscopia de absorção atômica utilizando-se espectrofotômetro Varian Spectra AA 50 equipado com atomizador em chama de ar-acetileno e lâmpada de cátodo oco para análise de cobre.

4.7 Determinação de Íon Férrico (Fe^{3+}) e Ferro Total

Reagentes

Ácido 5-Sulfosalicílico 10% (m/v)	3,0 mL
NH_4OH (m/v) 25%	3,0 mL
Água Destilada	100 mL

Procedimento

Foi realizado o método proposto por Karamanev (2002) que consiste em adicionar 100 μL da amostra e 3,0 mL de ácido 5-sulfosalicílico a um balão volumétrico de 100 mL. Ocorre a formação de um complexo vermelho-escuro com o íon Fe^{3+} cuja concentração foi determinada através de espectrofotometria utilizando comprimento de onda de 500 nm. Posteriormente, foram adicionados a cada balão 3,0 mL de NH_4OH 25% (v/v) para a determinação de ferro total empregando-se espectrofotometria em um λ de 425 nm. O equipamento utilizado foi um espectrofotômetro FEMTO[®] 600S.

4.8 Difractometria de Raios-X (DRX)

O equipamento utilizado para a obtenção dos difratogramas para a determinação da composição dos resíduos obtidos após os ensaios de biolixiviação em frascos agitados foi um difratômetro de raios-X D5000 – Siemens[®] equipado com monocromador no feixe difratado. Para melhor resolução, o ângulo de variação empregado foi igual a 2θ , abertura das fendas e voltagem das linhas de base (inferior e superior), estabelecendo uma corrente de 30 mA e tensão elétrica de 40kV, linha de base inferior 0,520V, linha de base superior 1,620V, tempo de

contagem de 2s, passo 0,05° (2θ), fendas 2/2/0,6 e ângulo de varredura de 4° a 70° (2θ).

O porta-amostra utilizado foi de teflon com diâmetro igual a 47 mm por 3 mm de espessura, apresentando no centro uma cavidade de 15 mm a 20 mm de diâmetro por 1 mm de profundidade, destinado a conter a amostra para a análise.

A presença de compostos fosfatados de cálcio foi verificada em todos os resíduos obtidos após o final de todos os ensaios de biolixiviação. Esses compostos são do tipo $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{S}$, $\text{Ca}_9\text{HPO}_4(\text{PO}_4)_5\text{OH}$ ou $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ como já constatado por Horta (2008). Sendo assim, esses picos de baixa intensidade não foram discutidos nas seções 5.2.1.4, 5.2.2.1.4 e 5.2.2.2.4 que são referentes às análises dos resíduos dos ensaios de biolixiviação com os três tipos de nanopartículas estudadas. Além disso, também deve ser destacado que a calcopirita é o único sulfeto presente na amostra.

Também foi observado para todos os resíduos um pico de baixa intensidade em $2\theta \approx 27$ referente à presença de SiO_2 . Como já salientado na seção 4.2, silício é uma das principais impurezas da amostra utilizada. Por último, deve ser ressaltado que o aparecimento do pico altamente intenso em $2\theta \approx 18$ para todos os difratogramas obtidos foi referente ao porta-amostra utilizado para as análises.

4.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise dos resíduos obtidos após os ensaios de biolixiviação em frascos agitados foi realizada através de microscopia eletrônica de varredura. As amostras foram aplicadas secas sobre um porta-amostras e, em seguida, recobertas com ouro. O equipamento utilizado para a aquisição das imagens foi um JEOL® JSM-T330A com aumento de 500x para os resíduos dos ensaios de biolixiviação empregando as nanopartículas dos tipos M5 e TS-610. Para a análise dos resíduos dos ensaios que utilizaram as nanopartículas polares tipo H-5, o equipamento utilizado foi um TOPCON® SM-300 com aumentos de 500x e 5000x.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Ensaio de Oxidação do Íon Ferroso (Fe^{2+})

Antes de cada ensaio de biolixiviação em frascos agitados, foi realizado um estudo prévio para verificar o efeito de diferentes concentrações de nanopartículas, tanto polares como apolares, no crescimento bacteriano. Esse efeito foi monitorado pela oxidação de íons Fe^{2+} de acordo com o procedimento descrito previamente (seção 4.5).

Deve ser ressaltado que todos os valores obtidos e ilustrados em cada um dos gráficos seguintes são as médias das duplicatas de cada amostra. O erro padrão da média de cada um dos valores obtidos foi calculado, porém esses cálculos não estão demonstrados neste trabalho, pois foram muito pequenos e não podem ser vistos nas escalas utilizadas. Como exemplo, o maior valor calculado para o erro padrão da média (em todos os ensaios de oxidação realizados) obtido não ultrapassou 0,15.

5.1.1 Nanopartículas Apolares (AP)

A Figura 3 mostra a oxidação completa de Fe^{2+} após 96h de ensaio para todos os frascos inoculados. Nenhum dos frascos-controle apresentou valores de oxidação superiores a 10%. Um aumento na concentração de nanopartículas resultou em uma redução na velocidade de oxidação de Fe^{2+} e, conseqüentemente, inibição do crescimento bacteriano, como pode ser visto para a condição de 5%. Por essa razão, essa concentração não foi utilizada no ensaio de biolixiviação em frascos agitados.

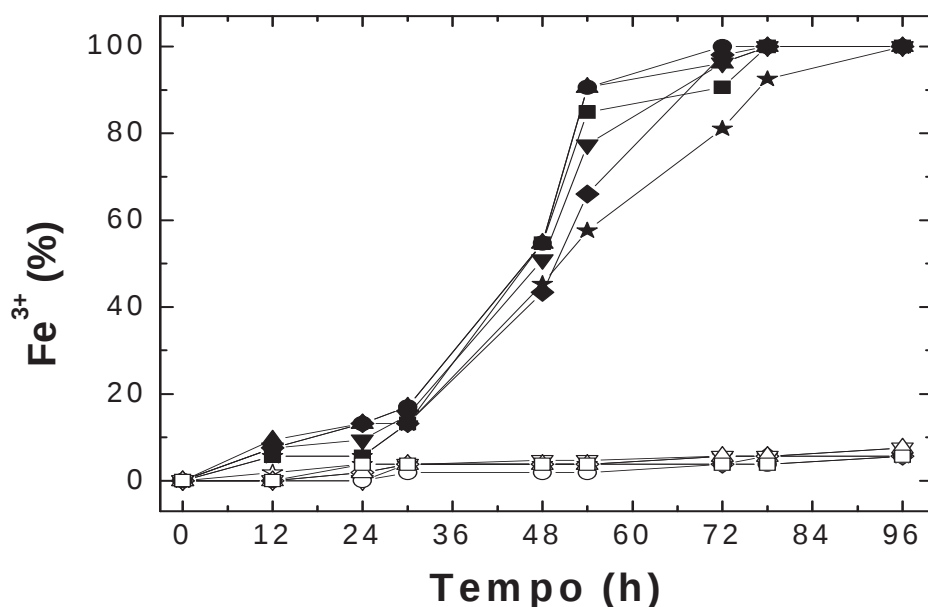
5.1.2 Nanopartículas Polares (P)

5.1.2.1 P/M5

Como demonstrado pela Figura 4, nenhum dos frascos abióticos apresentou valores de oxidação de Fe^{2+} superiores a 5%, após 54 horas de experimento. Quanto aos frascos inoculados, para a concentração de 5,0%, foi observada uma

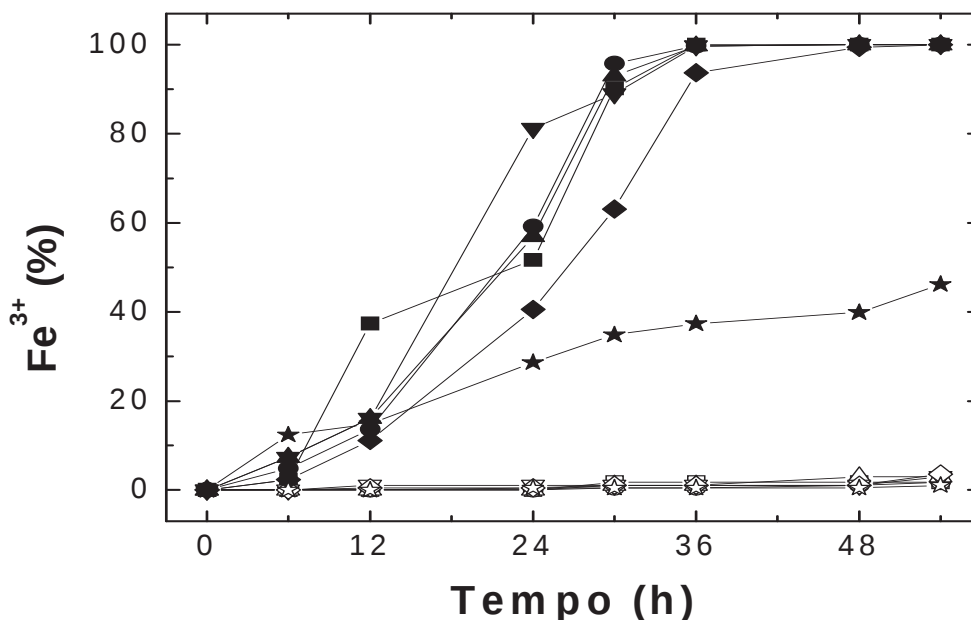
inibição na atividade metabólica de *A. ferrooxidans* LR, pois, mesmo após 54 horas de ensaio, a oxidação de íons ferrosos não ultrapassou 50% sendo que para todas as outras condições testadas, a oxidação foi completa após esse mesmo intervalo de tempo.

Figura 3 - Porcentagem de Fe^{3+} obtida no ensaio de oxidação do íon ferroso por *A. ferrooxidans* LR na presença de diferentes concentrações de nanopartículas apolares de dióxido de silício modificadas com dimetildiclorosilano (porcentagem em m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼); 2,5% (◆) e 5,0% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.



Fonte: Produzido pelo autor.

Figura 4 - Porcentagem de Fe^{3+} obtida no ensaio de oxidação do íon ferroso por *A. ferrooxidans* LR na presença de diferentes concentrações de nanopartículas polares de sílica M5 (porcentagem em m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼); 2,5% (◆) e 5,0% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.

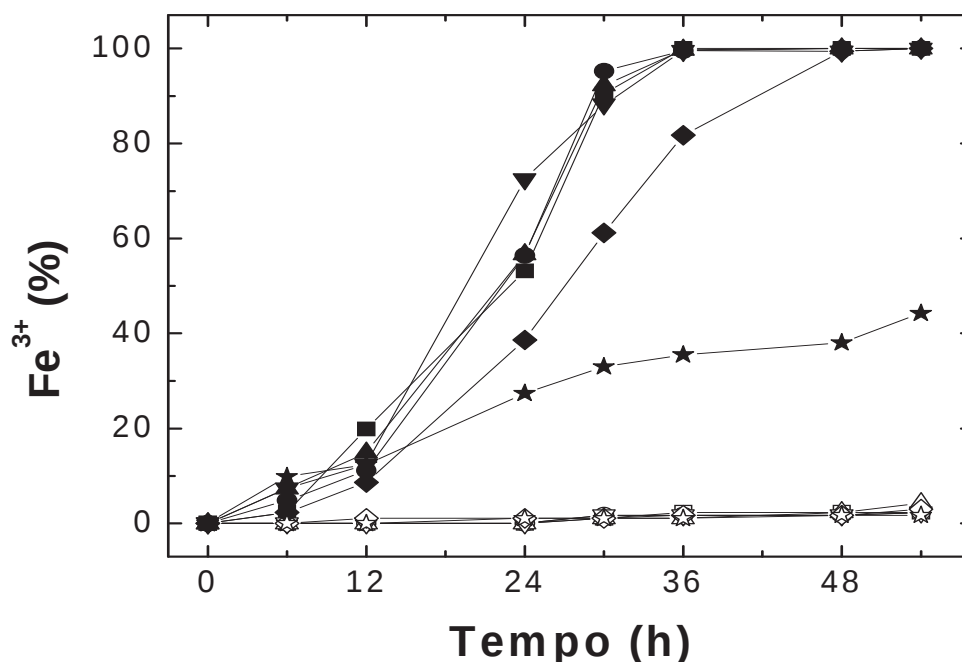


Fonte: Produzido pelo autor.

5.1.2.2 P/H-5

Os resultados obtidos para o ensaio de oxidação de Fe^{2+} (Figura 5) foram muito semelhantes aos observados na Figura 4. Também foi observada uma inibição no crescimento da espécie bacteriana estudada na condição de 5,0% (m/v) de material nanoparticulado, pois não ultrapassou 50% de oxidação mesmo após 54 h de experimento. Após esse intervalo de tempo, todos os outros frascos inoculados apresentaram oxidação de Fe^{2+} muito próxima de 100%. Contudo, todos os frascos abióticos não demonstraram porcentagens de oxidação de íons ferrosos superiores a 5%.

Figura 5 - Porcentagem de Fe^{3+} obtida no ensaio de oxidação do íon ferroso por *A. ferrooxidans* LR na presença de diferentes concentrações de nanopartículas polares de sílica H-5 (porcentagem em m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼); 2,5% (◆) e 5,0% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.



Fonte: Produzido pelo autor.

5.2 Ensaio de Biolixiviação em Frascos Agitados

5.2.1 Nanopartículas Apolares

5.2.1.1 pH

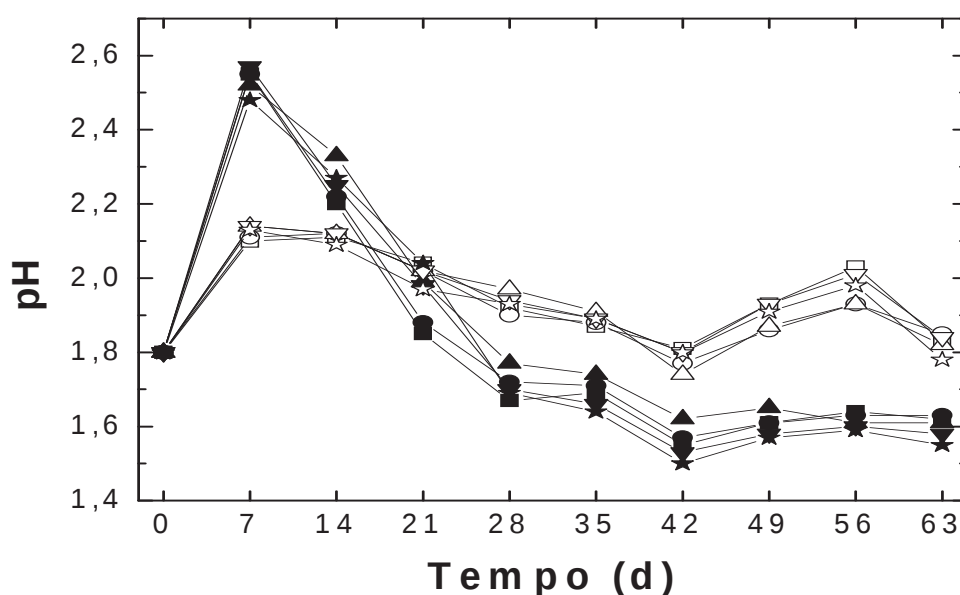
Uma vez que foram definidas as concentrações inibitórias para a atividade bacteriana, os ensaios de biolixiviação em frascos agitados foram realizados considerando-se estes resultados. A elevação ou diminuição dos valores de pH pode indicar respectivamente o consumo de ácido pela amostra mineral e pela bactéria ou a geração do mesmo através das reações bacterianas de oxidação do sulfeto.

Foram necessárias correções semanais do pH para todas as condições nas primeiras semanas de ensaio (7, 14 e 21 dias de ensaio) devido ao consumo de ácido pelo sulfeto estudado (Figura 6). Após 28 dias de ensaio, todos os frascos inoculados apresentaram valores de pH abaixo de 1,80.

Foi observado que a quantidade de material nanoparticulado nos frascos não possuiu grande influência na concentração de íons H^+ em nenhuma das condições testadas.

Os valores ilustrados em todos os gráficos referentes à análise da fase líquida (pH, Eh e Cu^{2+}) são as médias de cada uma das duplicatas. O erro padrão da média calculado para cada um dos pontos não está demonstrado em nenhum dos gráficos, pois foram muito pequenos e não podem ser vistos na escala utilizada. Como exemplo, para os pontos da Figura 6, o erro padrão da média calculado não ultrapassou 0,03 em nenhum dos pontos.

Figura 6 - Variação dos valores de pH no experimento de biolixiviação em frascos agitados utilizando nanopartículas apolares nas seguintes concentrações (m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼) e 2,5% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.



Fonte: Produzido pelo autor.

5.2.1.2 Potencial de Óxido-Redução (Eh)

O potencial de óxido-redução (Eh) de uma solução é a tendência da mesma ser oxidada ou reduzida, isto é, sua capacidade de capturar ou liberar elétrons. Na presença desta bactéria, o potencial da solução é determinado em função do par iônico Fe^{3+} / Fe^{2+} (BEVILAQUA, 2003).

Como esperado para todos os frascos-controle, os potenciais de óxido-redução se mantiveram baixos em relação aos frascos inoculados, não ultrapassando 360 mV.

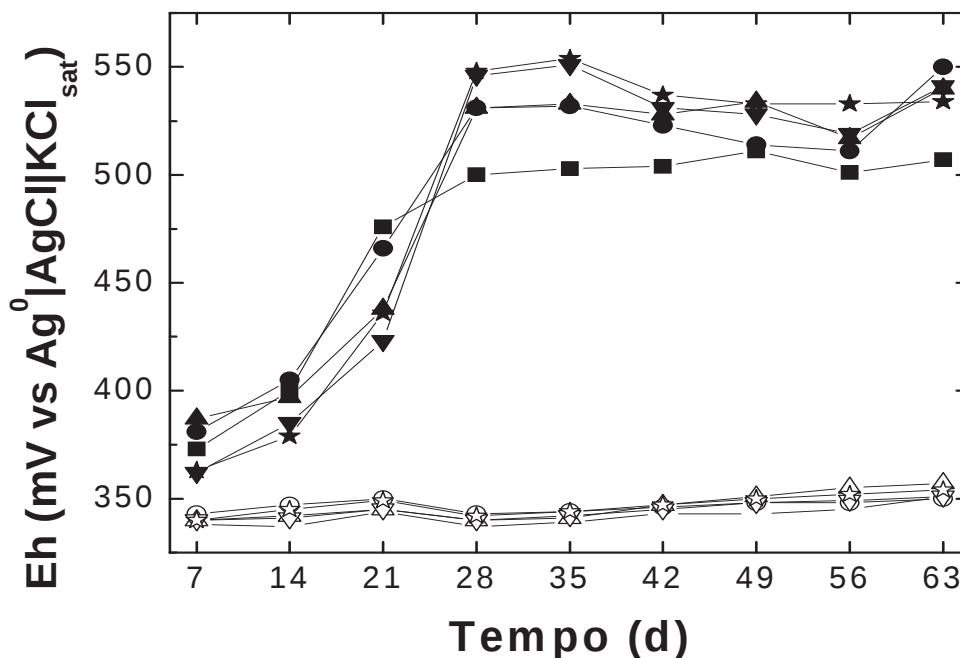
Os valores de Eh se elevaram continuamente com o tempo nos frascos inoculados em todas as condições testadas, e cerca de 28 dias depois, praticamente se estabilizaram até o final do experimento. Conseqüentemente, pode-se afirmar que houve oxidação do íon ferroso em todas as condições inoculadas testadas.

Após 28 dias de ensaio, os frascos que continham nanopartículas apresentaram potenciais de óxido-redução maiores quando comparados ao frasco inoculado na ausência de material nanoparticulado (Figura 7). Esse fato foi observado para o restante do ensaio sendo que, ao seu final (63 dias), os frascos inoculados contendo 0,25%, 0,5% e 1% de nanopartículas atingiram 550 mV, 540 mV e 541 mV respectivamente.

Porém, não pôde ser estabelecida nenhuma relação entre a quantidade de nanopartículas e os potenciais de óxido-redução. Como já destacado anteriormente, todos os frascos que continham material nanoparticulado atingiram valores semelhantes de Eh.

O erro padrão da média foi calculado e não ultrapassou 3 mV em nenhum dos pontos da Figura 7.

Figura 7 - Variação do potencial de óxido-redução (Eh) no experimento de biolixiviação em frascos agitados utilizando nanopartículas apolares nas seguintes concentrações (m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼) e 2,5% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.



Fonte: Produzido pelo autor.

No ensaio de biolixiviação foi utilizada a solução “A” do meio T&K (descrito na seção 4.3) e, portanto, não houve adição suplementar da fonte energética (Fe^{2+}). Dessa maneira, as determinações de Fe^{2+} e Fe^{3+} nesse ensaio apresentaram valores de concentrações muito baixos (em geral, inferiores a 7 mmol L^{-1}), o que é coerente com a baixa solubilização da calcopirita. De qualquer forma, nos frascos inoculados, a presença de Fe^{2+} não foi detectada e a concentração do íon férrico atingiu cerca de 8 mmol L^{-1} . Nos controles abióticos, a presença de Fe^{2+} foi sempre detectada, mesmo em baixas concentrações como salientado, e a de Fe^{3+} não foi observada, confirmando os resultados dos valores de potencial de óxido-redução.

5.2.1.3 Extração de Cobre

Pode-se afirmar que não houve uma influência da adição de nanopartículas apolares na biolixiviação da calcopirita pela espécie estudada (Figura 8), apesar da diferença observada nos valores de Eh (Figura 7). Todos os frascos inoculados apresentaram o mesmo comportamento quanto à extração de cobre,

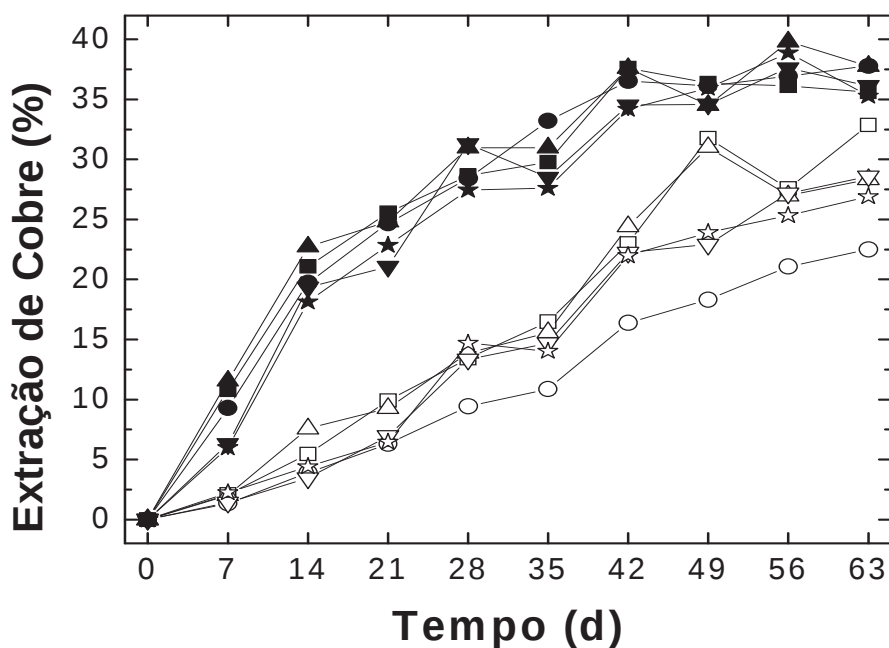
independentemente da quantidade de material nanoparticulado em cada um deles (cerca de 35% de extração). Foi verificada uma estabilização nos valores de cobre extraído após 42 dias de ensaio.

Em relação aos frascos abióticos, todos os frascos que continham nanopartículas não ultrapassaram 30% de extração de cobre após o término do ensaio, apresentando valores de extração inferiores aos obtidos pelo frasco abiótico ausente desse material.

A cinética de solubilização desse metal foi mais lenta em relação aos frascos inoculados, como pode ser visualizado pela inclinação das curvas da Figura 8. Esse fato denota a importância da bactéria estudada na biolixiviação da calcopirita. Também foi verificado que a presença de nanopartículas não resultou em uma extração de cobre superior quando comparada à condição-controle, na ausência desse composto.

O erro padrão da média foi calculado e não ultrapassou 0,4% em nenhum dos pontos da Figura 8.

Figura 8 - Extração de cobre (%) no experimento de biolixiviação em frascos agitados utilizando nanopartículas apolares nas seguintes concentrações (m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼) e 2,5% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.



Fonte: Produzido pelo autor.

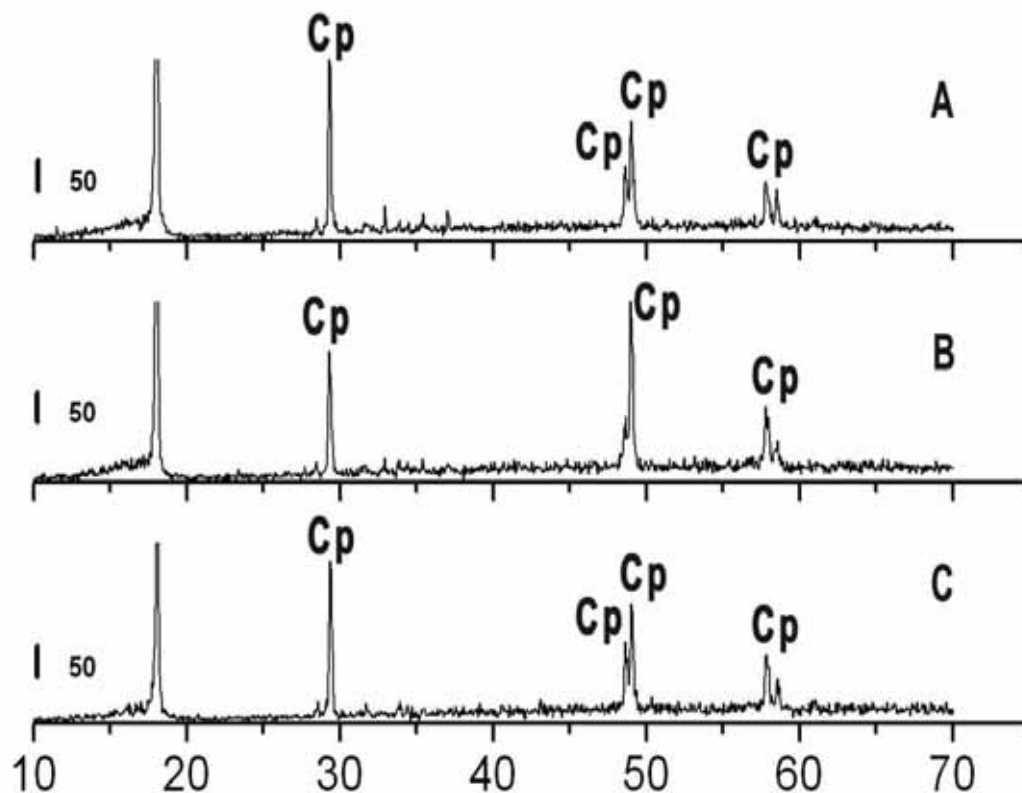
5.2.1.4 Análise por DRX

Com a análise das Figuras 9 e 10, pode ser observado que não houve formação de novas fases cristalinas nos resíduos obtidos após o ensaio de biolixiviação em frascos agitados. A única exceção foi a detecção de magnetita no tratamento abiótico contendo 2,5% de nanopartículas. O pico referente à presença de magnetita no resíduo pode ser visto na Figura 10B.

Na literatura, não foi descrito até o momento a formação deste óxido a partir de calcopirita. Também é possível que esse composto estivesse presente na amostra original, antes dos ensaios. Esta amostra, em especial, foi submetida a uma análise mais refinada com o software TOPAS-Academic 4.1 com o objetivo de nos asseguramos da detecção desta nova fase cristalina. Esses resultados estão demonstrados no Anexo A.

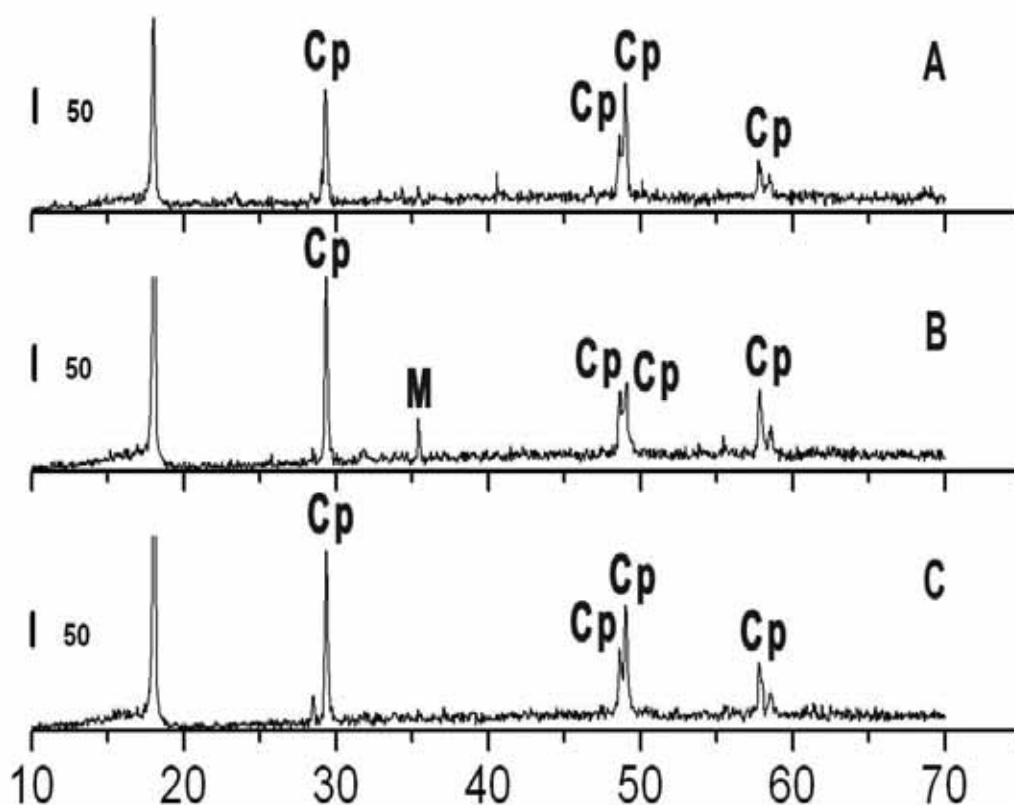
Covelita pode ser formada durante a lixiviação da calcopirita (HOLLIDAY, 1990; BEVILAQUA, 2002), mas não foi detectada em nenhuma das condições analisadas.

Figura 9 - Difratogramas de raios-X para os resíduos obtidos após o ensaio de biolixiviação em frascos agitados: A) frasco abiótico ausente de nanopartículas; B) frasco inoculado ausente de nanopartículas; C) frasco abiótico contendo 0,25% de nanopartículas. A barra lateral indica a intensidade dos picos. Os símbolos sobre os picos indicam calcopirita (Cp).



Fonte: Produzido pelo autor.

Figura 10 - Difratogramas de raios-X para os resíduos obtidos após o ensaio de biolixiviação em frascos agitados: A) frasco inoculado contendo 0,25% de nanopartículas; B) frasco abiótico contendo 2,5% de nanopartículas; C) frasco inoculado contendo 2,5% de nanopartículas. A barra lateral indica a intensidade dos picos. Os símbolos sobre os picos indicam: Cp – calcopirita, M – magnetita.



Fonte: Produzido pelo autor.

5.2.1.5 Análise por MEV

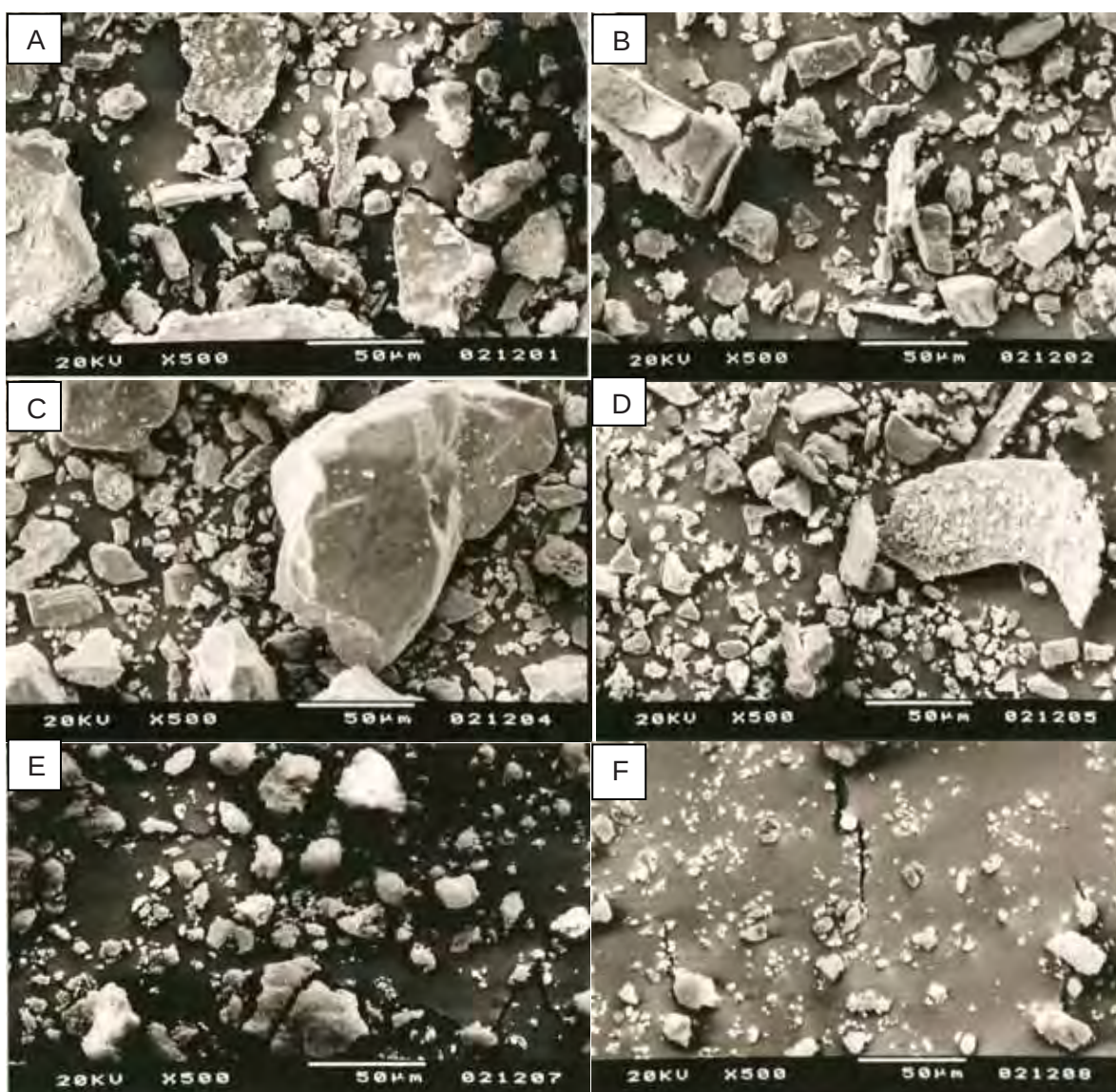
As micrografias obtidas a partir dos resíduos dos frascos, tanto inoculados quanto abióticos, contendo 0,25% e 2,5% de nanopartículas apolares demonstraram uma possível diminuição nas dimensões dos grãos de calcopirita após a adição de partículas nanométricas quando comparadas com as micrografias relativas aos frascos ausentes de nanopartículas (Figura 11).

Isso pode ser explicado por um possível efeito de erosão provocado pelo choque entre as nanopartículas em suspensão e os grãos do sulfeto mineral estudado devido à agitação do sistema. Foi verificado que com o aumento da

quantidade de nanopartículas apolares dispersas em solução houve uma redução dos grãos de calcopirita.

Também foi observado que a presença de bactéria resultou em uma possível diminuição do tamanho dos grãos. Esse fato favoreceu a dissolução de cobre e justifica os maiores valores de extração desse metal para os frascos inoculados.

Figura 11: Micrografias obtidas por MEV para os resíduos do ensaio de biolixiviação em frascos agitados para os seguintes condições: A) 0,0% abiótico; B) 0,0% inoculado; C) 0,25% abiótico; D) 0,25% inoculado; E) 2,5% abiótico; F) 2,5% inoculado.



Fonte: Produzido pelo autor.

5.2.2 Nanopartículas Polares

5.2.2.1 P/M5

5.2.2.1.1 pH

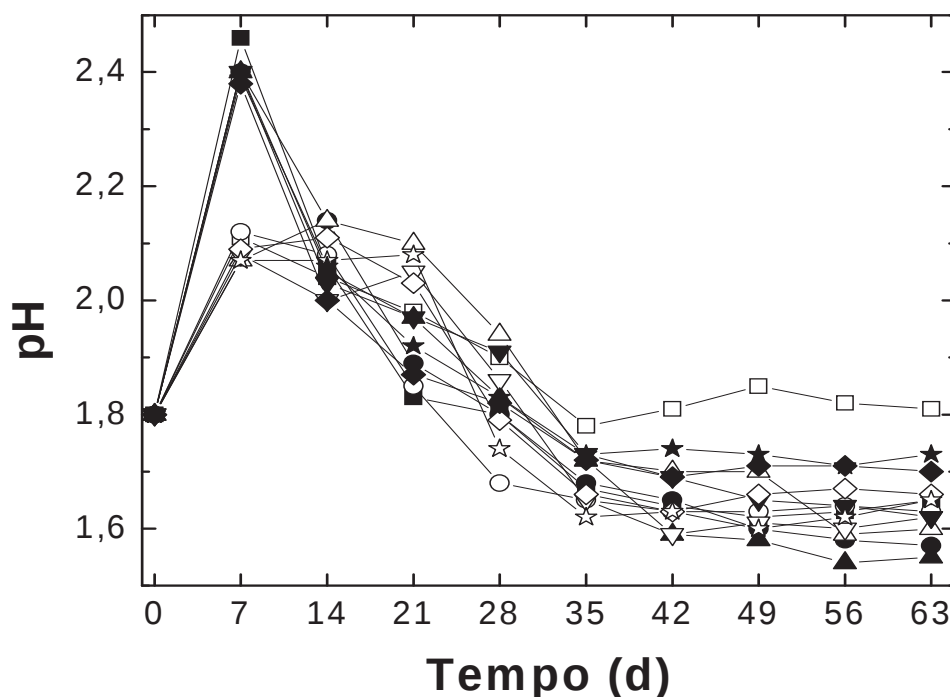
Foi observado na Figura 12 que na primeira semana de ensaio houve um consumo de ácido pelo sulfeto mineral, evidenciado pela elevação dos valores de pH em todas as condições. Esse consumo foi maior nos frascos inoculados. Após esse período, houve uma diminuição nos valores de pH devido à produção de ácido pela bactéria. Após 35 dias de ensaio, todas as condições apresentaram pH inferior a 1,80, exceto o frasco ausente de nanopartículas e de microorganismos.

Para os frascos inoculados deve-se salientar que as condições de 0,25%, 0,5% e 1,0% apresentaram valores de pH inferiores ao frasco ausente de SiO₂ (frasco-controle), após 56 dias de experimento. Todavia, os frascos que continham 2,5% e 5,0% de nanopartículas demonstraram valores de pH superiores ao frasco-controle após 21 dias de ensaio, mantendo essa tendência até o final do experimento.

Quanto aos frascos abióticos, foi observado que todas as condições que sofreram adição de SiO₂ apresentaram valores de pH inferiores ao frasco ausente de partículas nanométricas após 35 dias de ensaio. Essa tendência, não foi observada quando foram empregadas nanopartículas apolares, e pode ser justificada pela desprotonação dos grupos silanóis presentes na superfície das nanopartículas de sílica, liberando íons H⁺ na solução e, conseqüentemente, diminuindo o pH da mesma. Essa desprotonação é provocada pela presença de íons Fe²⁺ que reagem com os íons H⁺ e com O₂ produzindo íons Fe³⁺ e H₂O no processo (Equação 6, seção 2.3).

Assim como foi ressaltado anteriormente na Seção 5.2.1.1, todos os valores ilustrados nos gráficos referentes à análise da fase líquida (pH, Eh e Cu²⁺) são as médias obtidas para cada uma das duplicatas. O erro padrão da média foi calculado para todos os pontos porém os valores foram muito pequenos e não podem ser vistos nas escalas utilizadas. Como exemplo, esses valores não ultrapassaram 0,02 em nenhum dos pontos da Figura 12.

Figura 12 - Variação dos valores de pH no experimento de biolixiviação em frascos agitados utilizando nanopartículas polares de sílica M5 nas seguintes concentrações (m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼); 2,5% (◆) e 5,0% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.



Fonte: Produzido pelo autor.

5.2.2.1.2 Potencial de Óxido-Redução (Eh)

Pode ser afirmado com a análise da Figura 13 que todos os frascos, tanto inoculados quanto abióticos, apresentaram valores de Eh superiores a 480 mV após 49 dias de experimento, exceto o frasco ausente de nanopartículas e microorganismos.

As condições de 0,25%, 0,5% e 1% demonstraram maiores valores de Eh em relação ao frasco ausente de material nanoparticulado após 49 dias. Para o mesmo período, esse mesmo fato não foi observado quando foram utilizadas as concentrações de 2,5% e 5,0%. Os frascos abióticos contendo nanopartículas apresentaram uma constante elevação dos seus potenciais nas primeiras semanas de experimento, alcançando após 63 dias, valores de Eh superiores a 500 mV.

Isso pode estar associado à desprotonação dos grupos silanóis presentes na superfície das nanopartículas. Como já mencionado anteriormente, ocorreu a produção de íons Fe^{3+} a partir da reação de íons Fe^{2+} com íons H^+ o que provocou a

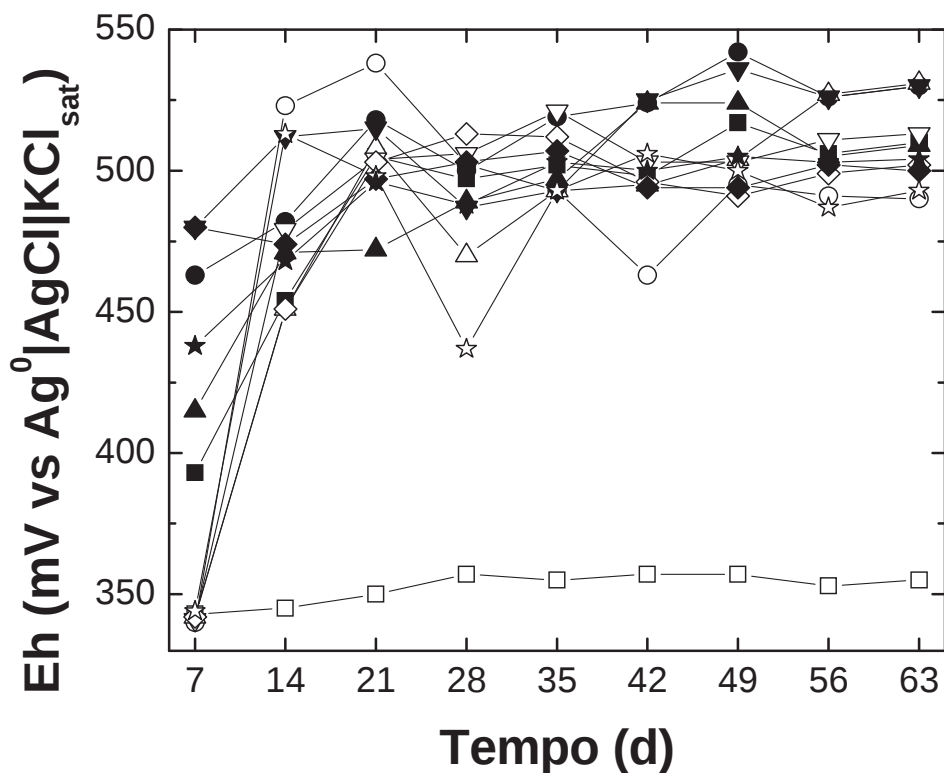
elevação dos valores de Eh em todos os frascos que continham esse material nanoparticulado.

Além disso, uma outra hipótese seria o efeito de uma dupla camada elétrica ao redor de cada uma das partículas nanométricas em suspensão. Com a elevada área superficial característica de partículas dessa dimensão, surgem interações eletrostáticas entre as mesmas e os diversos cátions dissolvidos, provenientes tanto da dissolução do sulfeto mineral quanto dos sais constituintes do meio de cultura. Desta forma o potencial de óxido-redução de tais soluções se elevou. Esse mesmo fato não foi observado no frasco ausente de nanopartículas, cujo Eh não ultrapassou 360 mV em nenhum instante do experimento.

Contudo, um aumento na concentração de material nanoparticulado não resultou em maiores valores de Eh como pode ser visto na Figura 13. A alta quantidade de partículas de mesma carga em solução promoveu uma maior repulsão entre as mesmas, dificultando a adesão de íons as suas superfícies.

O erro padrão da média foi calculado para todos os pontos da Figura 13 e não foi maior do que 4 mV.

Figura 13 - Variação do potencial de óxido-redução (Eh) no experimento de biolixiviação em frascos agitados utilizando nanopartículas de sílica M5 nas seguintes concentrações (m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼); 2,5% (◆) e 5,0% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.



Fonte: Produzido pelo autor.

Assim como foi relatado anteriormente para o ensaio de biolixiviação com as nanopartículas apolares, também não foi possível detectar grandes quantidades de Fe^{2+} e Fe^{3+} no experimento envolvendo as nanopartículas polares de sílica devido à baixa dissolução da calcopirita. As concentrações para ambos os íons em nenhum momento do experimento ultrapassaram 8 mmol L^{-1} .

5.2.2.1.3 Extração de Cobre

Todos os frascos apresentaram valores finais de extração de cobre superiores a 15%, exceção feita ao frasco ausente de nanopartículas e microorganismos (Figura 14). Também pode ser observado o efeito inibitório de altas concentrações de material nanoparticulado na bactéria estudada. As condições de 2,5% e 5,0%

obtiveram as menores extrações dentre todos os frascos inoculados (aproximadamente 23% e 18%, respectivamente).

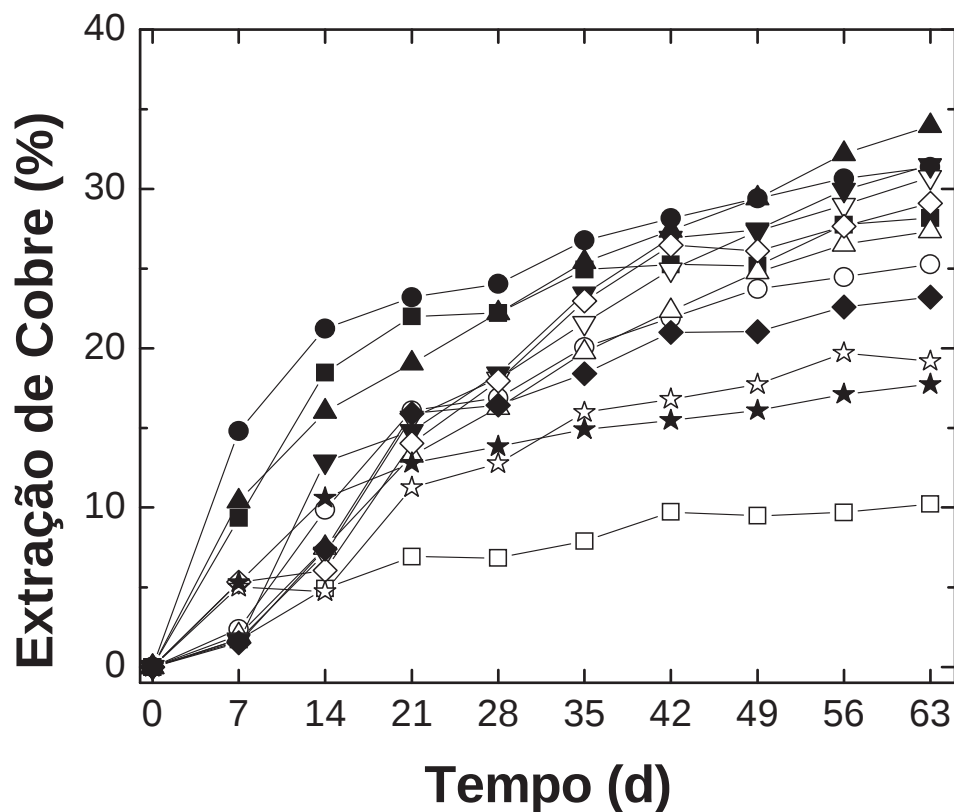
Já os frascos contendo 0,25%, 0,5% e 1,0% apresentaram extrações superiores ao frasco-controle e obtiveram valores entre 30% e 35% após o final do experimento. É importante ser destacada a cinética mais rápida de dissolução da calcopirita demonstrada pela condição de 0,25%. Desde o início do ensaio, esse frasco obteve extrações superiores ao frasco-controle. Como já salientado anteriormente, o possível efeito de uma dupla camada elétrica ao redor de cada uma das nanopartículas polares dispersas em solução acaba aderindo íons às suas superfícies e arrastando outros íons ao seu redor, compreendidos na sua camada difusa. Esse efeito, aliado à alta área superficial destas partículas nanométricas, possivelmente resultou no aumento dos valores de extração de cobre.

Quanto aos frascos abióticos, todos que sofreram a adição de nanopartículas resultaram em extrações superiores ao frasco ausente de sílica e de microorganismos. Um aumento da concentração de material nanoparticulado resultou em um efeito positivo nos valores de extração finais até 1,0% de sílica. Com a adição de quantidades superiores de nanopartículas, foi observado que houve uma diminuição da dissolução de cobre, resultando em valores abaixo de 20% quando foram utilizados 5,0% de partículas nanométricas.

Esse fato é justificado pelas mesmas razões anteriormente mencionadas quando foram discutidos os resultados de Eh: o possível efeito de uma dupla camada elétrica em conjunto com a elevada área de superfície das nanopartículas promoveu a adesão de íons, porém altas concentrações dessas partículas provocaram uma maior repulsão entre as mesmas e, conseqüentemente, dificultaram a adsorção de tais íons.

O erro padrão da média foi calculado para todos os valores ilustrados na Figura 14 e não ultrapassou 0,45%.

Figura 14 - Extração de cobre (em porcentagem) no experimento de biolixiviação em frascos agitados utilizando nanopartículas de sílica M5 nas seguintes concentrações (m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼); 2,5% (◆) e 5,0% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.

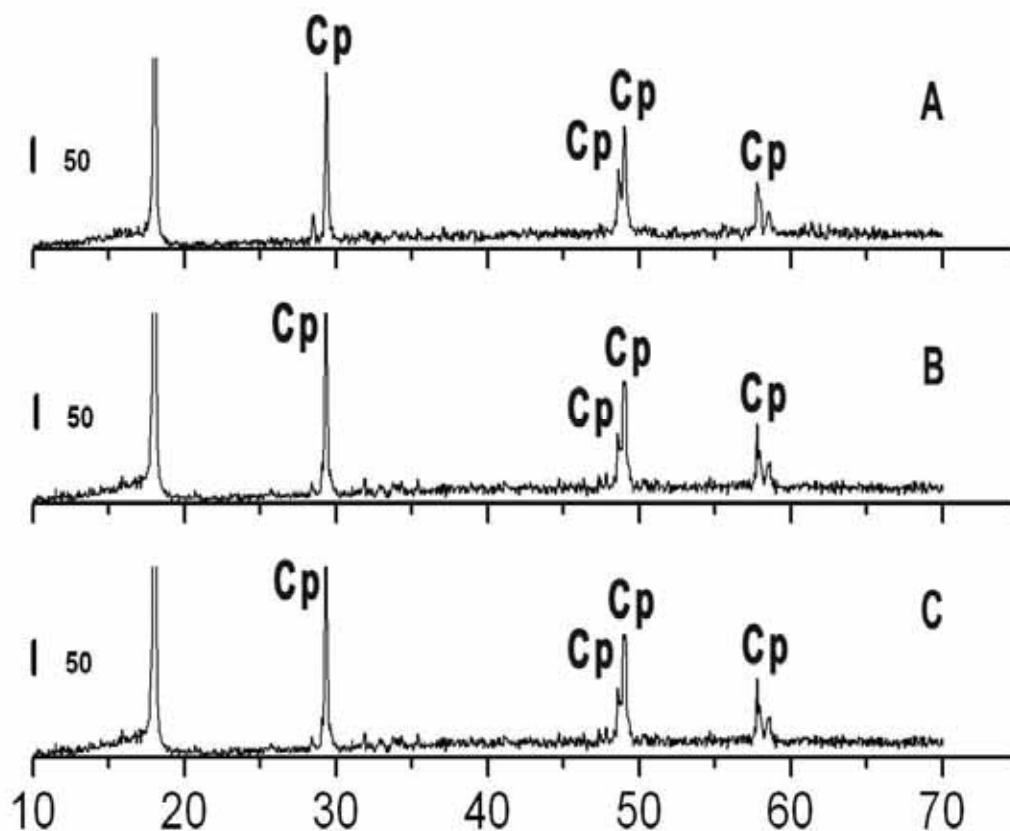


Fonte: Produzido pelo autor.

5.2.2.1.4 Análise por DRX

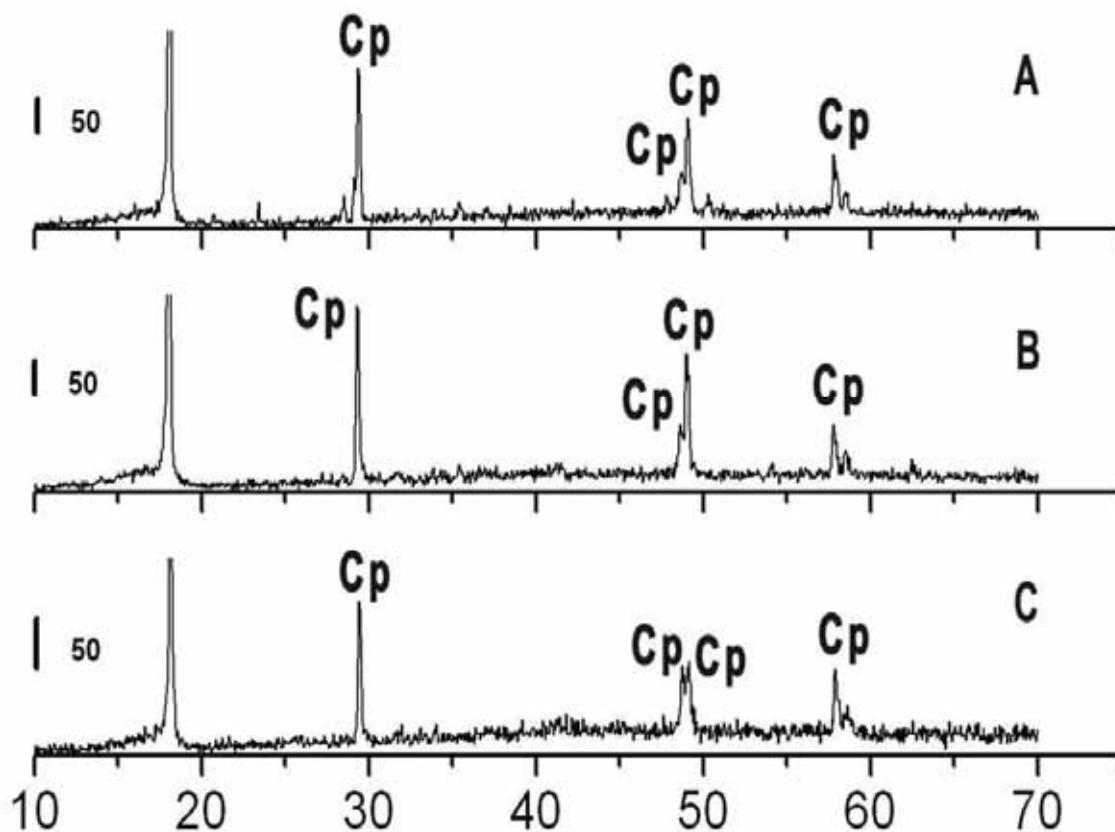
Assim como foi observado nos resultados de difratometria de raios-X para o experimento envolvendo as nanopartículas apolares (Figuras 9 e 10), foi verificado que não houve formação de novas fases cristalinas e nem de precipitados nos resíduos obtidos após o ensaio de biolixiviação em frascos agitados utilizando as nanopartículas polares do tipo M5 (Figuras 15 e 16).

Figura 15 - Difratomogramas de raios-X para os resíduos obtidos após o ensaio de biolixiviação em frascos agitados: A) frasco abiótico ausente de nanopartículas; B) frasco inoculado ausente de nanopartículas; C) frasco abiótico contendo 0,25% de nanopartículas. A barra lateral indica a intensidade dos picos. Os símbolos sobre os picos indicam a presença de calcopirita (Cp).



Fonte: Produzido pelo autor.

Figura 16 - Difratogramas de raios-X para os resíduos obtidos após o ensaio de biolixiviação em frascos agitados: A) frasco inoculado contendo 0,25% de nanopartículas; B) frasco abiótico contendo 5,0% de nanopartículas; C) frasco inoculado contendo 5,0% de nanopartículas. A barra lateral indica a intensidade dos picos. Os símbolos sobre os picos indicam a presença de calcopirita (Cp).



Fonte: Produzido pelo autor.

5.2.2.1.5 Análise por MEV

Com a análise das micrografias obtidas, foi verificada uma possível diminuição do tamanho dos grãos de calcopirita quando foram adicionadas nanopartículas de sílica. Isso reafirma a hipótese de que a agitação do sistema provocou o choque entre as nanopartículas e os grãos do sulfeto mineral estudado, provocando a erosão dos mesmos, o que facilitou a dissolução de cobre. Além disso, a presença de bactérias também contribuiu para a redução das dimensões dos grãos do sulfeto, como pode ser observado pelas Figuras 17B, 17D e 17F.

Porém o aumento da quantidade de nanopartículas dispersas em solução não teve um efeito positivo na diminuição dos grãos. Provavelmente, como um pequeno

aumento na concentração resulta em um número muito maior de partículas nanométricas polares em solução, as forças de repulsão entre elas acabaram reduzindo o número de choques entre as partículas de sílica e o sulfeto mineral.

Também foi observada a adesão das partículas nanométricas de sílica ao sulfeto mineral estudado provocada pela interação eletrostática entre ambos. Ela causou, em altas concentrações, um bloqueio físico impossibilitando a difusão de íons presentes nos grãos de calcopirita e a adesão de microorganismos à superfície do sulfeto o que, conseqüentemente, teve um efeito negativo na extração de cobre.

Figura 17 - Micrografias obtidas por MEV para os resíduos do ensaio de biolixiviação em frascos agitados para os seguintes frascos: a) 0,0% abiótico; b) 0,0% inoculado; c) 0,25% abiótico; d) 0,25% inoculado; e) 5,0% abiótico; f) 5,0% inoculado.



5.2.2.2 P/H-5

5.2.2.2.1 pH

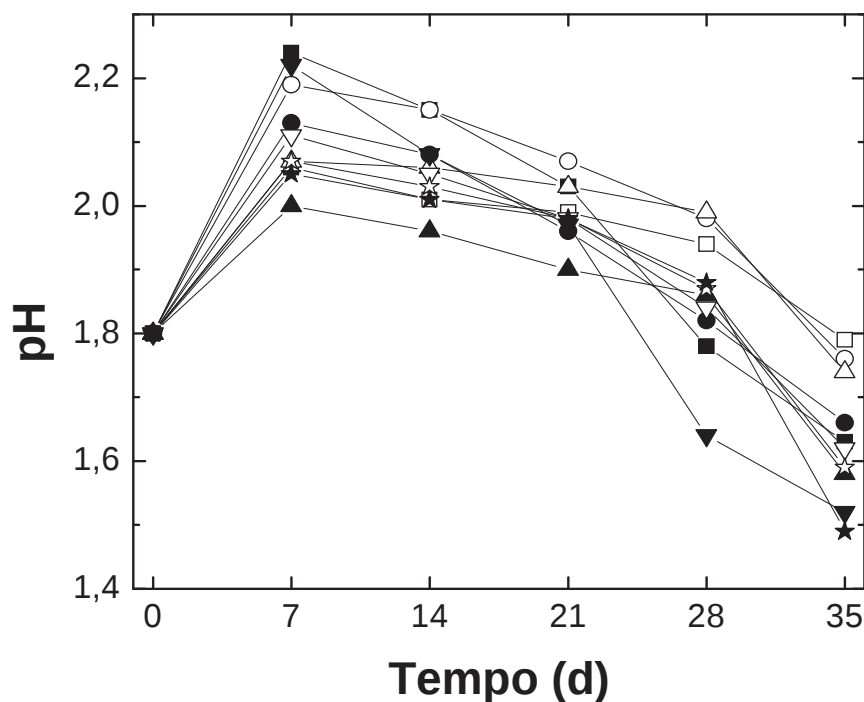
Houve um consumo de ácido em todas as condições testadas nas primeiras semanas de experimento resultando no aumento dos valores de pH (Figura 18). Após esse período, pôde ser observada uma diminuição nesses valores para todos os frascos, sendo que essa tendência foi mais acentuada nas condições inoculadas.

Altas concentrações de nanopartículas (> 0,5% (m/v)) resultaram em uma maior redução nos valores de pH, como pôde ser observado, tanto para os frascos inoculados quanto abióticos. Para os frascos inoculados, esses valores foram de aproximadamente 1,60 após 35 dias de ensaio.

A adição de nanopartículas em concentrações inferiores não apresentou grandes variações em relação às condições ausentes de sílica, resultando em valores muito próximos ao final do experimento.

Como já ressaltado anteriormente, todos os valores ilustrados nos gráficos referentes à análise da fase líquida (pH, Eh e Cu^{2+}) são as médias obtidas para cada uma das duplicatas. O erro padrão da média foi calculado para todos os pontos, porém os valores foram muito pequenos e não podem ser vistos nas escalas utilizadas. Como exemplo, esses valores não ultrapassaram 0,03 em nenhum dos pontos da Figura 18.

Figura 18 - Variação dos valores de pH no experimento de biolixiviação em frascos agitados utilizando nanopartículas polares de sílica H-5 nas seguintes concentrações (m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼) e 2,5% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.



Fonte: Produzido pelo autor.

5.2.2.2.2 Potencial de Óxido-Redução (Eh)

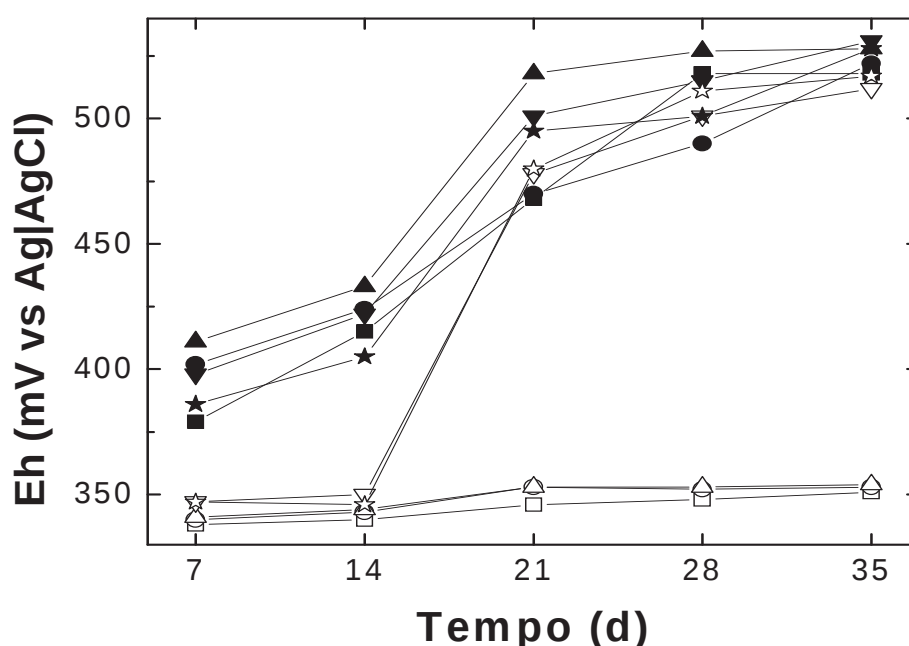
A adição de nanopartículas resultou em uma elevação nos valores de Eh, como pode ser observado pela Figura 19. Assim como observado no ensaio de biolixiviação empregando sílica do tipo M5 (seção 4.2.2.1.2), todos os controles abióticos que sofreram a adição de altas concentrações (> 1,0%) de material nanoparticulado apresentaram uma elevação constante dos seus potenciais de óxido-redução até o final do experimento.

Como já ressaltado anteriormente, essa elevação decorreu provavelmente da formação de uma dupla camada elétrica ao redor de cada uma das nanopartículas em solução. A interação eletrostática entre as mesmas e os diversos íons presentes (provenientes do sulfeto mineral e do meio de cultura T&K) resultou em maiores valores de Eh. Assim, tanto os frascos abióticos com altas quantidades de sílica H-5

quanto os frascos inoculados que continham nanopartículas apresentaram potenciais de óxido-redução superiores aos frascos ausentes de sílica.

O erro padrão da média foi calculado para todos os pontos ilustrados na Figura 19 e não foi superior a 3 mV.

Figura 19 - Variação do potencial de óxido-redução no experimento de biolixiviação em frascos agitados utilizando nanopartículas de sílica H-5 nas seguintes concentrações (m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼) e 2,5% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.



Fonte: Produzido pelo autor.

5.2.2.2.3 Extração de Cobre

A análise da Figura 20 permitiu afirmar que a adição de nanopartículas polares promoveu a extração de cobre a partir da calcopirita. Esse fato foi observado em todas as condições testadas, pois, todos os frascos que continham sílica, apresentaram valores de dissolução de cobre superiores às condições ausentes de material nanoparticulado.

Também deve ser destacado o aumento na cinética de dissolução da calcopirita na presença de 0,25%, 0,5% e 1,0% de nanopartículas. Todas essas concentrações, aliadas à bactéria estudada, resultaram em valores superiores de

extração de cobre em relação aos frascos sem adição de sílica. Esse fato havia sido observado somente para a concentração de 0,25% no ensaio de biolixiviação com as nanopartículas do tipo M5.

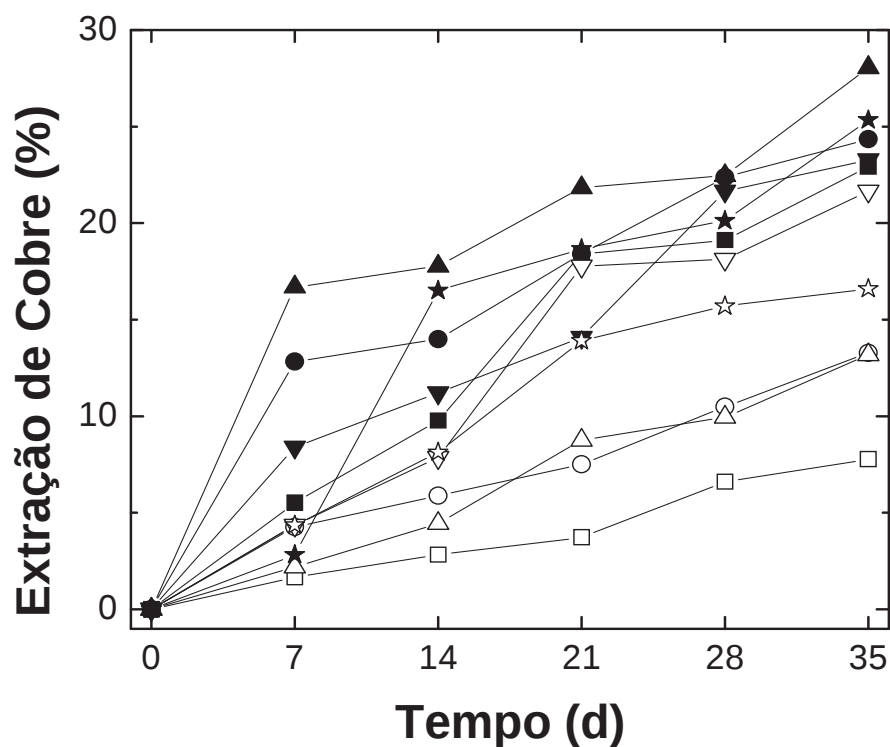
Uma possível explicação para essa observação é baseada nas menores dimensões das nanopartículas do tipo H-5 em relação ao tipo M5. Como a sílica H-5 possui uma relação área superficial por grama de nanopartículas superior à da sílica M5 (300 m²/g e 200 m²/g, respectivamente) um maior número de partículas está disperso.

Esse fato resultou em um maior número de choques com os grãos de calcopirita, devido à agitação do sistema, e, conseqüentemente, diminuiu as dimensões dos mesmos, aumentou a área superficial disponível para a adesão bacteriana ao minério e liberou uma maior quantidade de íons, incluindo íons Cu²⁺, para a solução. Além disso, houve um maior número de íons atraídos eletrostaticamente por nanopartícula devido à maior área superficial das nanopartículas H-5. Assim, uma maior quantidade de cobre pôde ser extraída, provocando o aumento na cinética nas primeiras semanas de experimento.

Porém, como já salientado para o ensaio de biolixiviação empregando sílica do tipo M5, concentrações muito altas de nanopartículas acabaram provocando um aumento da repulsão entre as partículas em solução. Assim, os valores de cobre extraído quando houve a adição de 2,5% (m/v) de material nanoparticulado, tanto para o frasco abiótico quanto para o inoculado, foram inferiores aos obtidos para as condições que continham 1,0% de sílica.

O erro padrão da média foi calculado para todos os valores ilustrados na Figura 20 e não foi maior do que 0,3%.

Figura 20 - Extração de cobre (em porcentagem) no experimento de biolixiviação em frascos agitados utilizando nanopartículas polares de sílica H-5 nas seguintes concentrações (m/v): 0,0% (■); 0,25% (●); 0,5% (▲); 1,0% (▼) e 2,5% (★). Os frascos-controle são representados por símbolos sem preenchimento.

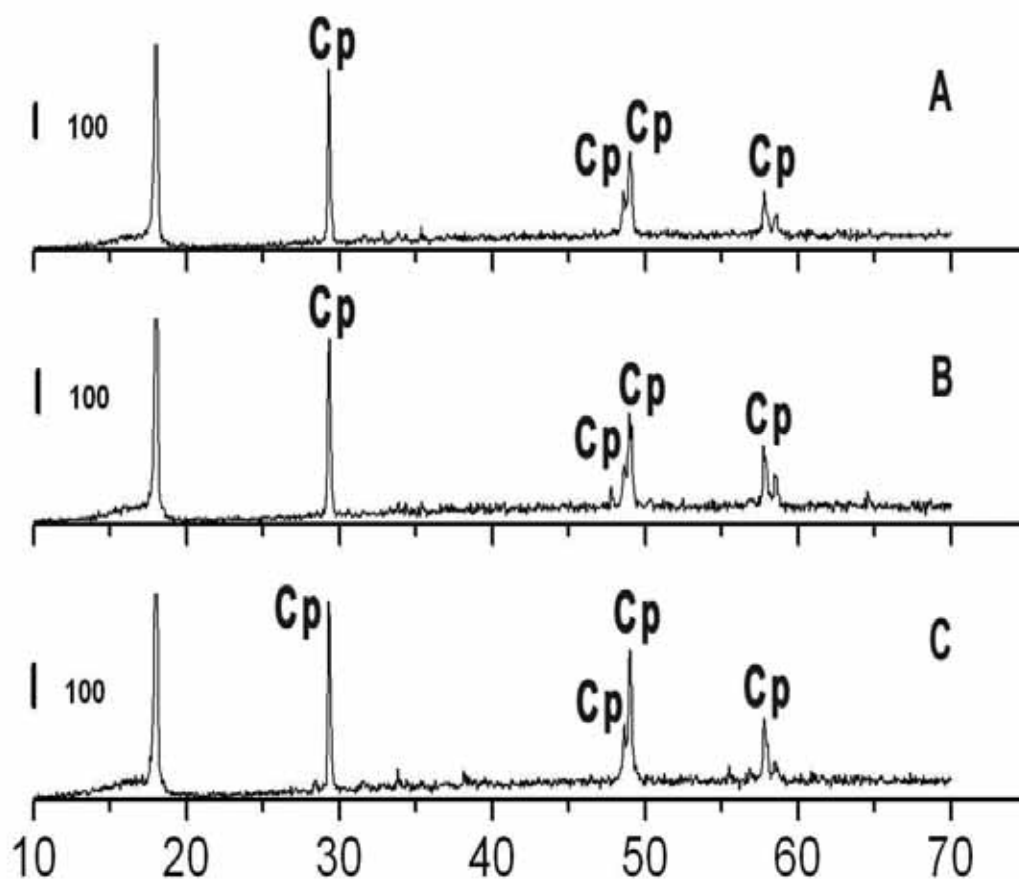


Fonte: Produzido pelo autor.

5.2.2.2.4 Análise por DRX

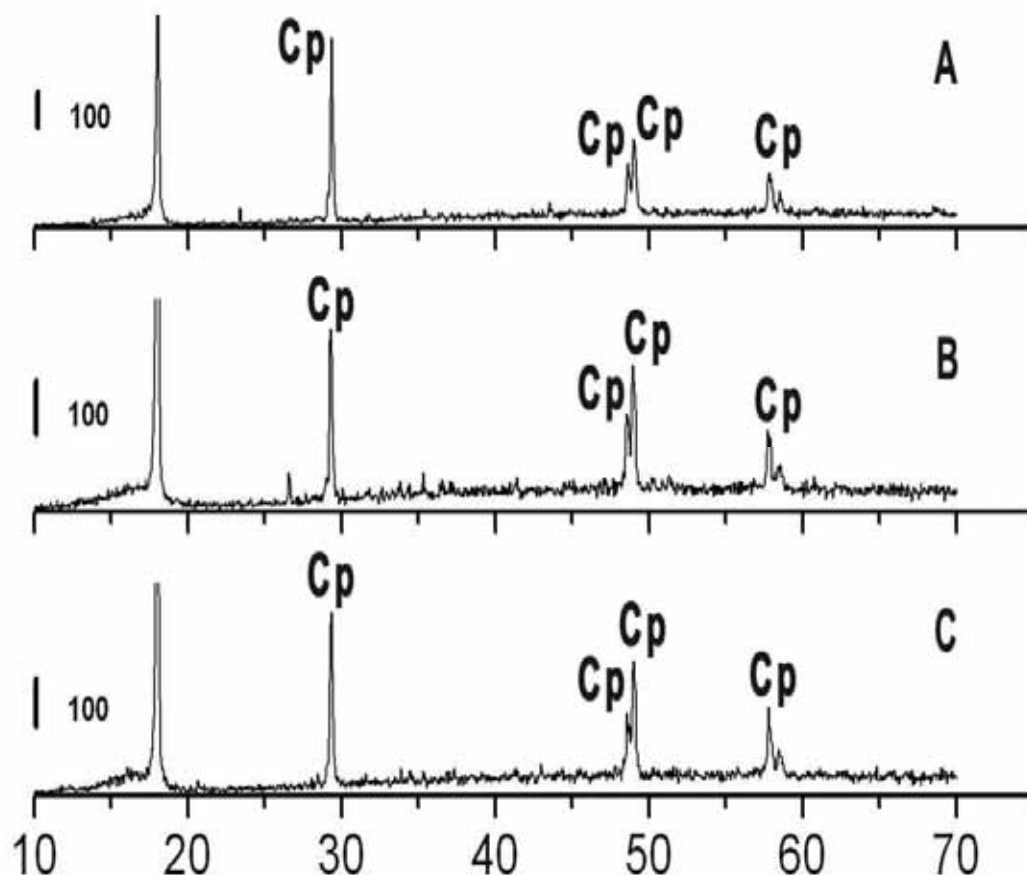
Assim como já observado para os resíduos dos ensaios de biolixiviação utilizando, tanto nanopartículas apolares (Figuras 9 e 10) quanto a sílica M5 (Figuras 15 e 16), não houve formação de novas fases cristalinas nem de precipitados nos resíduos obtidos após o ensaio de biolixiviação em frascos agitados empregando nanopartículas polares do tipo H-5 (Figuras 21 e 22).

Figura 21 - Difratomogramas de raios-X para os resíduos obtidos após o ensaio de biolixiviação em frascos agitados: A) frasco abiótico ausente de nanopartículas; B) frasco inoculado ausente de nanopartículas; C) frasco abiótico contendo 0,5% de nanopartículas. A barra lateral indica a intensidade dos picos. Os símbolos sobre os picos indicam a presença de calcopirita (Cp).



Fonte: Produzido pelo autor.

Figura 22 - Difratomogramas de raios-X para os resíduos obtidos após o ensaio de biolixiviação em frascos agitados: A) frasco inoculado contendo 0,5% de nanopartículas; B) frasco abiótico contendo 1,0% de nanopartículas; C) frasco inoculado contendo 1,0% de nanopartículas. A barra lateral indica a intensidade dos picos. Os símbolos sobre os picos indicam a presença de calcopirita (Cp).



Fonte: Produzido pelo autor.

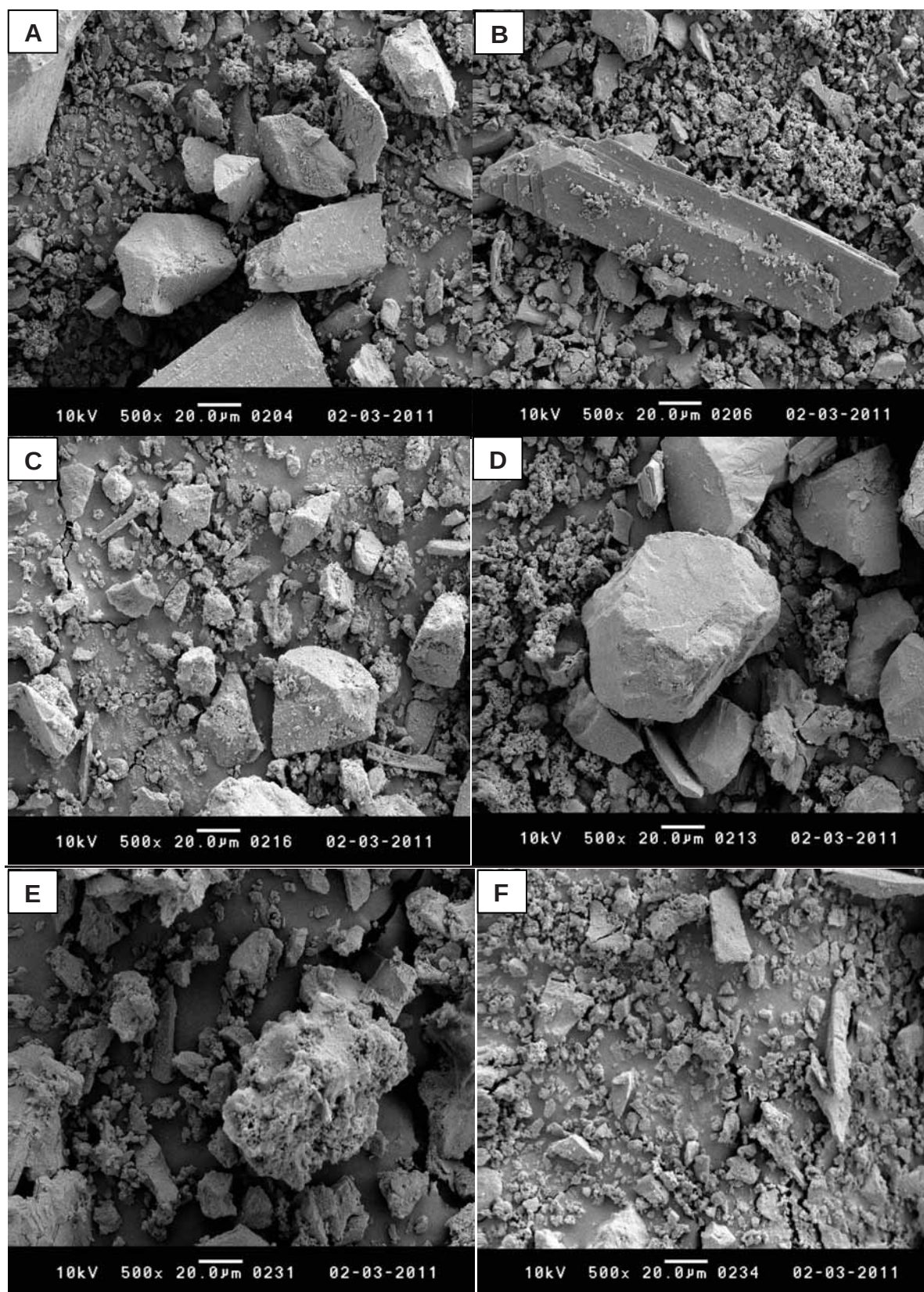
5.2.2.2.5 Análise por MEV

A Figura 23 demonstra a alteração nas dimensões dos grãos de calcopirita frente a baixas e altas concentrações de nanopartículas do tipo H-5. Como pode ser observado pela Figura 23C, a adição de nanopartículas promoveu uma possível diminuição dos grãos do sulfeto estudado. Aliada à presença de bactéria, essa redução foi ainda mais evidenciada (Figura 23D). Contudo, quando foram adicionados 2,5% de sílica (Figuras 23E e 23F), essa tendência não foi observada. Como já ressaltado anteriormente, a presença de altas quantidades de

nanopartículas em dispersão aumentou as forças de repulsão entre as mesmas e, portanto, diminuiu o número de choques contra os grãos da calcopirita.

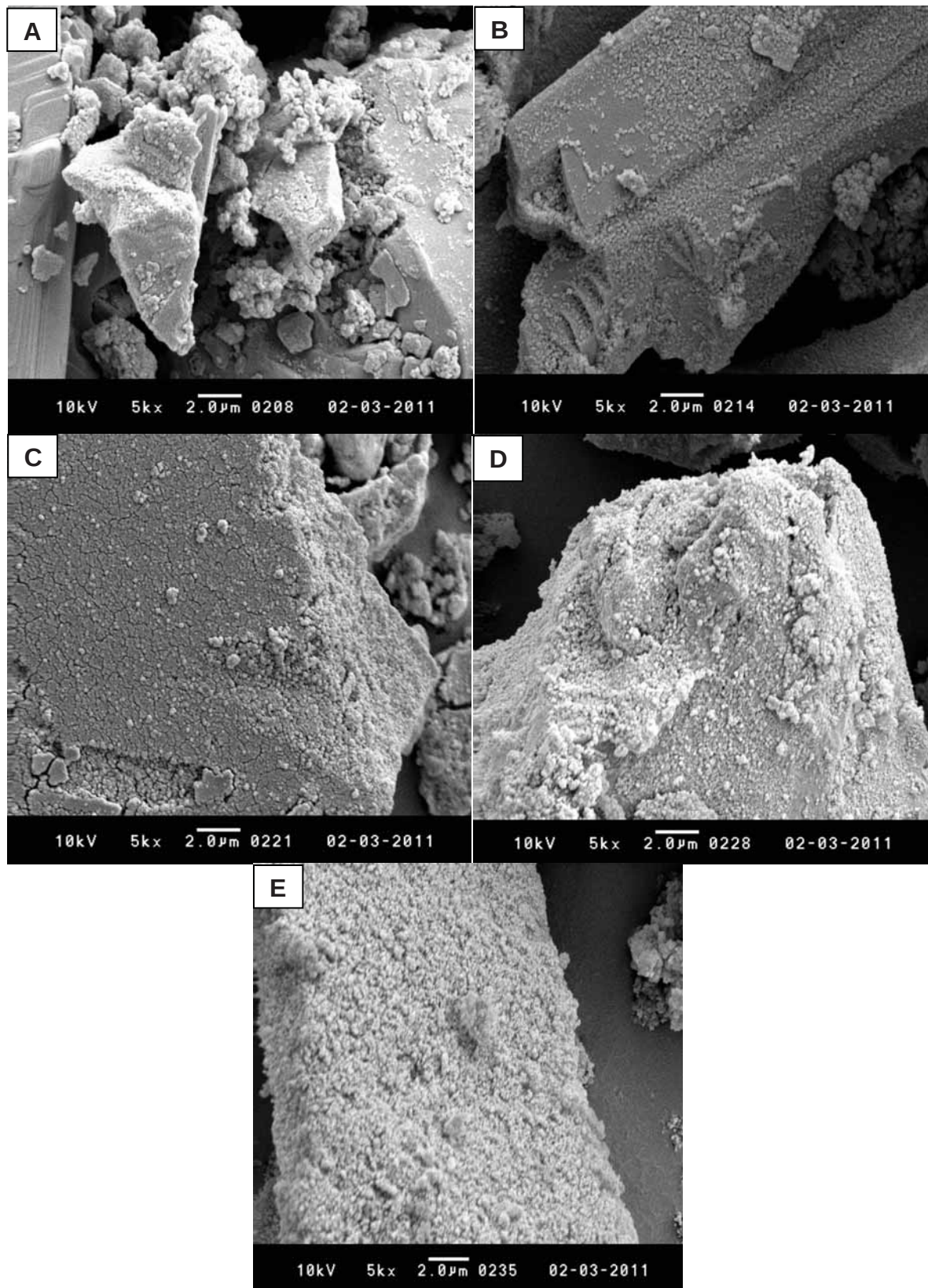
Pela Figura 24 pode ser observada a possível adesão das nanopartículas polares de sílica à superfície do sulfeto. Além disso, foi verificado o possível aumento da camada de material nanoparticulado sobre os grãos do minério com o aumento da concentração de sílica. A formação dessa camada prejudicou a difusão de íons presentes na calcopirita para a solução e a adesão bacteriana à superfície do sulfeto justificando a interrupção na tendência de aumento nas extrações de cobre com o aumento da concentração de nanopartículas (Figura 20).

Figura 23 - Micrografias obtidas por MEV para os resíduos do ensaio de biolixiviação em frascos agitados para os seguintes frascos: A) 0,0% abiótico; B) 0,0% inoculado; C) 0,25% abiótico; D) 0,25% inoculado; E) 2,5% abiótico; F) 2,5% inoculado.



Fonte: Produzido pelo autor.

Figura 24 - Micrografias obtidas por MEV para os resíduos do ensaio de biolixiviação em frascos agitados para frascos inoculados contendo as seguintes concentrações de sílica H-5: A) 0,0%; B) 0,25%; C) 0,5%; D) 1,0%; E) 2,5%.



Fonte: Produzido pelo autor.

6 CONCLUSÕES

Os ensaios de oxidação de íons ferrosos e de biolixiviação em frascos agitados empregando nanopartículas polares e apolares, mostraram que altas concentrações (> 2,5%) desses compostos provocaram inibição no crescimento de *A. ferrooxidans* LR.

A adição de nanopartículas apolares de sílica com superfície modificada por dimetildiclorosilano causaram pequena redução no pH reacional. Contudo, não houve efeito considerável no potencial de óxido-redução nem na extração de cobre de tais soluções. Quando bactérias não estão presentes, a dissolução desse metal apresentou resultados inferiores.

Houve diminuição no pH do meio reacional quando foram empregadas nanopartículas polares de sílica devido à desprotonação dos grupos silanóis presentes nas suas superfícies. Além disso, houve elevação no potencial de óxido-redução devido ao possível efeito de uma dupla camada elétrica ao redor de cada uma das partículas nanométricas dispersas em solução. Esse efeito, aliado à alta área superficial de tais partículas e à presença de bactérias, resultou em maiores extrações de cobre quando comparado às condições ausentes de nanopartículas.

Para ambos os tipos de nanopartículas (polares e apolares) ocorreu um efeito erosivo no sulfeto mineral devido à agitação do sistema e, nos frascos inoculados, também devido à presença de bactérias, causando a diminuição nas dimensões dos grãos de calcopirita. Entretanto, altas concentrações de nanopartículas aumentaram tanto as forças de repulsão entre as mesmas, quanto a camada de material nanoparticulado aderido sobre a superfície dos grãos de sulfeto, resultando em um efeito negativo na dissolução de cobre.

De um modo geral, não houve a formação de novas fases cristalinas nos resíduos obtidos após os ensaios de biolixiviação em frascos agitados com os três tipos de nanopartículas estudadas. A presença de magnetita foi verificada em apenas uma das condições testadas. Esse composto não foi observado em nenhum trabalho relacionado à biolixiviação da calcopirita até o momento. Porém, estudos adicionais devem ser realizados para que se compreenda a natureza desse fenômeno.

Por último, pode-se concluir que uma possível diminuição no tamanho das nanopartículas resultou em um aumento da cinética de extração devido ao maior

número de partículas dispersas, provocando um aumento do número de choques com os grãos de calcopirita. Isso aumentou a área de adesão disponível para as bactérias sobre a superfície do minério. Com o aumento da área superficial das nanopartículas, houve uma maior quantidade de íons atraídos eletrostaticamente, o que levou a valores de extração de cobre superiores nas primeiras semanas.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos neste trabalho permitem questionar o efeito de diferentes nanopartículas polares na biolixiviação da calcopirita. Compostos como SnO_2 e TiO_2 podem ser facilmente sintetizados em laboratório e aplicados em experimentos semelhantes aos descritos neste estudo.

Outra possibilidade é a alteração da velocidade de agitação do sistema. Uma vez que foi verificado um efeito erosivo provocado pelo choque das nanopartículas dispersas em solução com os grãos do sulfeto mineral, uma velocidade maior de agitação desse sistema pode afetar os valores de extração de cobre.

Além disso, a utilização de nanopartículas de dimensões diferentes uma vez que a formação de uma dupla camada elétrica auxilia na difusão de íons presentes no sulfeto e no meio reacional. Compostos com tamanho inferior resultam em um aumento exponencial da área superficial disponível para a interação eletrostática com íons dispersos em solução.

Por último, diversos compostos estudados pelo grupo de pesquisa podem potencializar os efeitos observados para as nanopartículas. Dentre eles, íons cloreto, amplamente descritos na literatura como responsáveis por elevar as taxas de dissolução da calcopirita, com o efeito observado pelas nanopartículas polares e ação bacteriana podem possivelmente resultar em valores superiores de extração de cobre.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, F. Present and future of bioleaching in developing countries. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 196-199, 2002.
- AITKEN, R. J.; CREELY, K. S.; TRAN, C. L. **Nanoparticles**: an occupational hygiene review. Sudbury: HSE Books, 2004. p. 41-44.
- ANTONIJEVIC, M. M.; JANKOVIC, Z.; DIMITRIJEVIC, M. Investigations of the kinetics of chalcopirite oxidation by potassium dichromate. **Hydrometallurgy**, v. 35, p. 187-201, 1994.
- BALAZ, P.; KUPKA, D.; BASTL, Z.; ACHIMOVICOVA, M. Combined chemical and bacterial leaching of ultra fine ground chalcopirite. **Hydrometallurgy**, v. 42, p. 237-244, 1996.
- BEVILAQUA, D. **Estudo da interação de *Acidithiobacillus ferrooxidans* com calcopirita (CuFeS_2) e bornita (CuFeS_4)**. 2003. 99 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.
- BEVILAQUA, D.; LEITE, A. L. L. C.; GARCIA JUNIOR, O.; TUOVINEN, O. H. Oxidation of chalcopirite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 587-592, 2002.
- BRIERLEY, J. A.; BRIERLEY, C. L. Present and future commercial applications of biohydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 233-239, 2001.
- COLMER, A. R.; TEMPLE, K. L.; HINKLE, H. E. An iron-oxidizing bacterium from the acid drainage of some bituminous coal mines. **Journal of Bacteriology**, v. 59, p. 317-328, 1950.
- CÓRDOBA, E. M.; MUÑOZ, J. A.; BLÁZQUEZ, M. L.; GONZÁLEZ, F.; BALLESTER, A. Leaching of chalcopirite with ferric ion. Part 1: general aspects. **Hydrometallurgy**, v. 93, p. 81-87, 2008.
- CRUNDWELL, F. K. How do bacteria interact with minerals? **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 75-81, 2003.
- EHRLICH, H. L. Past, present and future of biohydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 127-134, 2001.
- GARCIA JUNIOR, O. Isolation and purification of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans* from some coal and uranium mines of Brazil. **Revista de Microbiologia**, v. 20, p. 1-6, 1991.
- GARCIA JUNIOR, O.; URENHA, L. C. Lixiviação bacteriana de minérios. In: LIMA, U. A. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Edgar Blücher, 2001. p. 485-512.

HACKL, R. P.; DREISINGER, D. B.; PETERS, E.; KING, J. A. Passivation of chalcopyrite during oxidative leaching in sulfate media. **Hydrometallurgy**, v. 39, p. 25-48, 1995.

HOLLIDAY, R. L.; RICHMOND, W. R. An electrochemical study of the oxidation of chalcopyrite in acidic solution. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 288, p. 83-98, 1990.

HOLT, J. G. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p. 436.

HOQUE, M. E.; PHILIP, J. O. Biotechnological recovery of heavy metals from secondary sources – an overview. **Materials Science and Engineering: C**, v. 31, p. 57-66, 2011.

HORTA, D. G. **Influência da adição da espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans* e de íons Cl^- na dissolução da calcopirita (CuFeS_2)**. 2008. 100 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

JOHNSON, D. B.; OKIBE, N.; WAKEMAN, K.; YAJIE, L. Effect of temperature on the bioleaching of chalcopyrite concentrates containing different concentrations of silver. **Hydrometallurgy**, v. 94, p. 42-47, 2008.

KARAMANEV, D. G.; NIKOLOV, L. N.; MAMATARKOVA, V. Rapid simultaneous quantitative determination of ferric and ferrous ions in drainage waters and similar solutions. **Minerals Engineering**, v. 15, p. 341-346, 2002.

KELLY, D. P.; WOOD, A. P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov. *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 511-515, 2000.

LIU, W. T. Nanoparticles and their biological and environmental applications. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 102, n. 1, p. 1-7, 2006.

MISRA, M.; FUERSTENAU, M. C. Chalcopyrite leaching at moderate temperature and ambient pressure in the presence of nanosize silica. **Minerals Engineering**, v. 18, p. 293-297, 2005.

MORIN, D. H. R. Bioleaching of sulfide minerals in continuous stirred tanks. In: DONATI, E. R.; SAND, W. (Ed.). **Microbial processing of metal sulfides**. Dordrecht: Springer, 2006. p. 133.

NORGATE, T.; JAHANSHAHI, S. Low grade ores – smelt, leach or concentrate? **Minerals Engineering**, v. 23, p. 65-73, 2010.

POULIN, R.; LAWRENCE, R. W. Economic and environmental niches of biohydrometallurgy. **Minerals Engineering**, v. 9, n. 8, p. 799-810, 1996.

QUAN, X.; YANG, S. G.; RUAN, X. L.; ZHAO, H. M. Preparation of titania nanotubes and their environmental applications as electrode. **Environmental Science and Technology**, v. 39, p. 3770-3775, 2005.

RIEKOLLA-VANHANEN, M. Talvivaara Sotkamo mine – bioleaching of a polymetallic nickel ore in subarctic climate. **Nova Biotechnologica**, v. 10, n. 1, p. 7-14, 2010.

ROSSI, G. **Biohydrometallurgy**. Hamburgo: McGraw-Hill, 1990. p. 1-7.

SCHIPPERS, A. Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification. In: DONATI, E. R.; SAND, W. (Ed.). **Microbial processing of metal sulfides**. Dordrecht: Springer, 2006. p. 6-8.

SHAN, G. B.; XING, J. M.; ZHANG, H. Y.; LIU, H. Z. Biodesulfurization of dibenzothiophene by microbial cells coated with magnetite nanoparticles. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 4497-4502, 2005.

TARTAJ, P. Nanomagnets for biomedical applications. In: NALWA, H. S. (Ed.) **Encyclopedia of nanoscience and nanotechnology**. Stevenson Ranch: American Scientific Publishers, 2004. v. 6, p. 823-842.

TEMPLE, K. L.; COLMER, A. R. The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium: *Thiobacillus ferrooxidans*. **Journal of Bacteriology**, v. 62, p. 605-611, 1951.

THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY AND COMMUNITY COLLEGE SYSTEM OF NEVADA (United States of America). M. Misra; M. C. Fuerstenau. **Catalyzed dissolution of copper from sulfur-containing copper minerals**. WO 2004/023906A1, 26 Sept. 2003, 02 Apr. 2004. p. 1-2.

TOMA, H. E.; ARAKI, K. Nanociência e nanotecnologia. **Ciência Hoje**, v. 37, p. 24-31, 2005.

TUOVINEN, O. H.; KELLY, D. P. Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. Use of membrane filters and ferrous iron agar to determine viable number and comparison ¹⁴CO₂-fixation and iron oxidation as measures of growth. **Archives of Microbiology**, v. 88, p. 285-298, 1973.

VOGEL, A. I. **Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1992. p. 307-308.

WATLING, H. R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides - a review. **Hydrometallurgy**, v. 84, p. 81-108, 2006.

ANEXO A - Refinamento do difratograma de raios-X obtido para o resíduo do frasco abiótico contendo 2,5% de nanopartículas apolares com o software TOPAS-Academic 4.1.

