

WANEISSA DE CÁSSIA MARTINS ANTUNES DE MELO

**BIOSSOLUBILIZAÇÃO DA CALCOPIRITA NA PRESENÇA DOS ÍONS
CLORETO E ÁCIDOS ORGÂNICOS**

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

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Garcia Jr

Co-orientadora: Dra. Denise Bevilaqua

Araraquara-SP

2010

FICHA CATALOGRÁFICA

M528b	Melo, Wanessa de Cássia Martins Antunes de Biossolubilização da calcopirita na presença dos íons cloreto e ácidos orgânicos / Wanessa de Cássia Martins Antunes de Melo. – Araraquara : [s.n], 2010 121 f. : il. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química Orientador: Oswaldo Garcia Júnior Co-orientador: Denise Bevilaqua 1. Biotecnologia. 2. Biolixiviação. 3. <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>. I. Título.
-------	--

Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

DADOS CURRICULARES

WANESSA DE CÁSSIA MARTINS ANTUNES DE MELO

1. Dados Pessoais

Nascimento: 03 de junho de 1984

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: São Caetano do Sul-SP

Filiação: Ruberval Sperate de Melo

Ana Elizabeth Martins Antunes de Melo

Estado civil: solteira

Profissão: Biomédica

Documento de identidade: 12433692 SSP/MG

Cadastro de Pessoa Física: 066.246.786-82

Endereço: Rua Alto Garça, 361, Bairro Vila Bela Vista

CEP: 14800 - 025, Araraquara - SP

e-mail: wanessamelobio@yahoo.com.br

2. Formação Acadêmica/Titulação

2.1. Graduação

Bacharel em Biomedicina, Universidade de Uberaba – UNIUBE, Uberaba, MG, concluído em 24 de julho de 2007.

Título do trabalho de Monografia: “Catalogação das plantas medicinais da tribo indígena de Borácea.”.

Orientadora: Profa. Alessandra Iara de Oliveira.

3. Produção bibliográfica

3.1 Resumo apresentado em congressos

MELO, W. C. M. A. ; BEVILAQUA, D.; GARCIA Jr., O. “Efeito dos ácidos orgânicos no crescimento de *Acidithiobacillus ferrooxidans*”. In IV Simpósio de Microbiologia Aplicada, 2009, Unesp - Rio Claro, SP.

3.2 Resumo publicado em congressos

Melo, W.C.M.A., Bevilaqua, D., GARCIA Jr., O. “Effect of organic acids on the growth of *Acidithiobacillus ferrooxidans*” In IV Simpósio de Microbiologia Aplicada, 2009, Unesp - Rio Claro, SP, v. 9, n° 1, p.97.

4. Participação em eventos

IV Simpósio de Microbiologia Aplicada, Unesp – Rio Claro, SP, 2009.

Semana da Química, Unesp, Araraquara, SP, 2008.

Curso Biocombustíveis, Unesp, Araraquara, SP, 2008.

VII Seminário da Iniciação Científica da Universidade de Uberaba, 2006.

I Simpósio de Toxicologia e Análises Clínicas, Uniube – Uberaba, MG, 2006.

Dedico esse trabalho,

a todos que me apoiaram durante esse percurso,

em especial,

*A Douglas pelo companheirismo, apoio,
paciência, conversas, compreensão, o
ombro amigo, e pelo exemplo de pessoa
e profissional.*

*A minha família pelo amor, carinho, incentivo,
força. Obrigada pelo ombro amigo que
sei que posso contar por toda minha
vida.*

AGRADECIMENTOS

Aos Profs. Drs. Oswaldo Garcia Júnior e Assis Vicente Benedetti e a Dra. Denise Bevilaqua pela orientação e confiança. Obrigada pelo exemplo de dignidade e profissionalismo. Meus sinceros agradecimentos!

Aos amigos e funcionários do Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química, em especial do laboratório de Biohidrometalúrgia (Alexandra, Ana Elisa, Ana Paula, Bruna, Daniel, Gustavo, Maurício, Marcelo, Renata, Robson (Cebinho), Robson, Sofia e Waldenir).

A amiga Fabiana e sua família, pela amizade, risadas, confidências. Obrigada pelo carinho.

A minha família, meus pais Ruberval e Beth, e a minha irmã Danielle, pelo apoio.

A Douglas, meu amor, que sempre esteve ao meu lado nas horas mais difíceis me apoiando e me confortando.

Ao CNPq e Companhia Vale pelo apoio financeiro.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho!

RESUMO

O uso de bactéria como agente catalítico para a lixiviação de sulfetos minerais é largamente reconhecido hoje como uma metodologia interessante, sob o ponto de vista econômico e ambiental, para a recuperação de metais de minérios de baixo teor e minérios de sulfetos secundários. A principal bactéria envolvida neste processo é a *Acidithiobacillus ferrooxidans*, um microrganismo quimiolitotrófico e acidofílico que obtém energia através da oxidação do íon Fe^{2+} , além das formas reduzidas de enxofre e sulfetos metálicos.

Dentre os principais sulfetos metálicos encontrados nas reservas minerais de cobre, a calcopirita (CuFeS_2) é a que mais se destaca por ser o mineral mais abundante e ao mesmo tempo mais refratário ao ataque químico e bacteriano. Dentro desse contexto há um grande interesse no desenvolvimento de alternativas para otimizar a solubilização desse sulfeto.

Neste trabalho, foram investigados o efeito dos ácidos orgânicos e dos íons cloreto e na biolixiviação da calcopirita visando aumentar a solubilização de cobre desse sulfeto.

Com relação ao estudo com os ácidos orgânicos (cítrico e oxálico) foi observado que a linhagem bacteriana *A. ferrooxidans*-LR foi inibida na presença do ácido oxálico em concentrações acima de 0,10 % m/v. Na presença de ácido cítrico não foi observado nenhuma inibição nas diversas concentrações utilizadas. Em função desses resultados o ácido cítrico foi o único a ser utilizado nos ensaios posteriores.

O teste de solubilização das jarositas demonstrou que uma vez formada, ela não pode ser dissolvida pela adição de ácido cítrico. No entanto, este ácido mostrou-se eficiente para conter a formação destes precipitados.

Os ensaios de biolixiviação na presença de ácido cítrico foram acompanhados por 60 dias através de medidas de pH, Eh, $[\text{Fe}^{2+}]$, $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{Cu}]$. Os resíduos sólidos obtidos no final de cada ensaio também foram analisados por difração de raios X. A solubilização do cobre foi favorecida na presença de 0,005 (% m/v) de ácido cítrico (~2x) tanto no inoculado quanto no controle, porém com cinéticas diferentes. As análises dos resíduos sólidos finais revelaram que a presença do ácido cítrico impediu a formação de precipitados de ferro.

Foram realizados ensaios de biolixiviação em frascos na presença dos íons cloreto, os quais foram monitorados por amostragem periódica da fase líquida como nos ensaios anteriores. Os resíduos sólidos obtidos no final de cada ensaio foram analisados por difração de raios X. A importância da adaptação dos microorganismos às condições do meio de lixiviação foi comprovada pela melhor eficiência em extração de Cu obtida pelas células adaptadas aos íons cloreto quando comparadas às adaptadas somente a calcopirita. Os ensaios realizados com adições sucessivas de 10 e 20 mmol L⁻¹ de cloreto aumentaram em cerca de 70% a extração de cobre em relação ao ensaio com adição de 150 mmol L⁻¹. A análise dos resíduos sólidos dos ensaios revelou a presença de covelita, como um dos principais produtos da dissolução da calcopirita. A adição sistemática de íons cloreto contribuiu para este aumento de dissolução da calcopirita evitando a formação e acúmulo de precipitados e novas fases cristalinas que impedem a dissolução da calcopirita.

Palavras-chave: *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Biolixiviação. Calcopirita. Jarositas. Ácidos orgânicos. Íons cloreto.

ABSTRACT

Acidithiobacillus ferrooxidans is a chemolithoautotrophic and acidophilic bacterium which obtain their energy through oxidation of the iron Fe^{+2} or sulfur reduced compounds including metal sulfides. This is the main species involved in the metals bioleaching process, an useful methodology to recovery metals from low-grade ores and secondary mineral sulfides.

Chalcopyrite (CuFeS_2) is one of the most abundant mineral of copper but at same time the most refractory, both to chemical and biological dissolution. So, it would be interesting to develop alternative technologies to improve copper solubilization from this sulfide.

In the present study, it was investigated the effect of chlorine ions and organic acids in the chalcopyrite dissolution by bioleaching experiments in shake flask, following parameters such as pH, Eh, $[\text{Fe}^{2+}]$, $[\text{Fe}^{3+}]$ and $[\text{Cu}]$. Solid residues collected during and at end of assays were analyzed by X rays diffraction technique.

The presence of Cl^- ions (150 mmol L^{-1}) and bacterium cells increased the degree of the chalcopyrite dissolution, comparing to abiotic controls and without Cl^- ions. Two kinds of cell adaptation were also investigated regarding their capacity of copper extraction. Chlorine adapted cells showed better results than those adapted only to grow in chalcopyrite. Indeed, successive Cl^- ions addition during experiment time course, at 10 e 20 mmol L^{-1} , enhanced copper extraction in about 70% in comparison to that of 150 mmol L^{-1} in just one addition. The main new solid phase obtained during bioleaching experiments in inoculated flasks was covellite, but jarosites were not produced in these conditions, which can be considered a promising result. The successive chlorine ion addition in bioleaching of chalcopyrite showed to be a potential procedure to improve copper extraction.

Basically, the studies of organic acids (citric and oxalic) effects in bioleaching process were carried out in order to prevent jarosites formation, which is believed to block copper solubilization from chalcopyrite due to a passivation layer formed in the mineral surface. Before these studies, it was tested the effect of these organic acids in the *A. ferrooxidans* growth. While oxalic acid is inhibitory to bacterial growth even at 0,1% (w/v) for the citric acid

the bacterial inhibition was not detected at 1% (w/v). So, citric acid was choosing for posterior assays.

Jarosites were not dissolved by any concentration of citric acid since the precipitated is formed in absence of this acid, but it could efficiently prevent the jarosite formation in experiments of ferrous oxidation by bacteria.

Bioleaching experiments in the presence of citric acid were conducted in concentrations (% w/v) of 0, 0.005, 0.5 and 1. The copper extraction was better in the presence of 0.005% with no differences between inoculated or abiotic control. However, the kinetics in the presence of bacteria was faster than the control. In the solid residues, no precipitated were found, showing that citric acid can prevent iron precipitation in bioleaching systems.

Key words: *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Bioleaching. Chalcopyrite. Jarosites. Organic acids. Chloride ions.

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO	21
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
II.1. Mineração	24
II.1.1. Mineração no Brasil	25
II.2. Hidrometalurgia	26
II.2.1 Biolixiviação	27
II.3. Microrganismos envolvidos	34
II.3.1. Gênero <i>Acidithiobacillus</i>	35
II.3.1.1. <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	36
II.3.1.2. <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	37
II.3.2. Mecanismos de biolixiviação	37
II.4. Parâmetros que influenciam a biolixiviação dos minerais	39
II.4.1. Granulometria do minério	39
II.4.2. Tipo de microrganismo envolvido	39
II.4.3. Influência da Adição de Nutrientes	39
II.4.4. Temperatura	40
II.4.5. pH	40
II.4.6. Potencial Redox (Eh)	41
II.5. Cobre	41
II.6. Calcopirita	45
II.7. Jarositas	49
II. 8. Ácidos orgânicos	51
II.8.1. Ácido cítrico	52
II. 8.2. Ácido oxálico	53

II.9. Íons Cloreto	54
III. OBJETIVOS	59
IV. MATERIAIS E MÉTODOS	60
IV.1. Amostra mineral	60
IV.2. Linhagem bacteriana	60
IV.3. Meio de cultura	61
IV.3.1. Meio T&K	61
IV.3.2. Meio 9K	61
IV.4. Metodologia analítica	62
IV.4.1. Medidas de pH e potencial de óxido-redução	62
IV.4.2. Determinação do Fe^{2+}	62
IV.4.3. Determinação do Fe^{3+}	63
IV.4.4. Determinação de Cobre	63
IV.4.5. Difração de Raios-x (DRX) – resíduos sólidos	63
IV.5. Adaptação das células bacteriana ⁺	64
IV.5.1. Adaptação à calcopirita	64
IV.5.2. Adaptação à calcopirita e aos íons cloreto	65
IV.6. Estudo com os ácidos orgânicos	65
IV.6.1. Efeito dos ácidos orgânicos (cítrico e oxálico) no crescimento de <i>A. ferrooxidans</i> – LR	65
IV.6.2. Solubilização das jarositas na presença do ácido cítrico	66
IV.6.2.1. Produção das jarositas	66
IV.6.2.2. Solubilização das jarositas obtidas	66
IV.6.3. Efeito do ácido cítrico na formação de jarositas	67
IV.6.4. Biolixiviação da calcopirita na presença do ácido cítrico	67

IV.7. Estudo com os íons cloreto	68
IV.7.1. Ensaio de crescimento de <i>A. ferrooxidans</i> – LR na presença de íons Cl^-	68
IV.7.2. Ensaio de crescimento de <i>A. ferrooxidans</i> – LR na presença de íons Cl^- e da calcopirita.	68
IV.7.3. Biolixiviação da calcopirita na presença de 150mmol L^{-1} de Cl^-	69
IV.7.4. Biolixiviação da calcopirita com adições sucessivas de 10 mmol L^{-1} e 20 mmol L^{-1} de íons Cl^-	70
V.RESULTADOS E DISCUSSÕES	72
V.1. Estudo com os ácidos orgânicos	72
V.1.1. Efeito dos ácidos orgânicos no crescimento de <i>A. ferrooxidans</i> – LR	72
V.1.2. Solubilização das jarositas na presença do ácido cítrico	76
V.1.2.1. Produção das jarositas	77
V.1.2.2. Solubilização das jarositas obtidas	77
V.1.3. Efeito do ácido cítrico na formação de jarositas	78
V.1.4. Biolixiviação da calcopirita na presença do ácido cítrico	82
V.2. Estudo com os íons cloreto	86
V.2.1. Ensaio de crescimento de <i>A. ferrooxidans</i> – LR na presença de íons Cl^-	86
V.2.2. Ensaio de crescimento de <i>A. ferrooxidans</i> – LR na presença de íons Cl^- e da calcopirita.	87
V.2.3. Biolixiviação da calcopirita na presença de 150 mmol L^{-1} de íons Cl^-	89
V.2.4. Biolixiviação da calcopirita com adições sucessivas de 10 mmol L^{-1} e 20 mmol L^{-1} de íons Cl^-	96
V.3. Análise dos resíduos sólidos finais dos ensaios de biolixiviação da calcopirita	100
V.3.1. Ácido cítrico	101
V.3.2. Íons cloreto	103
VI. CONCLUSÕES	106

VI.1. Ácidos orgânicos	106
VI.2. Íons cloreto	106
REFERÊNCIAS	108

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Esquema geral de lixiviação bacteriana em uma pilha de minério (GARCIA & URENHA, 2001) 30.
- Figura 2:** Operações de biolixiviação em tanques agitados: (a) reator BIOXw - Sao Bento (Brasil); (b) planta BIOXw - Tamboraque (Peru); (c) planta BacTech - Laizhou Mintek (China); e (d) planta BIOXw - Sansu (Ghana) (RAWLINGS *et al.*, 2003) 32.
- Figura 3:** Estrutura cristalina da calcopirita (BETEJTIN, 1977) 46.
- Figura 4:** Modelo de dissolução da calcopirita proposto por Klauber (2008) 49.
- Figura 5:** Esquema da estrutura cristalina da jarosita (PAPIKE *et al.*, 2006) 50.
- Figura 6:** Forma estrutural do ácido cítrico (PIERRE & GAUTIER-LUNEAU, 2000) 52.
- Figura 7:** Distribuição das espécies do ácido cítrico (KÖNIGSBERGER *et al.*, 1999) 53.
- Figura 8:** Forma estrutural do ácido oxálico (EDWARDS & RUSSELL, 1998). 54.
- Figura 9:** Variação do pH (A) e do potencial de óxido - redução (B) no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (% m/v): (□) Controle - 0; (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50 e (▼) 1,0 73.

Figura 10: Porcentagem de oxidação dos íons ferrosos no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (% m/v): (□) Controle - 0; (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50 e (▼) 1,0

74.

Figura 11: Variação do pH (A) e do potencial de óxido - redução (B) no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença do ácido oxálico nas seguintes concentrações (m/v %): (□) Controle - 0; (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50 e (▼) 1,0

75.

Figura 12: Porcentagem de oxidação dos íons ferrosos no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença do ácido oxálico nas seguintes concentrações (% m/v): (□) Controle - 0; (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50 e (▼) 1,0

76.

Figura 13: Difratograma do precipitado formado após a oxidação dos íons ferrosos por *A. ferrooxidans* – LR. Símbolos: P.F. – precipitado formado; H.J. – hidrôniojarosita sintética e P.A.- porta amostra

77.

Figura 14: Porcentagem de íons férricos presentes em solução no ensaio de solubilização das jarositas na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (% m/v): (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50 e (▼) 1,0. Os frascos com solução de ácido sulfúrico estão representados pelos símbolos abertos nos respectivos valores de pH: (○) 1,2, (□) 1,4 e (Δ) 1,8

78.

Figura 15: Variação do pH no ensaio da formação de jarositas durante o crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença de ácido cítrico nas seguintes concentrações (% m/v): (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50; (▼) 1,0; Os frascos sem adição de ácido cítrico estão representados pelos símbolos abertos nos respectivos valores de pH: (□) 1,2; (○) 1,4 e (Δ) 1,8

79.

Figura 16: Porcentagem de oxidação dos íons ferrosos no ensaio da formação de jarositas durante o crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença de ácido cítrico nas seguintes concentrações (m/v %): (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50; (▼) 1,0. Os frascos sem adição de ácido cítrico estão representados pelos símbolos abertos nos respectivos valores de pH: (□) 1,2; (○) 1,4 e (Δ) 1,8

80.

Figura 17: Variação de pH (A) e do potencial de óxido-redução (B) no ensaio de biolixiviação da calcopirita na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (m/v %): (◆) 0; (■) 0,005; (●) 0,50 e (▲) 1,0. Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos. A seta indica o momento da correção do pH com ácido sulfúrico concentrado

82.

Figura 18: Variação da concentração de Fe^{2+} (A) e de Fe^{3+} (B) no ensaio de biolixiviação da calcopirita na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (m/v %): (◆) 0; (■) 0,005; (●) 0,50 e (▲) 1,0. Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos

84.

Figura 19: Variação da concentração de cobre no ensaio de biolixiviação da calcopirita na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (m/v %): (◆) 0; (■) 0,005; (●) 0,50 e (▲) 1,0. Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos

85.

Figura 20: Porcentagem de oxidação dos íons ferrosos no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença dos íons Cl^- nas seguintes concentrações (mmol L^{-1}): (□) Controle - 0; (●) 100; (▲) 200; (▼) 400; (◆) 500

87.

Figura 21: Variação do pH (A) e do potencial de óxido - redução (B) no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença da calcopirita e dos íons Cl^- nas seguintes concentrações (mmol L^{-1}): (□) Controle - 0; (■) 50; (●) 100; (▲) 200; (▼) 400; (◆) 500

88.

Figura 22: Porcentagem de oxidação dos íons ferrosos no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença da calcopirita e dos íons Cl^- nas seguintes concentrações (mmol L^{-1}): (□) Controle - 0; (■) 50; (●) 100; (▲) 200; (▼) 400; (◆) 500

89.

Figura 23: Variação do pH no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto. A seta indica o momento da adição de H_2SO_4

90.

Figura 24: Variação do potencial de óxido-redução no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto

91.

Figura 25: Variação da concentração de Fe^{2+} no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto

92.

Figura 26: Variação da concentração de Fe^{2+} (★) e Fe^{3+} (☆) do frasco com meio oxidado na presença de Cl^- , no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto

93.

Figura 27: Variação da concentração de Fe^{3+} no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto

94.

Figura 28: Variação da concentração de cobre no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto

95.

Figura 29: Variação do valor de pH (A) e do potencial de óxido-redução (B) no ensaio de biolixiviação da calcopirita com adições semanais de (■) 10 mmol L^{-1} e (●) 20 mmol L^{-1} e quinzenais de (▲) 10 mmol L^{-1} e (◆) 20 mmol L^{-1} de íons cloreto. O ensaio sem adição de íons cloreto está representado por (★). Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos

97.

Figura 30: Variação da concentração de Fe^{2+} (A) e Fe^{3+} (B) no ensaio de biolixiviação da calcopirita com adições semanais de (■) 10 mmol L^{-1} e (●) 20 mmol L^{-1} e quinzenais de (▲) 10 mmol L^{-1} e (◆) 20 mmol L^{-1} de íons cloreto. O ensaio sem adição de íons cloreto está representado por (★). Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos

98.

Figura 31: Variação do valor da concentração de cobre no ensaio de biolixiviação da calcopirita com adições semanais de (■) 10 mmol L^{-1} e (●) 20 mmol L^{-1} e quinzenais de (▲) 10 mmol L^{-1} e (◆) 20 mmol L^{-1} de íons cloreto. O ensaio sem adição de íons cloreto está representado por (★). Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos

99.

Figura 32: Difratoograma de raios X da amostra original de calcopirita utilizada nos ensaios de biolixiviação. Os símbolos indicam C – calcopirita, q – quartzo e fc – compostos fosfatados de cálcio (HORTA, 2008)

100.

Figura 33: Difratoograma de raios X dos resíduos sólidos de biolixiviação na presença (A) e ausência (B) do ácido cítrico (ensaio controle 0,005%). Os símbolos indicam C – calcopirita, q – quartzo, fc – compostos fosfatados de cálcio, Cv – covelita, J – jarosita e S – enxofre

101.

Figura 34: Difratoograma de raios X dos resíduos sólidos finais de biolixiviação na presença dos íons cloreto. A. f. (A), A.f. + 150 mmol L^{-1} + 150 mmol L^{-1} após 15 dias (B), Inoculado com adições semanais de 20 mmol L^{-1} íons cloreto (C). Os símbolos indicam C – calcopirita, q – quartzo, fc – compostos fosfatados de cálcio, Cv – covelita e S – enxofre.

103.

Figura 35: Difratoograma de raios X dos resíduos sólidos finais de biolixiviação com meio oxidado na presença de 150 mmol L^{-1} de íons cloreto. Os símbolos indicam C – calcopirita, q – quartzo, fc – compostos fosfatados de cálcio, Cv – covelita, J – jarosita e S – enxofre.

104

INDICE DE TABELAS

Tabela 1: Operações de recuperação do cobre por lixiviação em pilhas (RAWLINGS <i>et al</i> , 2003)	31.
Tabela 2: Aplicação industrial dos tanques agitados desde 1986 (RAWLINGS <i>et al.</i> , 2003)	33.
Tabela 3: Produção de cobre no mundo (RADETZKI, 2009)	43.
Tabela 4: Composição química da calcopirita utilizada nos ensaios	60.
Tabela 5: Fases do procedimento experimental na adaptação de <i>A. ferrooxidans</i> - LR ao crescimento em calcopirita	64.
Tabela 6: Fases do procedimento experimental na adaptação de <i>A. ferrooxidans</i> - LR ao crescimento em calcopirita e íons cloreto	65.
Tabela 7. Formação dos precipitados após oxidação dos íons ferrosos por <i>A. ferrooxidans</i> - LR na presença e ausência do ácido cítrico	81.

I. INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com o meio ambiente, aliada à redução da disponibilidade mundial de metais, e ao aumento de sua demanda gerou um interesse crescente em pesquisas na área minero-metalúrgica. Neste sentido os processos hidrometalúrgicos apresentam-se como uma alternativa apropriada para extração de metais de minérios de baixo teor.

Dentre os processos hidrometalúrgicos a biolixiviação ou lixiviação bacteriana é uma alternativa promissora que vem ganhando especial atenção para a obtenção de metais a partir de minérios de baixo teor. Este é um processo natural promovido por microrganismos para aumentar a dissolução de metais presentes na amostra mineral, especialmente nos sulfetos metálicos (NDLOVU, 2008).

Segundo Garcia e Bevilaqua (2008), a biohidrometalurgia possui uma série de fatores vantajosos como: 1) economia de insumos devido à produção dos mesmos pela bactéria; 2) baixo requerimento de energia, se comparado ao processo pirometalúrgico e até mesmo ao hidrometalúrgico em que se utilizam agitadores; 3) baixo investimento de capital inicial e de reduzido custo operacional devido à simplicidade na operação do sistema; 4) reduzida necessidade de mão de obra especializada e 5) não emissão de gases nocivos ao meio ambiente que provocam principalmente a chuva ácida, como nos processos pirometalúrgicos.

Os principais microrganismos envolvidos no processo são espécies bacterianas quimiolitotróficas e acidofílicas do gênero *Acidithiobacillus*, sobretudo o *Acidithiobacillus ferrooxidans*, uma espécie que obtém energia para seu crescimento através da oxidação do íon Fe^{2+} , além das formas reduzidas de enxofre e sulfetos metálicos insolúveis (BEVILAQUA, 2003). A oxidação de sulfetos metálicos insolúveis determina a solubilização do metal de interesse.

Apesar dos estudos publicados até a presente data terem demonstrado que a lixiviação bacteriana de sulfetos metálicos seja viável, a biolixiviação de calcopirita não é um processo aplicado comercialmente em nível mundial, pois

o mais abundante minério de cobre na natureza, e, portanto, o de maior interesse comercial, possui uma cinética de oxidação lenta, e em uma baixa extração de cobre (CÓRDOBA *et al.*, 2008).

Este fato pode estar relacionado à formação de uma camada passivadora sobre a superfície da calcopirita que limitaria a dissolução da mesma. A formação dessa camada pode ser atribuída principalmente, à formação de polissulfetos, enxofre elementar e ainda de precipitados de ferro (jarositas). O modo como esta camada passivadora se comporta na superfície do mineral ainda é muito contraditório, pois as características da mesma dependem de vários fatores como pH, concentração de ferro, sulfato, temperatura, cátions presentes no meio e tipos de microrganismos (HABASHI, 1978; HACKL *et al.*, 1995; STOTT *et al.*, 2000; BEVILAQUA *et al.*, 2002; PARKER *et al.*, 2008).

Na tentativa de otimizar a taxa de dissolução da calcopirita, estudos com a adição de íons cloreto à solução lixiviante têm sido realizados por acreditar-se que tais íons possam romper a camada passivadora superficial, tornando o minério mais poroso e susceptível a uma corrosão mais acelerada (LIDDICOAT & DREISINGER, 2007). Entretanto, nos estudos que envolvem esses íons com células bacterianas deve-se considerar a influência destes íons na atividade bacteriana, pois apesar de potencialmente otimizarem a dissolução da calcopirita, ao mesmo tempo podem ser inibitórios para a bactéria. Em função desse aspecto, alguns estudos foram realizados com o objetivo de se avaliar a possibilidade de adaptação bacteriana ao meio lixiviante com íons Cl^- . Ribeiro (2007) observou que a atividade de oxidação de íons ferrosos por *A. ferrooxidans* não foi alterada em concentrações de até 200 mmol L^{-1} de Cl^- , mostrando que a bactéria apresenta uma tolerância bastante razoável ao cloreto, validando de certa forma, os estudos de lixiviação na presença desse íon.

Adicionalmente, têm-se procurado alternativas para diminuir a formação das jarositas, as quais provocam um efeito negativo na biolixiviação devido a uma redução na área superficial do mineral, e com conseqüente diminuição do contato entre este, a lixívia e a bactéria (DAOUD & KARAMANEV, 2006). Para

a obtenção de melhores resultados na recuperação dos metais, têm sido realizados estudos objetivando a solubilização ou, até mesmo, o bloqueio na formação das jarositas (BARON & PALMER, 1996). Uma das alternativas para minimizar a formação destes precipitados seria elevar a acidez do meio de lixiviação ou ainda adicionar a esses meios agentes complexantes de ferro que limitariam ou até mesmo impediriam a formação dos mesmos. A adição de agentes complexantes nos meios de biolixiviação não está documentada na literatura até o presente momento. A utilização de ácidos orgânicos, em especial do ácido cítrico e oxálico, como agentes complexantes de metais é uma alternativa para que se possa impedir a formação destes precipitados.

Portanto, com perspectivas de ampliar as aplicações da biohidrometalurgia na dissolução do cobre da calcopirita, assim como elucidar os mecanismos envolvidos na passivação desse mineral, estudos com os íons cloreto e ácidos orgânicos foram realizados nesse trabalho.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II. 1. Mineração

A mineração compreende atividades de extração e beneficiamento de minerais que se encontram em estado natural. Suas técnicas são milenares, encontrando-se seus vestígios na estruturação das primeiras sociedades complexas da antigüidade. Nestas praticantes organizavam-se, talvez desde os seus primórdios, como uma corporação de especialistas, cujos conhecimentos eram transmitidos de uma geração para outra.

A ampliação dos conhecimentos mineralógicos está estritamente relacionada com a história. Os primeiros mineiros ocupavam-se sobretudo da obtenção de sílex (rocha constituída de quartzo) e cherte (rocha siliciosa) para a fabricação de utensílios e armas de pedra. As suas pedreiras levaram primeiramente à criação de galerias e poços e posteriormente as primeiras explorações subterrâneas durante o período neolítico. Durante as escavações realizadas nas minas subterrâneas do sul da Inglaterra e ao norte da França foram encontrados minerais metálicos que passaram a ser utilizados pela humanidade como pedras ornamentais (BETEJTIN,1973)

Entre 7000 a.C. e 4000 a.C. desenvolveu-se a metalurgia do cobre, que consistia na fusão e refinação desse metal a partir de óxidos como a malaquita e azurita. Vale destacar que por volta de 6000 a.C, no Oriente Médio, desenvolveu-se a tecnologia pirometalúrgica. Essa tecnologia consiste basicamente na utilização de altas temperaturas para obtenção do metal livre.

Segundo Hartman (1992), por volta do ano 2000 a.C. a população do mediterrâneo oriental já era capaz de produzir,em larga escala, metais como cobre, chumbo e prata a partir de óxidos e sulfetos metálicos.

Mais tarde, a partir da revolução industrial e da estruturação de sociedades urbanas e industriais, a exploração dos recursos minerais atingiu amplas dimensões e significativo valor econômico, ocasionando a institucionalização de centros de pesquisa e de formação profissional, bem como de investimentos de capitais em empreendimentos de mineração. A elaboração de uma base de conhecimentos era necessária à implantação de uma atividade de extração e beneficiamento. Além do conhecimento, eram

fundamentais as técnicas disponíveis, tanto no que se refere à extração, desmonte da rocha propriamente dita, como no beneficiamento, de onde resultava o minério relativamente purificado. A mineração configurou-se, portanto, como um ramo industrial de grande dinamismo e expressão, onde a incorporação de conhecimentos e inovações técnicas aparece como fundamental e característica (GRAEDEL *et al.*, 2002).

II.1.1. Mineração no Brasil

A mineração é um dos setores básicos da economia do Brasil que contribui de forma decisiva para o bem estar e a melhoria da qualidade de vida das presentes e futuras gerações. A história do Brasil tem íntima relação com a busca e o aproveitamento dos seus recursos minerais, que sempre contribuíram com importantes insumos para a economia nacional, fazendo parte da ocupação territorial e da história nacional. (ABREU, 1973)

Sabe-se que atualmente o subsolo brasileiro possui importantes depósitos minerais. Parte dessas reservas é considerada expressiva quando relacionadas mundialmente. O Brasil produz cerca de 70 substâncias, sendo 21 do grupo de minerais metálicos, 45 dos não-metálicos e quatro dos energéticos. Podendo destacar em termos de participação no mercado mundial a produção de amianto, bauxita, cobre, ferro, alumina, níquel e caulim. (REIS, 2007)

O perfil do setor mineral no país é composto por 95% de pequenas e médias minerações. Segundo a Revista Minérios & Minerales, 1999, os dados obtidos nas concessões de lavra demonstram que as minas no Brasil estão distribuídas regionalmente com 4% no norte, 8% no centro-oeste, 13% no nordeste, 21% no sul e 54% no sudeste. Estima-se que em 1992 existiam em torno de 16.528 pequenas empresas, com produção mineral de US\$ 1,98 bilhões, em geral atuando em regiões metropolitanas na extração de material para construção civil. (BARRETO, 2001).

No ano 2000, segundo Wagner (2002), o setor mineiro representou 8,5% do PIB, ou seja, US\$ 50,5 bilhões de dólares, gerou cerca de quinhentos mil empregos diretos e um saldo na balança comercial de US\$ 7,7 bilhões de dólares, além de ter tido um crescimento médio anual de 8,2% no período

1995/2000. Este fato contribuiu para que o Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM), principal órgão controlador da mineração nacional, declarasse que o Brasil juntamente com Federação Russa, Estados Unidos, Canadá, China e Austrália, fosse um dos países com maior potencial mineral do mundo.

Pode-se dizer, portanto, que esse setor é fundamental para o desenvolvimento de uma sociedade equânime, desde que seja operada com responsabilidade social, estando sempre presentes os preceitos do desenvolvimento sustentável.

II. 2. Hidrometalurgia

O desenvolvimento alcançado pelo setor minero-metalúrgico associado ao avanço tecnológico mundial fez com que o aumento da demanda mundial desses bens minerais se tornasse inevitável. Junto a isso apareceram alguns fatores negativos relacionado a esse setor como: 1) o progressivo esgotamento de reservas minerais contendo altos teores dos metais de interesse econômico; 2) a questão do impacto ambiental que é causada por diversos fatores, podendo-se destacar a emissão de SO_2 provocada pelo processo pirometalúrgico e 3) alto custo de processos em função dos gastos excessivos de energia.

Esses fatores negativos contribuíram para que a indústria concentrasse esforços no sentido de desenvolver métodos alternativos adequados para tratamento de minérios de baixos teores, que envolvessem redução de custos operacionais e adequação às leis governamentais quanto à emissão de gases poluentes. Uma alternativa adequada foi o surgimento do processo hidrometalúrgico que consiste basicamente na dissolução de metais a partir de soluções ácidas (frequentemente ácido sulfúrico) ou básicas (usualmente hidróxidos de amônio e sódio), em condições apropriadas de pressão e temperatura (CIMINELLI, 2007).

A aplicação desse processo na indústria foi relatada primeiramente no ano de 1887 com o surgimento de dois processos importantes: 1) cianidação aplicado em tratamento de ouro, e 2) processo Bayer, aplicado na produção de alumina. A partir dessa data essa técnica foi ganhando espaço na indústria

mineira e se dissipando por todo o mundo. Os mais recentes avanços da hidrometalurgia foram a aplicação de pressão na lixiviação de sulfetos minerais de níquel, a descoberta da utilização de microrganismos no processo de lixiviação, a ação do par galvânico na lixiviação de sulfetos minerais e a aplicação difundida de tecnologia ativada do carbono na oxidação de minérios refratários de ouro.

No Brasil as principais aplicações de processos hidrometalúrgicos são representadas pela extração de minérios de ouro (processo convencional, tal como na RPM Kinross, em Paracatu, e refratários – ouro em pirita e arsenopirita - como nas usinas da Anglo Gold Ashanti e São Bento); níquel (lateritas, Votorantim Metais – VM, em Niquelândia); zinco (minérios silicatados e sulfetados, VM em Três Marias e Juiz de Fora) e alumínio (processos Bayer e Hall-Heroult, diversas usinas) (BARRETO, 2001). Em menor escala, os processos hidrometalúrgicos também são usados na extração de minério de urânio e na produção de óxidos de terras-raras. As perspectivas de ampliação das aplicações da Hidrometalurgia são bastante promissoras, diante dos grandes investimentos previstos para o país, em especial para o cobre e níquel.

Como dito anteriormente um dos avanços da hidrometalurgia foi a utilização de microrganismos no processo de lixiviação. Esse processo foi denominado de biolixiviação o qual surgiu mais recentemente como uma alternativa adequada e promissora para recuperação de metais a partir de sulfetos minerais.

II. 2.1. Biolixiviação

A biolixiviação ou biohidrometalurgia pode ser definida como um processo natural pelo qual microrganismos (principalmente bactérias) de forma direta ou indireta, promovem a solubilização de certos componentes presentes na amostra mineral.

A lixiviação microbiana tem sido utilizada, desde épocas remotas, como um processo que ocorre naturalmente. Vários são os registros do emprego dessa técnica durante a Idade média, podendo-se destacar as minas de Rio Tinto na Espanha, a qual ficou conhecida como o primeiro registro da aplicação

desse processo em escala industrial para produção de cobre. Os princípios químicos e bioquímicos envolvidos nesse processo, na época, ainda eram desconhecidos; somente em 1922 o trabalho pioneiro de Rudolfs e Helbrouner alertou para a evidente existência de certos microrganismos, ainda não identificados, capazes de promover a transformação de sulfetos de ferros e zinco para a forma de sulfatos.

No entanto, a associação existente entre os microrganismos e a lixiviação de sulfetos somente foi comprovada a cerca de 50 anos, momento em que Bryner e Jameson(1958), propuseram o uso de bactérias na lixiviação de minério de cobre. Por conseguinte, nas últimas décadas a biohidrometalurgia vem sendo empregada em proporção crescente e essa potencialidade, segundo Radetzki (2009), decorre de uma série de fatores como: 1) baixo investimento de capital devido à simplicidade operacional; 2) baixo requerimento de energia; 3) economia de insumos devido a produção dos mesmos pelo microrganismo; 4) reduzida necessidade de mão de obra especializada; 5) menor impacto ambiental; 6) aproveitamento de jazidas de pequeno porte bem como de rejeitos minerais (minérios de baixo teor).

Atualmente, a biohidrometalurgia é aplicada em escala industrial, na recuperação de metais como cobre, ouro e até mesmo urânio. Alguns países como a Austrália e o Canadá se destacam como grandes produtores de metais utilizando esse processo, isso se deve ao fato dos mesmos investirem em programas que envolvem a cooperação de diversos setores como a indústria, o governo e instituições de ensino e pesquisa.

No que se diz respeito à produção mundial de cobre, sabe-se que 20% desse metal são obtidos a partir da biolixiviação de minerais marginais e de baixo teor. Grande parte dessas plantas biohidrometalúrgicas está localizada no Hemisfério Sul, principalmente no norte do Chile onde está presente a operação “Quebrada Blanca”. Essa planta ilustra a evolução da biolixiviação na indústria mineira, pois a mesma permanece ativa desde 1980 processando cerca de 80.800 t/dia de concentrado (BRIERLEY & BRIERLEY, 2001).

Como dito anteriormente, outro metal que vem sendo ultimamente obtido através da lixiviação microbiana é o ouro. Pode-se dizer que hoje há cerca sete plantas ativas que realizam a biooxidação de concentrados desse metal. Dentre elas pode-se destacar a localizada em São Bento – Brasil que processa

150 t/dia de concentrado e em Ashanti – Ghana em que processa 1000 t/dia desse metal (EHRlich, 2001)

O processo biohidrometalúrgico envolve algumas operações que podem ser classificadas em dois grandes grupos: leito estático e tanques agitados. O primeiro inclui a lixiviação *in situ*, em pilhas (de rejeito, estéril ou minério) ou em tanques estáticos (*vat leaching*). Esta última, em desuso, foi utilizada até a última década na mina de cobre de Chuquicamata, Chile (SANTOS & CIMINELLI, 2007). O segundo grupo compreende a biolixiviação em tanques agitados - abertos ou sob pressão.

A biolixiviação em pilhas (Figura 1) consiste no empilhamento do minério grosseiro sobre uma superfície previamente impermeabilizada e preparada para ficar com uma pequena inclinação, a qual permite a drenagem da solução resultante. No topo da pilha assim formada é borrifada ou gotejada uma solução lixivante que percola o seu leito e dissolve progressivamente alguns constituintes da rocha até atingir a sua base impermeabilizada, quando então, o licor de lixiviação é conduzido para a etapa de recuperação (BÔAS *et al*, 2002). O desempenho do minério a ser submetido ao processo de lixiviação em pilha pode ser avaliado através de testes em colunas e em pequenas pilhas. Por esses testes, informações importantes podem ser obtidas, tais como, o consumo de lixivante e a sua concentração no licor de lixiviação, a máxima extração dos metais, a sua evolução temporal e as suas concentrações no licor de lixiviação.

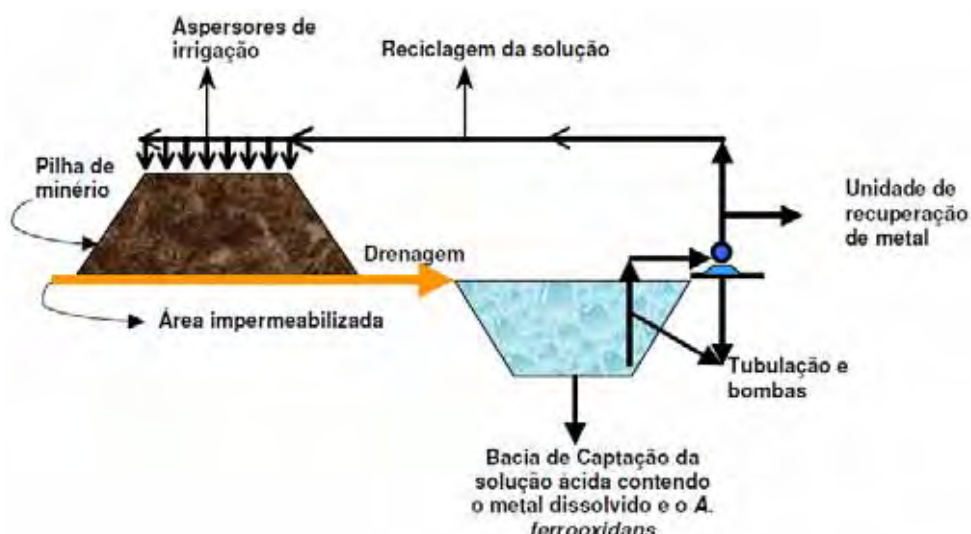


Figura 1 - Esquema geral de lixiviação bacteriana em uma pilha de minério (GARCIA & URENHA, 2001).

O processo de lixiviação em pilhas vem sendo utilizado há alguns anos na recuperação de metais a partir de minerais. Atualmente esse processo vem sendo aplicado, principalmente, no tratamento de minérios de cobre (Tabela 1), havendo indícios de que o mesmo também tem demonstrado resultados promissores no pré – tratamento de minérios refratários de ouro.

Entretanto, a lixiviação em pilha na presença de microrganismos para minérios de ouro ainda não é comumente utilizada, isso porque a mesma apresenta alguns fatores inapropriados para o desenvolvimento dos microrganismos aplicados nesse processo. Dentre esses fatores se destaca a grande variação de temperatura sofrida pelo processo e o fato da lixiviação em pilha ser um processo estático. Contudo, há no mundo alguns processos biohidrometalúrgicos em pilha que podem ser destacados: Titan Resources e Pacific Ore Technology Ltd (BALLESTER & CÓRDOBA, 2005).

Tabela 1: Operações de recuperação do cobre por lixiviação em pilhas (RAWLINGS *et al*, 2003)

Operações	Cobre/T.	Localização
Cyprus Miami Mining Corp	73 000	Miami, AZ, EUA
Cyprus Sierrita Corporation	21 800	Green Valley, AZ, EUA
Burro Chief Copper Co–Phelps Dodge Tyrone	74 980	Tyrone, NM, EUA
Burro Chief Copper Co–Phelps Dodge Chino Mines Co.	66 200	Santa Rita, NM, EUA
Silver Bell Mining L.L.C.	21 000	Marana, AZ, EUA
BHP Billiton Billiton Copper San Manuel	22 680	San Manuel, AZ, EUA
BHP Billiton Copper Pinto Valley	6800	Miami, AZ, EUA
BHP Billiton Copper Miami	10 400	Miami, AZ, EUA
Sociedad Minera Cerro Verde S.A.	60 000	Arequipa, Peru
Sociedad Contractuel Minera El Abra	225 000	Região II (Calama), Chile
BHP Billiton Compania Minera Cerro Colorado	100 000	Mamina, Chile
Codelco Chile–Division Radimiro Tomic	180 000	Região II (Calama), Chile
Codelco Chile–Division El Teniente	4800	Sewell Rancagua, Chile
Hellenic Copper Mines Ltd	5000	Nicosia, Cyprus
Compania Minera Zaldivar	131 500	Região II, Chile

O processo de lixiviação em de tanques agitados (Figura 2), consiste basicamente em reatores altamente ventilados em fluxo contínuo, no qual primeiramente o concentrado ou minério, ambos moídos, são adicionados em um tanque junto a soluções com nutrientes inorgânicos, específicos para o desenvolvimento dos microrganismos em questão. Logo a suspensão em agitação segue por uma série de tanques aerados, com temperatura e pH controlados, solubilizando o mineral que ao fim do processo é recuperado por meio de técnicas como a eletrodeposição. Vale destacar que a conservação de pH e temperatura nesse processo auxiliam na solubilização do mineral e o desenvolvimento do microrganismo em questão. (RAWLINGS & JOHNSON, 2007).

Os tanques agitados são mais utilizados na recuperação de metais preciosos, tais como o ouro, e se destaca pelo fato de ser necessário somente

alguns dias para a recuperação do metal de interesse, bem como parâmetros como temperatura e pH serem de fácil monitoramento.

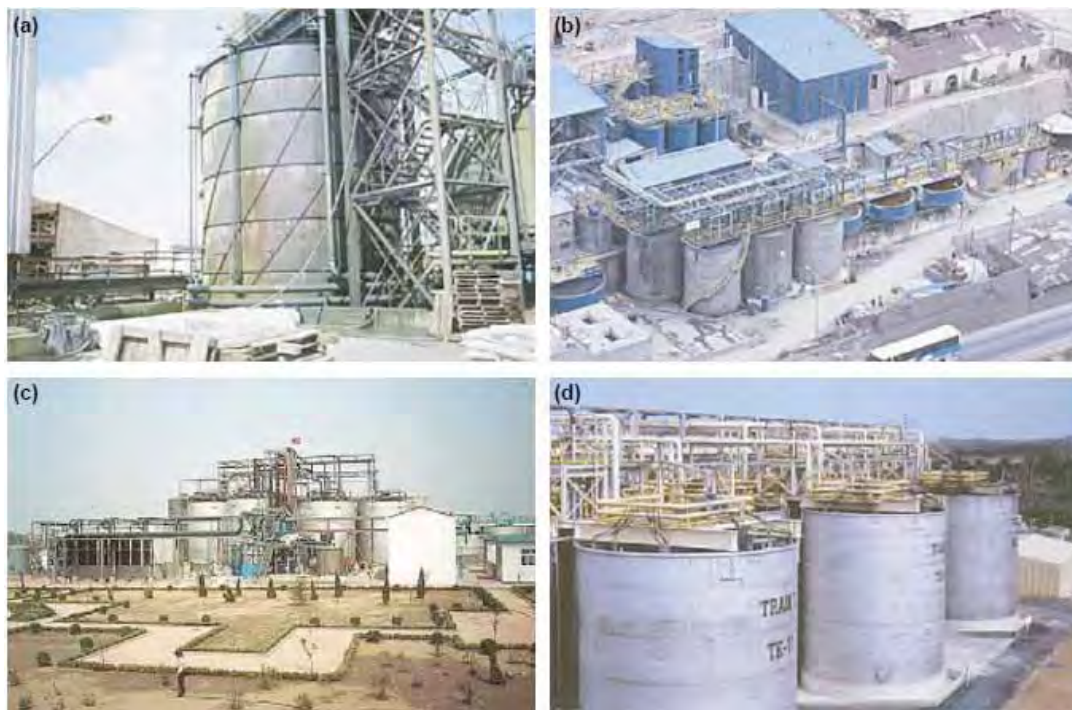


Figura 2: Operações de biolixiviação em tanques agitados: (a) reator BIOXw -Sao Bento (Brasil); (b) planta BIOXw - Tamboraque (Peru); (c) planta BacTech - Laizhou Mintek (China); e (d) planta BIOXw - Sansu (Ghana) (RAWLINGS *et al.*, 2003).

Entretanto, se comparado a biolixiviação em pilhas os tanques agitados apresentam algumas desvantagens como: 1) quando operam a uma temperatura entre 40 e 50 °C necessitam de uma adaptação prévia do sistema operacional dependendo do tipo de mineral utilizado e isso gera altos custos operacionais; 2) a concentração de sólidos que essa técnica suporta é de no máximo 20%, pois caso ultrapasse esse valor a força induzida pelos impulsores pode provocar danos às células microbianas, e isso faz com que esse processo, então, fique restrito a quantidade de metal a ser recuperado por operação.

Apesar desses impasses os tanques agitados possuem uma grande aplicação em escala industrial, como pode ser observado na tabela 2.

Tabela 2: Aplicação industrial dos tanques agitados desde 1986 (RAWLINGS *et al.*, 2003)

Plantas	Ano.	Projeto da companhia	Toneladas (d ⁻¹)	Volume do reator (m ³)	Localização
Fairview BIOXw	1986	GFL/Biomin Technologies SA	14	440	Barberton
Expansion 1	1991	GFL/Biomin Technologies SA	35	1075	
Expansion 2	1999	GFL/Biomin Technologies SA	55	1415	
Harbour Lights BIOXw	1991	GFL/Biomin Technologies SA	40	980	Leonora, Austrália
São Bento BIOXwe	1991	GFL/Biomin Technologies SA	150	580	Brasil
Expansion 1	1994	GFL/Biomin Technologies SA	300	1160	
Expansion 2	1998	GFL/Biomin Technologies SA	300	1487	
Wiluna BIOX	1993	GFL/Biomin Technologies SA	115	2820	Austrália
Expansion 1	1996	GFL/Biomin Technologies SA	154	4230	
Youanmi	1994	BacTech	120	3000	Austrália
Ashanti–Sansu BIOXw	1994	GFL/Biomin Technologies SA	720	16200	Ghana
Expansion 1	1995	GFL/Biomin Technologies SA	960	21600	
Tamboraque BIOXw	1998	GFL/Biomin Technologies AS	60	1570	Peru
KCCL ^f	1998	BRGM/Signet/KCCL	240	6750	Uganda
Beaconsfield	1999	Mintek–BacTech	68	2310	Uganda
Laizhou	2001	Mintek–BacTech	100	4050	China

Portanto, diante dos fatos acima descritos pode-se notar que as perspectivas de ampliação do processo de biolixiviação são bastante promissoras. Para que isso ocorra, segundo Brierley (2008), alguns pontos são fundamentais: 1) o processo de biolixiviação para ser eficaz tem que ser capaz de se integrar dentro dos projetos da engenharia, ou seja, deve haver uma associação e entendimento das diversas áreas envolvidas (engenharia, microbiologia e físico-química) nesse processo para o desenvolvimento do mesmo; 2) o microrganismo que apresenta melhor desempenho nos testes laboratoriais tem que demonstrar o mesmo desempenho em instalações de grande escala comercial e 3) a economia e os preços dos metais no mercado influenciam o projeto de engenharia, assim o custo de um processo eficaz pode não ser o “design” ideal para o funcionamento de um processo biológico.

II. 3. Microrganismos envolvidos

Diferentes tipos de microrganismos têm sido isolados de ambientes ácidos tais como a drenagem ácida de minas, minas de carvão e a lixiviação de sulfetos minerais em pilha ou tanques agitados. Esses acidófilos extremos que crescem em $\text{pH} < 3$, são divididos segundo a temperatura ótima de crescimento: mesófilos – até 40°C , termófilos moderados - 40°C a 50°C e termófilos extremos - 55°C a 80°C .

A biooxidação dos sulfetos minerais em processos com uma grande massa mineral, como tanque agitados e pilhas, produz um aquecimento significativo no interior da massa mineral que chega a 80°C . Esse ambiente é favorável não somente para aumentar a velocidade de oxidação química dos minerais, mas também é propício para o crescimento dos microrganismos termófilos. Pode-se dizer, então, que a utilização desses microrganismos no processo de biolixiviação contribui para aumentar a solubilização de metais a partir de amostras minerais (OLSON *et al.*, 2003).

O primeiro termófilo acidofílico a ser isolado foi uma archaea oxidante de enxofre, no Yellowstone National Park, Wyoming - USA em 1965 e denominado como *Acidianus brierley* (BRIERLEY, 2008). Além da oxidação do enxofre, foi evidenciada também a oxidação do íon Fe^{2+} por essa espécie e assim foi sugerido que essa archaea tinha um grande potencial para ser aplicada nos processos biohidrometalúrgicos. Em 1977 em uma área termal Le Roux *et al.*, isolaram uma bactéria que tinha a capacidade de crescer e oxidar a pirita a 50°C . Nessa mesma época em um estudo realizado por Brierley e Le Roux (1977), essa bactéria denominada *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* demonstrou sua capacidade de oxidar íons ferrosos, porém somente na presença de extrato de levedura.

Com relação aos termófilos extremos destacam-se os do gênero *Sulfolobus* que possuem a capacidade de aumentar a velocidade de lixiviação dos sulfetos minerais. Entretanto, o fato desse microrganismo ser uma arquea e assim não possui peptidoglicano em sua parede celular, o torna mais frágil e sensível a força abrasiva encontrada em muitos processos de biolixiviação que envolve atrito (RAWLINGS & SILVER, 1995). Dessa forma, esse microrganismo, diferentemente dos termófilos moderados, não é

convencionalmente utilizado em escala industrial e quando utilizado é necessário que seja um processo de lixiviação dinâmica com baixas densidades de polpa (RODRÍGUEZ *et al.*, 2001).

Dentre os microrganismos mesófilos, as bactérias autótrofas são as principais promotoras da lixiviação de metais enquanto as heterótrofas exercem a função de eliminar compostos orgânicos que poderiam inibir a ação das autótrofas (HORTA, 2008). A primeira bactéria mesófila a ser isolada em ambientes mineiros foi *Acidithiobacillus ferrooxidans*, descrita em 1951 por Temple e Colmer como uma acidófila oxidante de ferro e enxofre. Considerado o principal microrganismo envolvido no processo de biolixiviação de metais e na dissolução oxidativa dos sulfetos minerais, determinou um crescente interesse dos pesquisadores pelos aspectos envolvidos nesse fenômeno.

Diante disso, outros microrganismos com similaridades fisiológicas e ambientais a essa bactéria foram descobertos e assim aplicados no processo, dentre eles vale destacar o *Leptospirillum ferrooxidans* e a *Acidithiobacillus thiooxidans*. O *L. ferrooxidans* é um microrganismo oxidante de ferro é atualmente utilizado na biooxidação dos sulfetos minerais. O *A. thiooxidans* que apesar de não ser capaz de oxidar minerais como a pirita atua na dissolução de minerais que produzem enxofre (calcopirita, arsenopirita e esfarelita), pois utiliza como fonte energética compostos reduzidos de enxofre.

II. 3.1. Gênero *Acidithiobacillus*

Filogeneticamente, o gênero *Acidithiobacillus* está situado entre as subdivisões β e γ de Proteobacteria (RAWLINGS, 2001) e compreende quatro espécies: *A. albertensis*, *A. caldus*, *A. ferrooxidans* and *A. thiooxidans* (KELLY & WOOD, 2000). As espécies desse gênero se apresentam como bastonetes gram negativos, são obrigatoriamente acidofílicas (pH ótimo de crescimento menor que 4,0), se reproduzem por divisão binária e apresentam um flagelo polar e “pilli” (GARCIA & URENHA, 2001).

Essas quatro espécies são quimiolitotróficas, utilizam CO_2 atmosférico como principal fonte de carbono e são capazes de crescer utilizando substratos inorgânicos, necessitando basicamente como fonte energética enxofre e compostos reduzidos de enxofre (S^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, SO_3^{2-} ,

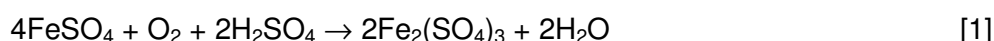
$\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$), incluindo os sulfetos metálicos. Vale destacar que *A. ferrooxidans* é o único microrganismo do gênero que utiliza também como fonte de energia o Fe^{2+} (BERGAMO *et al.*, 2004; KARAVAIKO *et al.*, 2003; KELLY & WOOD, 2000)

II.3.1.1. *Acidithiobacillus ferrooxidans*

A espécie *A. ferrooxidans*, anteriormente denominada *Thiobacillus ferrooxidans* (KELLY & WOOD, 2000), é uma bactéria aeróbia considerada um dos principais microrganismos envolvidos na biolixiviação de metais a partir de minérios. É uma espécie não patogênica, com dimensões médias de 0,5 a 0,6 μm de diâmetro por 1,0 a 2,0 μm de comprimento, ocorrendo isolada ou em pares, raramente em cadeias pequenas.

No meio ambiente esse microrganismo é encontrado em drenagem ácida de minas e em outros locais de elevada acidez, onde minerais como a pirita, o mais abundante de todos os sulfetos minerais, são utilizados como fonte de energia (JOHNSON & HALLBERG, 2003; NOVELLO, 2008).

Como já salientado anteriormente, a energia para manutenção e crescimento dessa bactéria provém da oxidação de compostos de ferro e enxofre, sob condições ácidas, como pode ser observado na equação a seguir:



Quando esse microrganismo utiliza seu principal substrato (íon ferroso) sua energia provém da reação oxidativa. A oxidação do íon ferroso ocorre no espaço periplasmático da membrana celular em pH ácido (1,5 a 2,0) enquanto que a redução do oxigênio no interior da membrana ocorre em pH 6,5 (QUATRINI *et al.*, 2005).

Outra característica fisiológica marcante de *A. ferrooxidans* é a sua generalizada tolerância a altas concentrações de íons metálicos, inclusive metais pesados (OLIVER *et al.*, 1997; RAWLINGS, 2005), o que provavelmente é condicionada por um sistema genético altamente especializado e pode ser atribuída à presença constante de metais no próprio habitat da bactéria.

II. 3.1.2. *Acidithiobacillus thiooxidans*

A bactéria *A. thiooxidans* foi isolada em 1922 por Waksman e Joffe e ficou conhecida pela sua velocidade em oxidar o enxofre elementar. A oxidação do enxofre a ácido sulfúrico por *A. thiooxidans* foi proposto com base na enzima oxidante de enxofre e no sistema enzimático oxidante de sulfetos como segue as respectivas reações (CHANDRAPRABHA & NATARAJAN, 2006):



Esse microrganismo tem demonstrado um considerável potencial na biolixiviação, pois o fato de oxidar compostos contendo espécies de enxofre reduzido, provocam uma diminuição nos valores de pH do meio, que pode chegar até 0,5, devido a elevada produção de ácido sulfúrico. Essa produção de ácido não somente é capaz de promover o ataque protônico sobre o mineral e assim manter o íon férrico estável (SCHIPPERS & SAND, 1999), como pode realizar a decomposição das rochas, solubilizando, dessa maneira, compostos metálicos (BOSECKER, 1997; CHAN *et al.*, 2003).

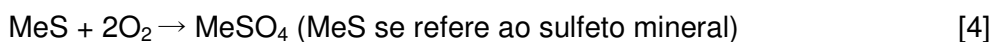
Na literatura são encontrados poucos trabalhos relacionados a esse microrganismo em culturas puras, a maioria se trata de consórcios bacterianos. Nesse caso acredita-se que o papel de *A. thiooxidans* seria o de remover a camada de enxofre da superfície dos minerais presentes nos meios de lixiviação, tornando esses substratos mais acessíveis aos lixiviantes do meio, incluindo-se as bactérias (BEVILAQUA *et al.*, 2002).

II. 3.2. Mecanismos de biolixiviação

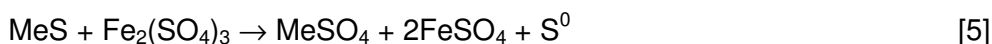
A interação dos microrganismos com a interface dos sulfetos ainda gera muita controvérsia entre os pesquisadores, sendo que alguns defendem que a interação ocorra de forma direta enquanto outros de forma indireta.

Dessa forma atualmente são descritos três mecanismos que podem aumentar a taxa de lixiviação de metais a partir de sulfetos minerais: mecanismo direto, mecanismo indireto e mecanismo de contato indireto.

O mecanismo direto implica no contato físico entre as células bacterianas e a superfície do sulfeto mineral. Para tanto, ocorre o ataque enzimático do microrganismo sobre o mineral. Nesse mecanismo, a bactéria extrai elétrons diretamente do mineral e assim esses elétrons são transferidos ao oxigênio,ceptor final (BOSECKER, 1997; SUZUKI, 2001; WATLING, 2006). O mecanismo direto pode ser então descrito pela seguinte reação:



No mecanismo indireto, o ataque mineral não ocorre por reações enzimáticas e sim pela ação dos íons Fe^{3+} (poderoso agente oxidante de sulfetos minerais, reação [5]), o qual é reciclado pela bactéria para obtenção de energia (reação [1]). Neste caso, a bactéria tem somente a função catalítica, pois gera um lixiviante que oxida quimicamente o sulfeto mineral (SCHIPPERS & SAND, 1999; ROHWERDER *et al.*, 2003).



O mecanismo de contato indireto somente foi proposto por alguns autores após a descoberta da substância polimérica extracelular (EPS). Essa substância excretada pela bactéria é a que se adere na superfície do mineral e possivelmente contribui para o ataque bacteriano e uma subsequente dissolução do sulfeto mineral (CRUNDWELL, 2003). O ferro contido no EPS confere carga positiva à célula, estabelecendo atração eletrostática entre a célula bacteriana e a superfície negativamente carregada de alguns minerais (SAND, *et al.*, 1995; RODRÍGUEZ *et al.*, 2003). Portanto, o mecanismo de contato direto consiste basicamente na aderência bacteriana ao mineral oxidando os íons Fe^{2+} dentro do biofilme, formado pela própria bactéria e o material exopolimérico que ela produz, e os íons Fe^{3+} lixiviam o metal dentro desta camada exopolimérica.

II. 4. Parâmetros que influenciam a biolixiviação dos minerais

II. 4.1. Granulometria do minério

A redução do tamanho da partícula associada ao aumento da área superficial específica proporciona maior disponibilidade de substrato ao ataque bacteriano e químico, esse fato, portanto, provoca um aumento da taxa de lixiviação (DUTRIZAC, 1981; MAJIMA *et al*, 1985)

II. 4.2. Tipo de microrganismo envolvido

A biolixiviação também é influenciada pela natureza da flora microbiana presente na mina e vários são os microrganismos envolvidos nesse processo. A ação dos mesmos depende das características do meio lixiviante, pH, temperatura, concentração de íons metálicos e tipo de fonte energética presente.

Vale destacar que as bactérias capazes de atacar os sulfetos minerais são acidofílicas e se classificam de acordo com a temperatura em que crescem e se desenvolvem. Dentre elas a *A. ferrooxidans* é a mais utilizada, pelo fato de tolerar altas concentrações de metais, baixos níveis de pH, viver em temperatura ambiente (~30 °C) e utilizar como fonte energética substratos inorgânicos (Fe^{2+} ou formas reduzidas de enxofre, incluindo os sulfetos metálicos) (SCHIPPERS, 2007).

A quantidade de células parece também afetar diretamente a velocidade de solubilização de metais, isso porque em um dado tempo de processo uma população adequada de microrganismos permitiria que os sítios de reação do mineral fossem plenamente ocupados, favorecendo maior extração do metal (ROHWERDER *et al*, 2003).

II. 4.3. Influência da Adição de Nutrientes

Do ponto de vista econômico e biológico é necessário identificar as exigências mínimas de nutrientes na solução lixiviante para a obtenção de um meio favorável à atividade microbiana. De acordo com Daoud e Karamanev

(2006) a adição de certos nutrientes na solução lixiviante pode causar diminuição da taxa de lixiviação devido à formação de precipitados sobre a superfície do mineral, diminuindo a superfície de contato do mesmo com o microrganismo. Os íons férricos são um exemplo clássico desse fato, pois embora conhecida sua ação oxidante, tendo sua presença comprovado efeito acelerador na oxidação de sulfetos, o mesmo pode ser nocivo no processo quando em excesso, pois precipitaria sobre a superfície do minério impedindo a oxidação química e biológica.

As plantas industriais evitam a adição de nutrientes e tentam usar o próprio minério para prover tal necessidade ao crescimento microbiano, pois, dessa maneira, é possível prevenir a precipitação de sólidos que prejudicam o processo de lixiviação (XIA *et al*, 2008)

II. 4.4. Temperatura

A temperatura é um dos fatores que interferem ativamente no processo de biolixiviação, pois a mesma influencia não somente na degradação do minério, quando em altas temperaturas, mas também no crescimento e desenvolvimento do microrganismo o qual é classificado, principalmente, em mesófilo, termófilo moderado e termófilo extremo, como dito anteriormente.

II. 4.5. pH

O pH pode variar dependendo da fonte de energia utilizada pelo microrganismo e da ganga mineral associada, entretanto, é possível afirmar que a água de minas é sempre ácida em função de uma solução aquosa gerada quando minerais sulfurados, presentes em resíduos de mineração, são oxidados em presença de água. Tal solução age como agente lixiviante dos minerais presentes no resíduo, produzindo um percolado ácido (H_2SO_4) rico em metais dissolvidos.

Deste modo, grande parte dos autores afirma que o pH ótimo para o crescimento das bactérias presentes em minas, especialmente a *A. ferrooxidans*, está em uma faixa entre 1,0 e 2,5.

II. 4.6. Potencial Redox (Eh)

O potencial redox é definido como o potencial reversível de um eletrodo de oxidação-redução medido contra um eletrodo de referência, corrigido ao eletrodo de hidrogênio, em um determinado eletrólito. Esse potencial expressa, em volts, as condições de equilíbrio entre espécies iônicas, de um mesmo elemento, em meio aquoso (ATKINS & JONES, 2006).

Para se obter potenciais de eletrodos se atribui um valor arbitrário a um deles, que se toma como referência. Os demais são medidos verificando-se a diferença de potencial que adquirem quando ligados ao eletrodo de referência. O sinal depende do sentido em que ocorre a reação do eletrodo. Por convenção, os potenciais de eletrodo se referem a semi-reação de redução. O potencial é considerado positivo quando a reação que ocorre no eletrodo (em relação ao de referência) é a redução, e negativo quando é a oxidação. O eletrodo mais comum que se toma como referência para tabular os potenciais de eletrodo é o par $H^+(aq., 1M)/H_2$ (1 atm), que se denomina eletrodo de referência ou normal de hidrogênio, o qual possui valor = 0 Volt (BOON, 1996).

Esse parâmetro em um processo de biolixiviação é um indicativo da capacidade oxidante do meio e, além do metabolismo celular, afeta diretamente a solubilização de metais que ocorre por ação do Fe^{3+} e da bactéria. A lixiviação férrica dos sulfetos, mais especificamente calcopirita e bornita, é, também, uma função dessa razão dos íons de ferro. Embora haja um volume substancial de dados publicados sobre a lixiviação férrica de sulfetos metálicos, a velocidade de lixiviação tem sido raramente relacionada ao potencial redox.

Entretanto, Lundgren e Silver (1980) observaram que durante a lixiviação bacteriana o Eh não ultrapassa o valor teórico de 747 mV limite do equilíbrio Fe^{2+}/Fe^{3+} em solução aquosa a 25 °C.

II. 5. Cobre

O cobre é o metal usado desde épocas bem remotas, quer sob a forma pura, quer combinado ao estanho, constituindo o bronze (Idade do cobre e do bronze: 2.000 a 750 a.C., Europa central).

Inicialmente o cobre foi utilizado como ferramenta de trabalho, armas e objeto de decoração, tornado-se assim, pela sua resistência, uma descoberta fundamental na história da evolução humana (ALVARADO *et al.*, 1999). Os Romanos designaram o cobre com o nome de "*Aes Cyprium*", o Metal de Cyprus, já que a Ilha de Cyprus (Chipre) foi uma das primeiras fontes do metal. Com o tempo, o nome se transformou em "*Cyprium*" e depois em Cuprum, originando o símbolo químico Cu (ALEXANDER & STREET, 1972).

Historiadores afirmam que as primeiras descobertas importantes do cobre deram-se na área compreendida entre os rios Tigre e Eufrates, ao Norte do Golfo Pérsico. Nesta área, considerada como o lugar da primeira civilização do mundo, foi encontrado objetos de cobre de mais de 6.500 anos. Apesar de sua antigüidade, o cobre apresentou um papel predominante na evolução da humanidade, sendo utilizado em todas as fases das revoluções tecnológicas pelas quais o ser humano já passou.

O fato de se ter encontrado objetos de cobre tão antigos em diversos lugares do mundo é prova das propriedades únicas do metal como: durabilidade, resistência à corrosão, maleabilidade, ductabilidade e fácil manejo. Esse metal é utilizado em quase todos os campos de atividade humana e, em especial, nas indústrias automobilísticas, na telefonia, nos eletroeletrônicos, como geladeiras, equipamentos de ar condicionado, computadores, telefones celulares e televisões, além de nossa rede elétrica e nas tubulações de água quente e fria.

O cobre ocorre tanto no estado nativo (100% Cu), quanto constituindo óxidos e sulfetos como a calcocita (Cu_2S , ~79% Cu), covelita (CuS , ~66% Cu), bornita (Cu_5FeS_4 , ~55-69% Cu) e calcopirita (~34% Cu) o qual é atualmente o mais abundante e importante minério de cobre (ABREU, 1973). A indústria de transformação do cobre tem início a partir do minério, cuja extração se dá a céu aberto ou em galerias subterrâneas. Com um teor metálico que varia normalmente entre 0,5% e 2,5%, o minério é submetido à britagem, moagem, flotação e secagem, obtendo-se o concentrado. A partir dessa etapa, dependendo do teor de cobre, aplica-se ou a pirometalurgia ou a hidrometalurgia e para concentrações muito baixas utiliza-se o processo biohidrometalúrgico (ANDRADE *et al.*, 2001).

Um dos primeiros registros da produção mineira de cobre ocorreu no ano 1750 (Tabela 3). Esse ano marca o início de um processo de expansão econômica que se baseou na ciência e na inovação tecnológica. Essa revolução teve início no Reino Unido, e então se espalhou gradualmente para o resto da Europa e da Norte América e ao longo dos últimos 50 anos na maior parte da Ásia e América Latina.

Tabela 3: Produção de cobre no mundo (RADETZKI, 2009)

Ano	Kilotoneladas	Crescimento por ano	Principais países produtores (parte %)
1750	10		China 70, Europa 30
1800	15	0,8	Europa 53, China 47
1850	53	2,6	UK 23
1900	490	4,5	EUA 56, Espanha 11
1910	890	6,1	EUA 56, México 6
1920	960	0,8	EUA 58, Chile 10
1930	1540	4,8	EUA 42, Chile 14, Canadá 9
1940	2360	4,4	EUA 34, Chile 16, Canadá 13
1950	2490	0,5	EUA 33, Chile 15, Zâmbia 11
1960	4420	5,9	EUA 22, Zâmbia 13, Chile 12
1970	6340	3,7	EUA 25, USSR 15, Chile 11
1980	7740	2,0	EUA 15, Chile 14, USSR 13
1990	8990	1,5	Chile 18, EUA 18, USSR 10
2000	13230	3,9	Chile 35, EUA 8, Peru 7
2007	15520	2,3	Chile 36, Peru 8, EUA 8

No Brasil, em 1874, foi descoberta a mina Caraíba, no sertão da Bahia. Somente após 70 anos é que foram iniciados os trabalhos de prospecção. Em 1969, o empresariado brasileiro, sob a liderança do Grupo Pignatari, estabeleceu uma planta de metalurgia em Dias D'Ávila, Bahia, para a produção de cobre eletrolítico. No início da década de 80, a Caraíba começou a produzir cobre eletrolítico e, no final da década, em 1988, ocorreu o desmembramento entre a mina e a planta de metalurgia, com a privatização desta última, que adotou o nome de Caraíba Metais (ABREU, 1973).

Atualmente o cobre é apenas o terceiro metal mais usado, atrás do ferro e do alumínio, sendo que este último ultrapassou o cobre somente nas últimas

décadas, após a Segunda Guerra Mundial. Diversos fatores podem explicar esse fenômeno, mas provavelmente o mais consistente está relacionado com o custo, uma vez que o cobre está presente na crosta terrestre em quantidades muito menores do que o ferro e o alumínio. Entretanto, para determinadas aplicações, o cobre comercialmente puro e as ligas de cobre ainda são insuperáveis, devido às suas características físicas e químicas muito peculiares, podendo destacar as indústrias de fios e cabos elétricos, que absorvem mais de 50% do metal, sendo o restante utilizado em ligas especiais, tubos e laminados.

Admite-se a existência de cerca de 650 milhões de toneladas de cobre contidos em jazidas conhecidas, estando disseminadas em muitas localidades no mundo como: Chile, Estados Unidos, Canadá, Rússia, China e Zâmbia. Entretanto, apresentam grande concentração nos Estados Unidos (13,9%) e no Chile (24,6%) que por sinal é maior produtor mundial, respondendo por 35% da produção de cobre contido em concentrado. Ressalta-se o crescimento da produção desse metal no Chile, no Peru, na Indonésia e na Austrália nos últimos dez anos, países que juntamente com o Estados Unidos se tornaram líderes na produção de concentrado de cobre (ANDRADE, *et al.*, 2001).

Países de relevância econômica, tais como China, Estados Unidos, Japão, Alemanha, Coreia do Sul, Itália, Rússia e França estão entre os principais usuários desse metal (GRAEDEL *et al.*, 2002).

O mercado mundial de cobre em 1997 sofreu uma queda excessiva de lucro que permaneceu até o fim de 2003. Porém, em 2004 esse fato foi revertido pela escassez da matéria prima, principalmente por causa da exaustão de jazidas e limitação das unidades produtivas. Dessa forma, em 2007 o cobre atingiu o preço recorde de cerca de 8,800 dólares por tonelada. Em função da escassez, analistas vem observando sinais de transferência de capital especulativo para o mercado de metais, fato que pode contribuir para manter os preços elevados (RADETZKI, 2009).

Ainda no ano de 2007 o consumo mundial de cobre refinado somou um total de 18 milhões de toneladas. Com a população mundial sendo um pouco maior que 6 bilhões, pode-se dizer que isso corresponde a cerca de 3 kg de cobre por pessoa. Esse foi um ano excepcional para a maioria das

commodities, com preços muito inflacionados e altos níveis de lucro. O preço médio do cobre foi de 7,130 dólares por tonelada (CROWSON, 2008).

No Brasil as reservas somam cerca de 11,9 milhões de toneladas de metal contido, representando 1,8% do total mundial. Um dos principais projetos de cobre está localizado na mina de Sossego, operada pela Companhia Vale (CV). Segundo essa companhia, a usina de Sossego pode produzir cerca de 500 mil toneladas de concentrado de cobre por ano. Na retrospectiva dos 65 anos da Cia Vale, publicada por Reis (2007) sobre os números financeiros e operacionais alcançados pela Cia Vale do Rio Doce ao longo de sua história, são citados os investimentos em diversos setores minerais, sobretudo na área do cobre, onde a empresa aplicou US\$ 413 milhões no complexo de Sossego.

O progresso tecnológico e científico da humanidade fez com que o consumo de cobre fosse vinte vezes mais alto no último quarto do século passado que no primeiro, isso demonstra a enorme aplicabilidade e variabilidade de um metal que apresenta frequentemente novos usos e aplicações (ALVARADO *et al.*, 1999).

II. 6. Calcopirita

A calcopirita é o mineral de cobre mais amplamente distribuído e uma das principais fontes de obtenção desse metal. A fórmula química da calcopirita é CuFeS_2 , porém a representação mais adequada para a fórmula química da calcopirita seria $\text{Cu}^+ \text{Fe}^{3+} \text{S}_2^{2-}$, destacando que o cobre neste mineral está principalmente no estado cuproso, enquanto que o ferro está predominantemente no estado férrico (BOEKEMA *et al.*, 2004; MIKHLIN *et al.*, 2004; CÓRDOBA *et al.*, 2008; PRADHAN *et al.*, 2008).

A estrutura cristalina desse sulfeto mineral é tetragonal, sendo que cada átomo de enxofre é rodeado por dois átomos de cobre e dois de ferro, de forma que os íons de cobre e ferro ocupem posições alternadas ao longo do eixo Z (BETEJTIN, 1977; SAND *et al.*, 2001; CÓRDOBA *et al.*, 2008) como pode ser visto na Figura 3. As distâncias interatômicas para cobre-enxofre e ferro-enxofre são 230,2 pm e 225,7 pm, respectivamente.

As ligações na calcopirita são essencialmente covalentes, com átomos fluando entre dois estados iônicos: $\text{Cu}^+ \text{Fe}^{3+} \text{S}_2^{2-}$ e $\text{Cu}^{2+} \text{Fe}^{2+} \text{S}_2^{2-}$, modelo que

foi confirmado com emprego de espectroscopia de Mössbauer (HABASHI, 1978).

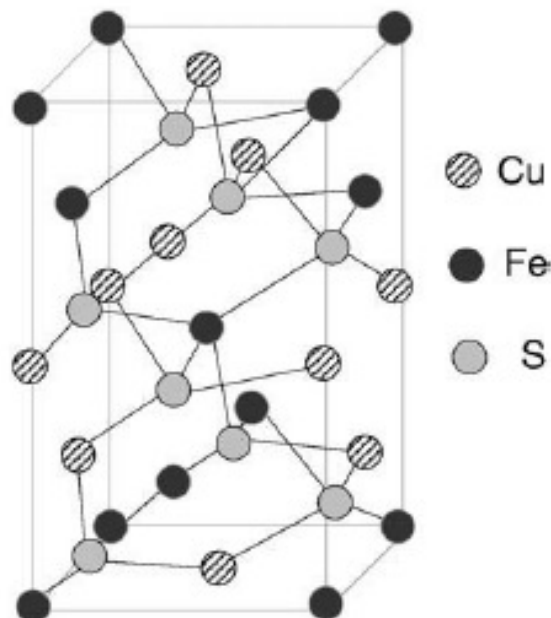
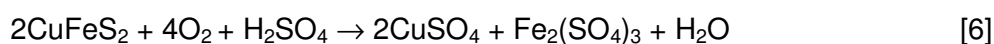


Figura 3: Estrutura cristalina da calcopirita (BETEJTIN, 1977)

Embora a calcopirita esteja classificada como um mineral solúvel em meio ácido, é o mais refratário ao ataque químico e bacteriano, sendo necessário, para se obter recuperações aceitáveis de cobre desse sulfeto, o uso de altas temperaturas e pressão em autoclaves.

No entanto, o processo de dissolução desse sulfeto via biolixiviação tem sido um dos mais estudados. Sua dissolução ocorre em uma primeira etapa pelo ataque bacteriano (equação [6]) e em seguida por um ataque químico (equação [7]).



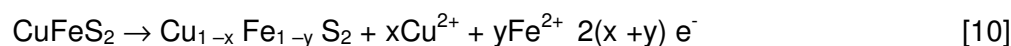
Durante o ataque da bactéria (equação [6]) ocorre a formação sulfato férrico o qual oxida calcopirita, solubilizando mais cobre e produzindo ferro II e enxofre elementar (equação [7]). Logo, o Fe^{2+} e S^0 são oxidados pela bactéria produzindo Fe^{3+} e H_2SO_4 (equações [8] e [9], respectivamente).



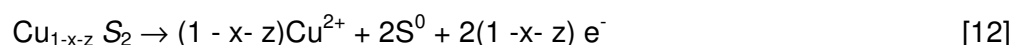
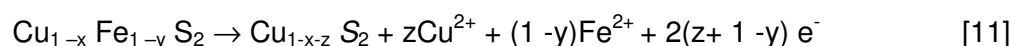
A refratariedade da calcopirita provoca, assim, uma cinética de oxidação lenta. Esse fato pode estar associado a alta energia de formação da rede cristalina do sulfeto ($\sim 17000 \text{ KJ/mol}$) bem como à formação de um filme passivo que limita a reação de dissolução com o meio lixiviante (HACKL *et al.*, 1995; VILCÁEZ *et al.*, 2008).

A camada passivadora e as condições nas quais ela é formada têm sido investigadas, porém a natureza desta camada ainda não foi totalmente esclarecida (STOTT *et al.*, 2000; KLAUBER, 2003; KLAUBER, 2008). Entretanto, alguns autores afirmam que formação desse filme pode ser atribuída principalmente a formação de polissulfetos, enxofre elementar e ainda de precipitados de ferro (jarositas).

Hackl *et al.* (1995), após realizar um estudo cinético da lixiviação da calcopirita em meio contendo sulfato, propôs uma seqüência de reações que poderiam justificar a passivação desse sulfeto durante sua oxidação.



$$y \gg x \text{ e } x+y \sim 1$$



Inicialmente ocorre uma rápida reação a qual forma uma fase de dissulfetos intermediários $\text{Cu}_{1-x} \text{Fe}_{1-y} \text{S}_2$ (equação [10]). A segunda reação de oxidação (equação [11]) ocorre mais lentamente formando um polissulfeto de cobre, $\text{Cu}_{1-x-z} \text{S}_2$, também expressado como CuS_n onde $n=2/(1-x-z)$, esta fase é vista como o início da passivação da calcopirita. Em seguida, ocorre uma lenta decomposição do polissulfeto de cobre à íons Cu^{2+} e enxofre elementar como pode ser observado na equação [12]. O enxofre elementar é considerado um dos participantes do filme passivo, pois o fato de ser pouco poroso limita a razão de difusão reagente/produto (HACKL *et al.*, 1995; NAVA *et al.*, 2008).

Vale enfatizar que apesar de estudos terem comprovado que o Fe^{3+} atua como agente oxidante da calcopirita, em condições em que o pH do meio é

acima de 1,8 e a concentração desse íon é elevada, se inicia o processo de passivação na superfície do mesmo, devido a formação de compostos intermediários da reação, principalmente precipitados de ferro como as jarositas (BALLESTER & CÓRDOBA, 2005).

Mais recentemente Klauber (2008) afirmou que o filme formado sobre a superfície da calcopirita não pode ser denominado como “filme passivante”, visto que a dissolução desse sulfeto não é completamente bloqueada e sim dificultada por alguns produtos da oxidação da calcopirita. Esse mesmo autor contestou o fato dos polissulfetos serem um dos fatores que prejudicam a solubilização da calcopirita, pelo fato dos estudos realizados até o momento não utilizarem técnicas específicas e conclusivas para identificação dessas substâncias. O autor propõe ainda que a camada de enxofre e as jarositas são os principais fenômenos responsáveis pelo bloqueio da oxidação da calcopirita.

Dessa forma foi sugerido um modelo de dissolução da calcopirita em quatro estágios (Figura 4): 1° - Esse estágio é dependente do tipo de tratamento prévio que é realizado com a calcopirita antes de se iniciar o processo de dissolução da mesma. O fato desse mineral ter um alta energia de ativação provoca uma baixa velocidade de reação inicial que dificulta a dissolução desse em um primeiro instante. No 2° estágio conforme ocorre a oxidação da calcopirita há a formação de enxofre que se deposita sobre a superfície do mineral diminuindo ainda mais a velocidade de reação. O fato da camada de enxofre possuir certa mobilidade facilita, em um 3° estágio, o contato da solução lixiviante com a superfície do mineral, provocando a solubilização da calcopirita ainda que seja limitada. No estágio final (4°) a presença de íons férricos e o aumento do valor de pH (~2) provoca a precipitação de jarosita que reduz a área superficial da calcopirita e impede a dissolução da mesma. Entretanto, a ausência desses íons férricos em solução e o controle do pH poderia impedir a precipitação da jarosita, o que possivelmente aumentaria a dissolução do mineral, não garantindo que essa solubilização seja 100% (KLAUBER, 2008).

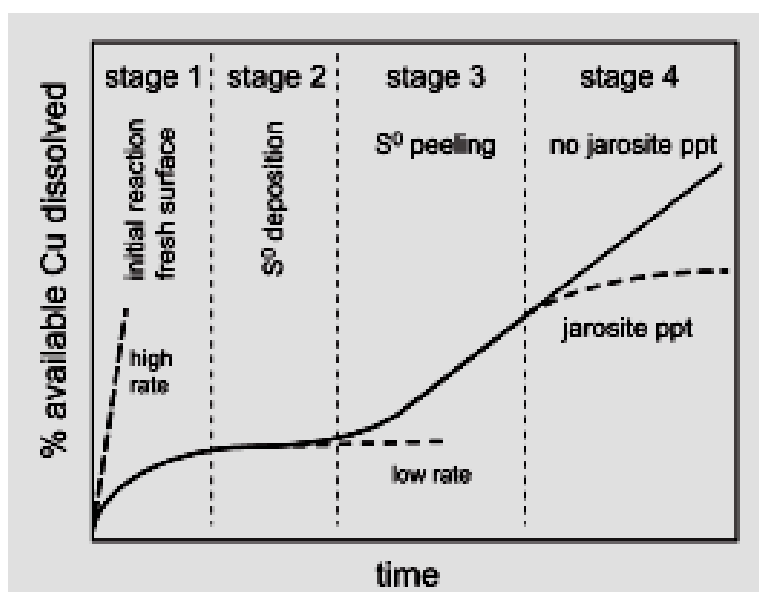


Figura 4: Modelo de dissolução da calcopirita proposto por Klauber (2008).

Portanto, para que se possam obter melhores resultados na recuperação de cobre da calcopirita, é necessário realizar estudos que envolvem mecanismos e cinética da lixiviação desse sulfeto bem como utilizar meios que possam impedir a formação desses produtos.

II. 7. Jarositas

As jarositas são precipitados comumente encontrados em sistemas de biooxidação de sulfetos minerais como a pirita, calcopirita, arsenopirita entre outros. A formação dos mesmos provoca um efeito negativo no processo de biolixiviação, pois reduz a área superficial do mineral, com conseqüente diminuição do contato entre este, a lixívia e a bactéria.

Esses precipitados pertencem ao grupo alunita-jarosita, cuja fórmula geral é $AB_3(OH)_6(SO_4)_2$, no qual B é ocupado pelo Fe^{3+} nas jarositas e por Al^{3+} nas alunitas. Já o sítio A pode ser ocupado pelos cátions K^+ , Na^+ , H_3O^+ , NH_4^+ . Segundo Scott (1990) o Fe^{3+} pode ser substituído por Cu^{2+} e Zn^{2+} e o grupo aniônico SO_4^{2-} por AsO_4^{3-} , PO_4^{3-} , SbO_4^{3-} entre outros grupos protonados. Esse precipitado apresenta uma estrutura hexagonal e as dimensões da célula unitária podem variar de acordo com a composição química, sendo essa variação dependente dos diferentes cátions presentes no sítio A (Figura 5).

Nesta estrutura o ânion sulfato forma tetraedros à medida que os íons Fe^{3+} forma octaedros com quatro oxigênios dos grupos OH e do SO_4^{2-} . Os cátions do sítio A se encontram localizados entre duas camadas que são formadas pelos tetraedros do ânion sulfato os quais estão coordenados por 6 átomos de oxigênio e 6 grupos OH (PAPIKE *et al.*, 2006; AGUIRRE, 2006)

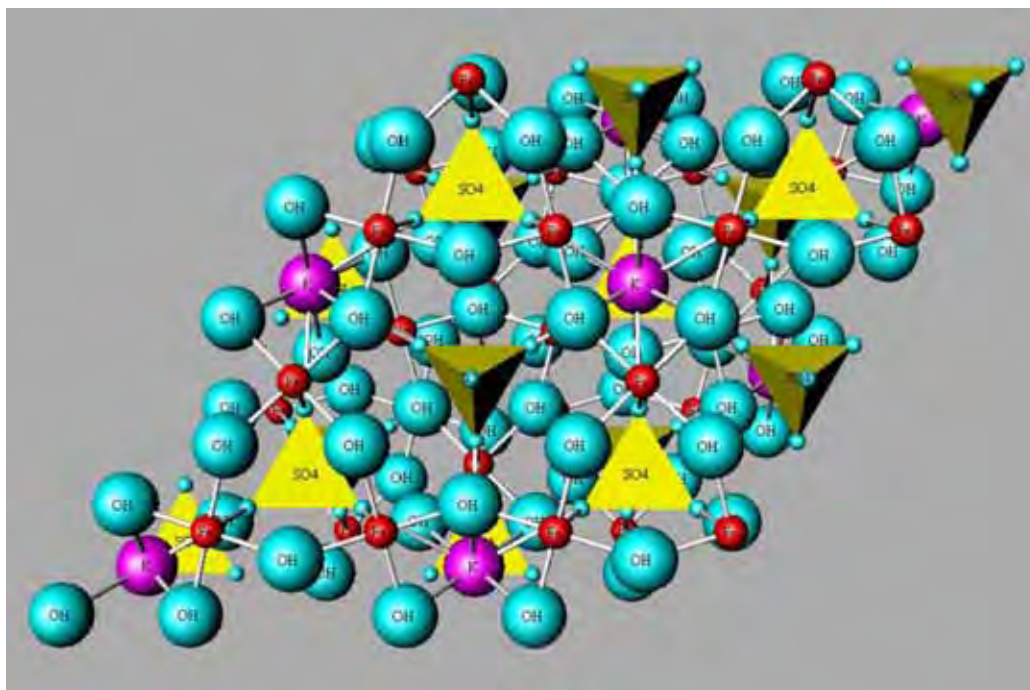


Figura 5: Esquema da estrutura cristalina da jarosita (PAPIKE *et al.*, 2006).

Ivarson (1973) comprovou a formação da jarosita na presença de microrganismos, em especial *A. ferrooxidans*, e propôs que a mesma era composta em sua maioria por hidróxi-sulfato de ferro, cuja precipitação ocorre como segue a reação:



Sendo A: K^+ , Na^+ , H_3O^+ , NH_4^+ .

Essa reação ocorre a partir da oxidação dos íons ferrosos, pela ação bacteriana (equação [1]), em meio contendo sulfato. Durante esse processo de oxidação ocorre o consumo de íons hidrogênio (H^+) e o conseqüente aumento do pH do meio; porém, esse aumento de pH é contrabalançado pela hidrólise

do íon férrico como pode ser observado nas equações [14] à [16] (GRISHIN'T *et al.*, 1988, STOOT *et al.*, 2000; JIANG & LAWSON, 2006, DAOUD & KARAMANEV, 2006).



Fica visível, portanto, que a formação da jarosita é dependente de vários fatores, dentre os quais se destacam o pH, temperatura e a concentração de íons férricos presentes no meio. Pode-se dizer que as condições ótimas para produção das jarositas é pH ~2 e temperatura em torno de 35°C, na presença de microrganismo oxidante de ferro (KLAUBER, 2008; LEAHY & SCHWARZ, 2009).

Diante desse fato muitos pesquisadores, em especial Dutrizac e colaboradores (KLAUBER, 2008), tem estudado profundamente as propriedades desse precipitado com o intuito de propor métodos para solubilizar ou até mesmo, impedir a formação das jarositas durante o processo de oxidação dos sulfetos em meio contendo sulfato. Uma das alternativas seria elevar a acidez do meio de biolixiviação ou ainda adicionar a esses meios agentes complexantes de ferro.

II. 8. Ácidos orgânicos

A utilização de ácidos orgânicos pode ser uma alternativa para que se possa impedir a formação de jarositas e até mesmo solubilizá-las. Alguns autores têm conduzido estudos com intuito de verificar o papel desses ácidos na melhoria da dissolução de minérios, isso porque os mesmos agem como agentes complexantes de ferro impedindo assim a precipitação de jarositas sobre a superfície dos minérios (HUANG & KELLER, 1970, MANLEY & EVANS, 1986, DREVER & STILLINGS, 1997).

No presente trabalho foi utilizado o ácido cítrico e o oxálico como agentes complexantes do íon férrico para impedir a formação de precipitados e assim promover a dissolução do mineral em questão. Dessa forma, serão

discutidos a seguir, alguns aspectos desses dois ácidos orgânicos, relacionados com este estudo.

II. 8.1. Ácido cítrico

A formação de complexos de coordenação envolvendo os íons Fe (II) e Fe (III) e o ligante citrato são pouco descritos na literatura. Os trabalhos enfatizam a complexidade da química de coordenação do sistema ferro-citrato com relação à variedade de espécies que podem ser formadas em solução (muitas vezes em equilíbrio) dadas as proporções estequiométricas dos reagentes e o pH do meio. Dessa forma as espécies químicas, em grande parte não são claramente definidas e por consequência, raros estudos demonstram o comportamento desses compostos em solução mostrando-se em alguns pontos contraditórios (FIELD, *et al.*, 1974, KÖNIGSBERGER *et al.*, 2000).

O ácido cítrico representado como H₃Cit apresenta três hidrogênios ionizáveis associados a grupos carboxílicos (Figura 6): pK₁= 3,13; pK₂=4,76; pK₃=6,40, no entanto, sob algumas condições o grupo hidroxílico pode também ser ionizado (pK₄=12,4), dessa forma, o citrato é bastante versátil no que diz respeito a sua coordenação aos íons metálicos gerando estruturas bastante diversificadas.

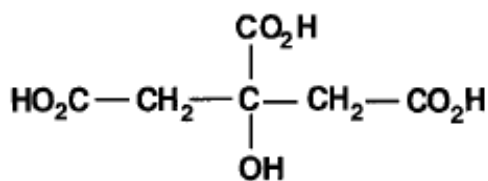


Figura 6: Forma estrutural do ácido cítrico (PIERRE & GAUTIER-LUNEAU, 2000).

A desprotonação do ácido cítrico ocorre gradualmente a partir do pH 1,5 a 7,5 conforme demonstrado pelas curvas de distribuição as quais relacionam a porcentagem de espécies de ácido cítrico em função do pH do meio (Figura 7) evidenciando que a formação de complexos de coordenação envolve a interação dos íons metálicos como Fe(II) e Fe(III) apenas com os grupos carboxílicos (KÖNIGSBERGER *et al.*, 2000).

Segundo o mesmo autor quantidades significantes de Fe(III) livre ocorre apenas em valores de $\text{pH} < 1,6$ em baixas concentrações de ácido cítrico enquanto que o Fe(II) livre, por sua vez, é evidenciado em valores de $\text{pH} < 2,0$ para qualquer concentração do ligante. Estudos potenciométricos conduzidos em meio ácido revelaram as espécies mononucleares de citrato Fe(II): $[\text{Fe}(\text{citH}_2)]^+$ e $[\text{Fe}(\text{citH})]$ obtidas na presença de um excesso de ácido cítrico (PIERRE & GAUTIER-LUNEAU, 2000).

Em um estudo bastante detalhado (GAUTIER-LUNEAU *et al.*, 2005) foi caracterizada, a partir das técnicas Espectrometria de Massas por Eletrospray e Difração de Raios X de monocristal, uma grande quantidade de complexos de citrato Fe(III) obtidos variando-se as condições experimentais usadas para a preparação desses compostos como pH, temperatura e concentração dos reagentes. Como exemplo pode-se citar a espécie dinuclear $[\text{Fe}_2(\text{cit})_3]^{3-}$ obtida em uma estreita faixa de pH entre 1,7-2,0 e a partir de proporções distintas de Fe:H₃Cit, na presença de neocuproína (base).

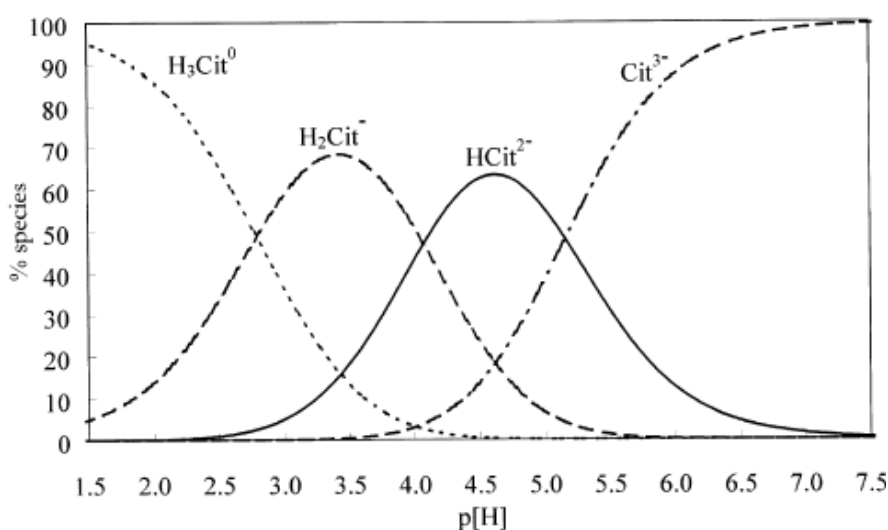


Figura 7: Distribuição das espécies do ácido cítrico (KÖNIGSBERGER *et al.*, 2000).

II. 8.2. Ácido oxálico

O ácido oxálico é um ácido dicarboxílico que apresenta somente dois hidrogênios ionizáveis pK_1 1,23 e pK_2 4,19 (Figura 8). O valor de pH de uma solução governa a distribuição de vários íons de oxalato em um sistema de coordenação. Valores de pH abaixo de 1,2 o ácido oxálico se apresenta,

principalmente, na forma $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, em valores de pH entre 2,0 e 3,0 a espécie predominante é HC_2O_4^- (SHU-XIN *et al.*, 2007).

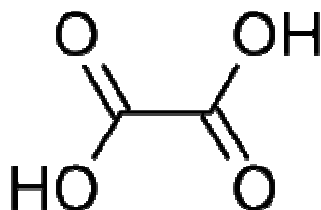


Figura 8: Forma estrutural do ácido oxálico (EDWARDS & RUSSELL, 1998).

A coordenação do oxalato ao íon férrico e ao íon ferroso não é somente governada pelo pH, mas também dependente da concentração de oxalato (PANIAS *et al.*, 1996). Os oxalatos de íon férrico, assim como os citratos coordenados ao mesmo metal possuem diversidade estrutural. Em soluções com $\text{pH} \leq 2,5$ e uma concentração de $\sim 0,1\text{M}$ de oxalato a espécie predominante de Fe(III)-oxalato é $[\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3]^{3-}$ (LEE *et al.*, 2007).

A diversidade estrutural dos complexos de ferro II é da mesma forma, bem relatada na literatura. Compostos mono e bioxalatos; polímeros nos quais podem ser identificados unidades FeC_2O_4 repetidas e outras espécies com mais de um núcleo de ferro, são bem caracterizadas. Em solução, porém a variedade desses compostos é restrita. Lee *et al.*, (2006), discutiu a respeito do efeito do pH sobre as espécies de íons Fe (II)-oxalato em solução. Em soluções fortemente ácidas os íons ferrosos permanecem livres enquanto que em um valor de pH superior à 2,5 a totalidade dos íons ferrosos está coordenada, formando complexos do tipo $[\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_2]^{2-}$ além de uma quantidade negligenciável de espécies do tipo $[\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_2]^{4-}$ e $[\text{Fe}(\text{OH})^+]$.

II. 9. Íons cloreto

Diante dos problemas enfrentados na dissolução da calcopirita, estudos têm sido realizados com o intuito de favorecer a cinética da lixiviação desse sulfeto mineral. Para tanto, recentemente, a aplicação dos íons cloreto nos meios de lixiviação é uma das alternativas que mais tem recebido destaque.

Várias são as considerações para justificar as vantagens relacionadas ao efeito desses íons no processo de dissolução da calcopirita. Alguns autores propõem que o efeito acelerador dos íons Cl^- se deve a formação de complexos de Cl e Cu (WINAND, 1991;PUVVADA & MURTHY, 2000; SKROBIAN *et al.*, 2005; CARNEIRO & LEÃO, 2007), enquanto outros acreditam que é devido à mudança morfológica da camada de enxofre depositada sobre as partículas de calcopirita (LU *et al.*, 2000a).

Winand (1991) realizou um estudo a fim de verificar o papel da adição de NaCl na solução lixiviante de sulfetos de cobre, e pôde observar que a presença do NaCl resulta na melhoria da recuperação de metais devido ao aumento da formação de complexos de cobre e cloreto em solução. Desse modo foi feita uma revisão das possíveis espécies de complexos formados e pôde-se observar que os mesmos são dependentes da concentração de íons Cl^- em solução. Em altas concentrações de Cl^- na presença de íon Cu^{2+} são formados predominantemente CuCl_3^{1-} e CuCl_4^{2-} , enquanto que na presença dos íons Cu^+ CuCl_4^{3-} ou $\text{Cu}_2\text{Cl}_4^{2-}$. Em baixas concentrações de Cl^- com os íon Cu^{2+} forma-se CuCl^{1+} além de CuCl_2 e com os íons Cu^+ forma-se CuCl^{2-} e CuCl_4^{3-} .

Para Carneiro e Leão (2007), o aumento na velocidade de dissolução da calcopirita na presença de íons Cl^- está diretamente relacionado à formação do complexo solúvel CuCl_2 , que pode ser representado esquematicamente pela seguinte equação:



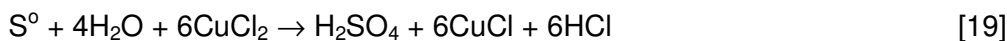
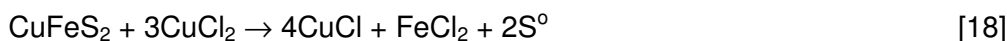
Além disso, como os íons cuprosos são estáveis em sistemas de Cl^- , o par $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$, ao invés de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, torna-se o principal oxidante da calcopirita.

Como dito anteriormente há outra vertente de pesquisadores que acreditam que os íons Cl^- modificam a morfologia da camada de enxofre depositada sobre as partículas de calcopirita. Esse fato foi sugerido por Lu, *et al.*, (2000a), que durante um estudo utilizando microscopia eletrônica de varredura (SEM), observaram que as imagens das partículas de calcopirita lixiviada na ausência de íons Cl^- foram completamente cobertas por um filme

de enxofre amorfo, enquanto que, para aquelas lixiviadas no meio de Cl^- , esse filme foi mais poroso e cristalino.

Em um estudo posterior de análise voltamétrica utilizando CPE calcopirita em soluções contendo íons Cl^- , esses mesmos autores observaram que os íons em questão afetam também a formação da espécie $\text{Cu}_{1-x}\text{Fe}_{1-y}\text{S}_2$ (equação [10]) (LU *et al.*, 2000b).

Skrobian *et al.*, (2005) foram também autores a concluir que a adição de NaCl ao meio de CuCl_2 acentua a taxa de lixiviação da calcopirita, tanto pela formação de complexos em solução quanto pela não formação de uma camada compacta na superfície das partículas do sulfeto mineral. Além disso, eles observaram que a adição desses íons somente ocasiona um aumento na recuperação de cobre metálico da calcopirita nos estágios iniciais, no entanto, nos estágios finais (após 150 horas) a velocidade de lixiviação diminui. As reações químicas que descrevem a lixiviação da calcopirita em solução de CuCl_2 podem ser representadas como:



Outro ponto importante relacionado aos íons cloreto e que provoca controvérsias na literatura é a influência da concentração dos mesmos na porcentagem de extração de cobre e na velocidade de lixiviação da calcopirita. Carneiro e Leão (2007) observaram que a recuperação de cobre aumentou de 45 para 55% com a adição de 500 mmol L^{-1} de NaCl e para 90% com concentrações $\geq 1 \text{ mol L}^{-1}$. Por outro lado Skrobian *et al.*, (2005) observaram que o aumento da concentração de NaCl é acompanhado pelo aumento na recuperação de cobre em soluções de CuCl_2 .

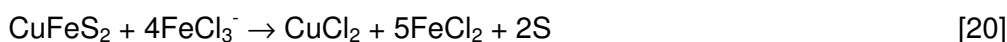
Com relação à influência da $[\text{Cl}^-]$ na cinética de lixiviação Lu *et al.*, (2000a) observaram que acima de 500 mmol L^{-1} de NaCl a mesma não muda. Winand (1991) já havia proposto que a velocidade de dissolução dos sulfetos minerais é dependente da concentração de íons Cl^- somente para concentrações menores que 1 mol L^{-1} .

Dentro deste contexto vários projetos foram desenvolvidos para o tratamento de calcopirita utilizando os íons cloreto, dentre eles se destacam os

processos CYMET, Cuprex, Cominco, Mintek, Outokumpu (recentemente nomeado Outotec Oyj Hydrocopper®), Intec e o CLEAR (desativada desde 1982, por problemas de contaminação com a prata) Minemet (Penarroya), CANMET, Elkem, USBM, Dextec. (PEACEY *et al.*, 2004; ABSOLON, 2008; AL-HARAHSEH *et al.*, 2008).

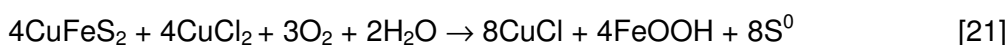
O mais recente processo que atingiu escala comercial é o Hydrocopper®, esse processo está localizado na Mongólia e consiste na utilização de cloreto cúprico como agente oxidante da calcopirita (equação [18]) (HYVARINEN & HAMALAINEN, 2005; LUNDSTROM *et al.*, 2005)

O processo CUPREX é um processo mais antigo que utiliza cloreto férrico para oxidar o cobre presente na calcopirita como mostrado na seguinte equação (HARAHSEH *et al.*, 2008):



Esse processo ocorre do seguinte modo: após a extração por solvente (SX), uma solução de CuCl_2 pura (ca. 100g/L Cu), alimenta a célula de eletrodeposição, onde Cu é produzido no catodo. No anodo FeCl_2 é oxidado para FeCl_3 e reciclado no processo de lixiviação.

Mais tarde foi desenvolvido o processo Intec o qual priorizou identificar e solucionar os problemas mecânicos e metalúrgicos dos processos hidrometalúrgicos anteriores. Este processo é realizado em 4 estágios utilizando basicamente solução salina contendo cobre, cloreto e brometo de sódio em uma temperatura que varia de 80 – 85°C e pressão atmosférica. O resíduo consiste de FeOOH (goetita) e enxofre elementar (equação [21]).



O processo Intec está prestes a ser operado comercialmente pela primeira vez no tratamento de rejeitos minerais de zinco-chumbo da mina Hellyer (Tasmania).

Vale ressaltar que os processos com os íons cloreto descritos até o momento envolvem exclusivamente a lixiviação química, e que os mesmos apresentam desvantagens econômicas se comparados ao processo atualmente mais utilizado, a pirometalurgia. Diante disso estudos têm sido

realizados com o intuito de utilizar esses íons em processos de biolixiviação da calcopirita.

Para utilizar os íons cloreto no processo de biolixiviação é crucial estudar a influência desses íons na atividade bacteriana, bem como avaliar a possibilidade de adaptar as células bacterianas aos meios contendo íons Cl^- . Alguns autores garantem que esses íons são altamente tóxicos para o crescimento das bactérias envolvidas no processo de biolixiviação, em especial *A. ferrooxidans*. Esses autores ainda afirmam que a toxicidade desses íons independe da sua concentração, e que os mesmos inibem tão vigorosamente a atividade bacteriana que não permitem, nem mesmo, adaptá-las a essa condição (LAWSON *et al.*, 1995).

Contradizendo esse fato Oliver *et al.*, (1997) estudaram o efeito de vários íons, incluindo o Cl^- , na atividade oxidativa de ferro da espécie *A. ferrooxidans* utilizando medidas de potencial redox, e técnicas como a espectrometria de absorção atômica e microscopia eletrônica varredura. Os autores observaram que concentrações de até 10 g L^{-1} (282 mmol L^{-1}) de íons Cl^- não afetaram a atividade bacteriana.

Mais recentemente foi realizado um estudo para verificar o efeito que diferentes concentrações de íons cloreto proporcionavam a uma cultura mista de bactérias ferro-oxidantes. Pôde-se observar que a partir de concentrações iguais a 7 g L^{-1} (197 mmol L^{-1}) há um efeito inibitório que reduz a taxa de replicação em mais de 50% (SHIERS *et al.*, 2005). Nesse mesmo trabalho foi observado que a exposição prolongada da cultura às concentrações em questão não demonstrou sinais de adaptação.

A técnica respirométrica foi também utilizada para avaliar a influência dos íons cloreto na atividade bacteriana, entretanto, nesse estudo as células utilizadas foram crescidas em dois meios diferentes, um contendo como fonte energética os íons ferrosos e outro o enxofre elementar. Esse ensaio demonstrou que a cultura crescida em meio de Fe^{2+} possui maior sensibilidade aos íons cloreto do que a cultura crescida em meio de S^0 . As primeiras foram inibidas com baixas concentrações de íons cloreto, como 100 mmol L^{-1} , enquanto as outras tiveram resistência até concentrações de 400 mmol L^{-1} (HARAHUC *et al.*, 2000).

III. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da adição de íons cloretos e dos ácidos orgânicos (cítrico e oxálico) na biolixiviação do mineral calcopirita, destacando os seguintes aspectos:

- avaliar a influência dos íons Cl^- na atividade oxidativa de *A. ferrooxidans* na presença e ausência da calcopirita.
- avaliar a ação dos ácidos orgânicos no crescimento de *A. ferrooxidans*.
- estudar o efeito dos ácidos orgânicos na formação e/ ou dissolução do precipitado, jarosita.
- verificar se a presença dos íons cloreto ou dos ácidos orgânicos é eficaz na solubilização de cobre do mineral calcopirita.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

IV. 1. Amostra mineral

Foi utilizado o sulfeto mineral calcopirita da mina de Sossego – PA e fornecido pela Companhia Vale. Para realização dos ensaios o mineral foi moído para 100% < 75µm (peneira < 200 mesh).

Na tabela 4 está descrita a composição química da amostra mineral, (análise realizada no CNEM - COLAB, Poços de Caldas – MG) a qual apresentou como impurezas principais Ca e Si.

Tabela 4: Composição química da calcopirita utilizada nos ensaios.

Elemento	% em massa	Desvio
Fe	27,3	0,1
Cu	23,0	0,2
S (pirítico)	22,5	0,1
S (sulfático)	0,39	0,03
S (total)	22,9	0,1
Si	3,2	0,2
Ca	7,0	0,1

IV. 2. Linhagem bacteriana

Foi utilizada a linhagem *A. ferrooxidans* - LR, isolada de lixívia ácida de minério de urânio proveniente da Lagoa Real - Bahia (GARCIA, 1991). Essa linhagem apresentou, nos trabalhos anteriores realizados em nosso laboratório, maior atividade catalítica da dissolução dos sulfetos de cobre e maior resistência a metais pesados.

A linhagem bacteriana *A. thiooxidans*- FG01, isolada de drenagem ácida de mina de urânio de Figueira – Paraná (GARCIA, 1991), foi também utilizada, porém somente no ensaio de biolixiviação na presença de 150 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻.

IV.3. Meio de cultura

IV.3.1. Meio T&K

Para a manutenção periódica da linhagem bacteriana *A. ferrooxidans*, foi utilizado o meio de cultura T&K desenvolvido por Tuovinen e Kelly (1973). A composição e o modo de preparo do referido meio estão descritos a seguir:

Solução A:

(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5 g
KH ₂ PO ₄	0,5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0,5 g
água destilada.....	q.s.p. 800 mL
pH (H ₂ SO ₄ concentrado).....	1,8

Solução B:

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

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

IV.3.2. Meio 9K

Para a manutenção e cultivo do *A. thiooxidans* foi utilizado o meio 9K desenvolvido por Silverman e Lundgren (1959). A composição e o modo de preparo estão apresentados a seguir:

Solução de sais:

NH ₄ SO ₄	3,0 g L ⁻¹
K ₂ HPO ₄	0,5 g L ⁻¹
MgSO ₄	0,5 g L ⁻¹

KCl.....	0,1 g L ⁻¹
pH (H ₂ SO ₄ concentrado).....	2,8

Fonte de energia:

Enxofre sublimado.....	10 g L ⁻¹
------------------------	----------------------

A solução de sais foi esterilizada em autoclave (120°C, por 20 min, a 1atm) e o enxofre por autoclave a 110°C por 1 hora. No momento do uso foi adicionada 1,0 g de enxofre para 100 mL de solução de sais, em erlenmeyer de 250 mL.

IV. 4. Metodologia analítica

IV.4.1. Medidas de pH e potencial de óxido – redução

O pH e o potencial redox das amostras coletadas foram medidos no sobrenadante, utilizando eletrodo combinado de vidro e eletrodo de Pt (contra Ag⁰/AgCl/KCl_{sat}), respectivamente.

IV.4.2. Determinação do Fe²⁺ (VOGEL , 1981).

Alíquotas do sobrenadante foram retiradas para avaliar a atividade oxidativa de *A. ferrooxidans*, conforme procedimento descrito a seguir.

Reagentes:

H ₃ PO ₄ : H ₂ SO ₄ (PA).....	(1:1)
C ₂₄ H ₂₀ BaN ₂ O ₆ S ₂ (difenilaminosulfonato de bário).....	(0,3%)
K ₂ Cr ₂ O ₇ (dicromato de potássio)	

Procedimento:

Para análise 1 mL das amostras foram acidificadas com 2 mL de uma mistura 1:1 de H₃PO₄:H₂SO₄.concentrados. As amostras acidificadas foram diluídas com água destilada para um volume final de 50 mL. A seguir 0,1 mL do indicador (difenilaminosulfonato de bário) foi adicionado para posterior titulação

com solução padrão de dicromato de potássio até o ponto de viragem da cor verde para lilás.

IV.4.3. Determinação do Fe^{3+} (KARAMANEV *et al*, 2002).

Reagentes:

$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_6\text{S} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (ácido 5 – sulfosalicílico - SSA).....(10%)

Procedimento:

Em um balão volumétrico (100 mL) adicionou-se 100 μL de amostra, 3 mL de SSA (10%) e completou-se com água destilada para um volume final de 100 mL. Manteve-se em constante agitação por um minuto e em seguida a absorbância do complexo sulfosalicilato de Fe^{3+} foi medida ($\lambda = 500 \text{ nm}$.) utilizando um espectrofotômetro FEMTO 600S. A concentração de Fe^{3+} foi determinada a partir de uma curva de calibração realizada previamente aos ensaios.

IV.4.4. Determinação de cobre

A concentração de Cu_{total} nas amostras líquidas foi analisada por espectrometria de absorção atômica, utilizando o espectrômetro Varian. O comprimento de onda para o elemento estudado foi de 324,8 nm.

IV.4.5. Difração de Raios X (DRX) – resíduos sólidos

Para análises de raios X foi utilizado o difratômetro D5000 - Siemens, equipado com monocromador no feixe difratado. As condições utilizadas foram: corrente de 30 mA e voltagem de 40 KV, linha de base inferior 0,520 V, linha de base superior 1,620 V, tempo de contagem 2s, passo 0,05° (ângulo 2θ), fendas 2/2/0,6 e ângulo de varredura de 10 a 70° (2θ).

O porta amostra utilizado foi de vidro com 47 mm de diâmetro por 3 mm de espessura, apresentando no centro uma cavidade de 15 ou 20 mm de diâmetro por 1 mm de profundidade, destinado a conter a amostra.

A identificação de fases presentes foi feita por comparação com fichas padrão do “International Centre for Diffraction Data”.

IV.5. Adaptação das células bacterianas

Antes de iniciar os experimentos de biolixiviação, foram realizadas duas adaptações da linhagem bacteriana *A. ferrooxidans* – LR: uma somente ao sulfeto mineral calcopirita e outra à calcopirita e ao íon cloreto concomitantemente.

Para monitorar esses ensaios a cada dois dias foi medido o potencial de óxido-redução, assim como corrigido o pH do meio para 1,8 com H_2SO_4 concentrado. Ao final de cada etapa foi realizado teste de viabilidade que consistia na retirada de uma alíquota de 1,0 mL do frasco em adaptação que era inoculada em 10 mL de meio T&K com 120 mmol L^{-1} de Fe^{2+} . Após crescimento (máximo 72 horas), verificado pela mudança de coloração do meio, se prosseguia para a fase posterior da adaptação.

IV.5.1. Adaptação a calcopirita

Com o intuito de promover o crescimento de *A. ferrooxidans* utilizando-se como fonte energética o sulfeto metálico calcopirita, foi realizado a substituição progressiva da fonte energética (Fe^{2+}) do meio T&K pelo mineral conforme procedimento esquematizado na Tabela 5.

Tabela 5: Fases do procedimento experimental na adaptação de *A. ferrooxidans* - LR ao crescimento em calcopirita.

Etapas	Concentração de Fe^{2+} (mmol L^{-1})	Concentração de CuFeS_2 (% m/v)
1	60	0,2
2	30	0,4
3	15	0,8
4	7,5	2,0
5	-	2,5

IV.5.2. Adaptação à calcopirita e aos íons cloreto

Esta adaptação foi realizada através de etapas sucessivas de substituição da fonte energética (Fe^{2+}) pelo sulfeto mineral e da adição de quantidades crescentes do íon cloreto na forma de NaCl, conforme demonstrado na tabela 6.

Tabela 6: Fases do procedimento experimental na adaptação de *A. ferrooxidans* - LR ao crescimento em calcopirita e íons cloreto.

Etapas	Concentração de Fe^{2+} (mmol L ⁻¹)	Concentração de Cl ⁻ (mmol L ⁻¹)	Concentração de CuFeS_2 (% m/v)
1	60	60	0,2
2	30	100	0,4
3	15	100	0,8
4	7,5	100	2,0
5	-	100	2,5
6	-	150	2,5

IV.6. Estudo com os ácidos orgânicos

IV.6.1. Efeito dos ácidos orgânicos (cítrico e oxálico) no crescimento de *A. ferrooxidans* – LR

Para avaliar a influência dos ácidos orgânicos no crescimento de *A. ferrooxidans* – LR foi realizado um ensaio de oxidação dos íons ferrosos em meio T&K (pH inicial 1,8) na presença dos ácidos cítrico e oxálico.

Os ensaios foram realizados em triplicata, utilizando erlenmeyers de 125 mL, na presença do ácido cítrico ou oxálico nas seguintes concentrações (% m/v): 0 (controle); 0,10; 0,25; 0,50 e 1,0. O volume total da solução nos frascos foi de 50 mL com inóculo de 5 (% v/v) de células de *A. ferrooxidans* - LR. Os frascos foram mantidos por 72 h sob agitação de 150 rpm a 30°C, sendo retiradas alíquotas de 2 mL em diferentes intervalos. Para acompanhamento da oxidação do íon ferroso, as amostras foram tituladas com dicromato de

potássio (item IV.4.2). Foram ainda realizadas medidas de pH e do potencial de óxido-redução.

IV.6.2. Solubilização das jarositas na presença do ácido cítrico

IV.6.2.1. Produção das jarositas

As jarositas foram obtidas através da oxidação dos íons ferrosos por *A. ferrooxidans* – LR em meio T&K (pH inicial de 1,8). Para tanto, foi utilizado um frasco erlenmeyer (1000 mL) contendo 500 mL de meio inoculado (5% v/v) com cultura de *A. ferrooxidans* – LR, e mantido por 96 horas em mesa agitadora a 150 rpm com temperatura de 30°C.

O precipitado formado foi recuperado por filtração do meio de cultura utilizando membrana (0,45 µm de diâmetro de poro – Milipore – HAWP 04700). Este precipitado foi lavado com solução de ácido sulfúrico pH 1,8 e mantido a temperatura ambiente até secagem completa.

Em seguida o sólido foi submetido a uma análise de difração de raios X para identificação da jarosita formada, bem como foi determinada a concentração de íons férricos presente na mesma, após sua dissolução com ácido nítrico concentrado.

IV.6.2.2. Solubilização das jarositas obtidas

Após as análises químicas e de difratometria de raios X, 0,200 grama do precipitado foi tomado e colocado em erlenmeyers (125 mL) que continham 50 mL de soluções de ácido cítrico nas seguintes concentrações (% m/v): 0,10; 0,25; 0,50 e 1,0.

As concentrações de 0,10 (% m/v) e 0,25 (% m/v) apresentaram valor de pH aproximado de 1,8. Enquanto que as concentrações de 0,5 (% m/v) e 1,0 (% m/v) alcançaram os valores de pH de 1,4 e 1,2, respectivamente. Estes valores de pH foram usados, portanto, como controles ácidos, a partir de soluções de ácido sulfúrico.

Os frascos ficaram por 72 horas sob agitação de 150 rpm na temperatura de 30°C. A cada 24 horas foram retiradas alíquotas do sobrenadante para a determinação de íons férricos (item IV.4.3).

IV.6.3. Efeito do ácido cítrico na formação de jarositas

A fim de investigar a influência da adição do ácido cítrico na formação de jarositas foi realizado um ensaio de oxidação dos íons ferrosos por *A. ferrooxidans* - LR em meio T&K (pH inicial 1,8) na presença de várias concentrações desse ácido (% m/v): 0,10; 0,25; 0,50 e 1,0. Para tanto foi utilizado erlenmeyers (125 mL) os quais foram mantidos em mesa agitadora a 150 rpm, a 30°C até o final da oxidação dos íons ferrosos presentes em cada condição.

Da mesma forma que no ensaio anterior (item IV.6.2.2), a adição de diferentes concentrações de ácido cítrico determinou diferentes valores de pH. Portanto, foram realizados como controles, ensaios de oxidação de Fe^{2+} pela bactéria em estudo nestes mesmos valores de pH, porém em meio T&K com a adição de ácido sulfúrico.

Esse experimento foi monitorado, periodicamente, por medidas de pH, e pela concentração de íons ferrosos. Após a oxidação total desses íons, todo o volume do meio foi filtrado em papel membrana (0,45 μm de diâmetro de poro – Milipore – HAWP 04700) de peso conhecido e após secagem a temperatura ambiente (~25 °C) por 24 horas foi feita novamente a pesagem do mesmo, com o intuito de se verificar se houve a formação de algum precipitado nas diversas condições de estudo.

IV.6.4. Biolixiviação da calcopirita na presença do ácido cítrico

Os ensaios de biolixiviação em frascos foram realizados em mesa agitadora a 150 rpm e temperatura de 30°C. Como reatores foram utilizados erlenmeyers de 250 mL os quais continham 100 mL de solução lixiviante e 2,5 g de amostra mineral (calcopirita). Utilizou-se como solução lixiviante a solução A do meio T&K (pH inicial 1,8) na presença de diferentes concentrações de ácido cítrico (% m/v): 0; 0,005; 0,5 e 1,0.

Como inóculo foi utilizado uma cultura de *A. ferrooxidans* - LR adaptada a calcopirita (item IV.5.1). Vale destacar que as mesmas condições foram repetidas para os frascos controle, porém sem adição de inóculo.

Os ensaios foram acompanhados por amostragem periódica (semanalmente) da fração líquida seguida de medidas de pH e potencial de óxido-redução, além de análises das concentrações de Fe^{2+} , Fe^{3+} e de Cu_{total} . Anteriormente às amostragens a evaporação de cada frasco foi estimada pela perda de massa e compensada pela adição de água destilada esterilizada.

No final do experimento os resíduos sólidos foram lavados em água ácida (pH 1,8), secos à temperatura ambiente e mantidos em atmosfera de argônio. Os mesmos foram submetidos a análises posteriores de DRX.

IV.7. Estudo com os íons cloreto

IV.7.1. Ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença de íons Cl^-

Previamente ao ensaio de biolixiviação foi realizado o ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR (indicado pela oxidação dos íons ferrosos) em meio T&K (pH inicial 1,8) na presença de 0, 100, 300, 400 e 500 mmol L^{-1} de íons cloreto (NaCl). Esse experimento foi realizado em frascos erlenmeyers de 125 mL com 50 mL de volume total da solução, os mesmos foram mantidos em mesa agitadora 150 rpm – 30°C até o fim da oxidação de Fe^{2+} . Como inóculo foi utilizado 5 (% v/v) de células de *A. ferrooxidans* – LR.

Para acompanhamento da oxidação do íon ferroso, periodicamente foram retiradas alíquotas de 1 mL dos meios e as amostras foram tituladas com dicromato de potássio.

IV.7.2. Ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença de íons Cl^- e da calcopirita.

Assim como no ensaio anterior (item IV.7.1.) foi realizado um ensaio de oxidação dos íons ferrosos por *A. ferrooxidans* – LR na presença de íons cloreto

na forma de NaCl (0,100, 200, 400 e 500 mmol L⁻¹), no entanto nesse ensaio foi adicionado calcopirita.

Para tanto foram utilizados erlenmeyers (250 mL) com 2,5 gramas de CuFeS₂ e 100 mL de solução que continha meio T&K (pH inicial 1,8) com as diversas concentrações de NaCl.

Para acompanhamento da oxidação do íon ferroso, periodicamente foram retiradas alíquotas de 1 mL dos meios e as amostras foram tituladas com dicromato de potássio. Foram ainda realizadas medidas de pH e do potencial de óxido-redução.

IV.7.3. Biolixiviação da calcopirita na presença de 150mmol L⁻¹ de Cl⁻

Esse ensaio foi realizado em frascos erlenmeyers de 250 mL os quais continham 150 mL de solução A do meio T&K, pH inicial de 1,6 e 3,75 g de amostra mineral (2,5% m/v). Os frascos foram inoculados com sobrenadantes da cultura de *A. ferrooxidans*-LR previamente adaptados, conforme descrição anterior (item IV.5.2.). Os mesmos foram mantidos em mesa agitadora a 150 rpm e temperatura de 30°C.

Semanalmente foram retiradas alíquotas das polpas dos frascos para separação das fases sólida e líquida por centrifugação a 4000 rpm por 15 minutos sob refrigeração (rotor RTH-750, centrífuga Sorvall - RT7 - Du Pont). No sobrenadante foram realizadas as análises físico-químicas, que incluíram medidas de pH, Eh, e análises dos íons Fe²⁺, Fe³⁺ e Cu_{total}. Anteriormente às amostragens a evaporação de cada frasco foi estimada pela perda de massa e compensada pela adição de água destilada esterilizada.

Assim como no ensaio de biolixiviação na presença do ácido cítrico, os resíduos sólidos finais, após lavagem em água ácida (pH 1,8) e secagem à temperatura ambiente, foram submetidos à análises de difração de raios x.

Além das condições gerais apresentadas, foram testadas as seguintes condições específicas:

1 - *A. ferrooxidans* - LR - (*A.f.*)

2 - *A. ferrooxidans* - LR + 150 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ - (*A.t.* + Cl⁻)

- 3 - 150 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ + *A. ferrooxidans* - LR (inoculado após 15 dias) - (Cl⁻ + *A.f.* (15 d))
- 4 - *A. ferrooxidans* - LR + 150 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ + 150 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ (adicionado após 15 dias) - (*A.f.* + Cl⁻ + Cl⁻ (15 d))
- 5 - *A. ferrooxidans* - LR adaptada somente à calcopirita (item IV.5.1.) + 150 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ - (*A.f.* adaptada à calcopirita + Cl⁻)
- 6 - *A. ferrooxidans* - LR + 150 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ + 1% (v/v) de *A. thiooxidans* – FG01 (inoculado após 15 dias) - (*A.f.* + Cl⁻ + *A.t.* (15 d))
- 7 - 1% (v/v) *A. thiooxidans* – FG01 - (*A.t.*)
- 8 - Meio de cultivo oxidado por *A. ferrooxidans* – LR (não adaptada) + 150 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻. - (Meio oxidado + Cl⁻)
- 9 - 150 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ - (Cl⁻).
- 10 - 0 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ - (0 mmol L⁻¹ Cl⁻).
- 11 - 150 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ + 150 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ (adicionado após 15 dias) - (Cl⁻ + Cl⁻ (15 d)).

IV.7.4. Biolixiviação da calcopirita com adições sucessivas de 10 mmol L⁻¹ e 20 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻

Os ensaios de biolixiviação foram realizados a 150 rpm e 30°C em erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de solução lixiviante com pH inicial de 1,6 e 2,5 g de amostra mineral (calcopirita). Utilizou-se como solução lixiviante inicial a solução A do meio T&K com 0 mmol L⁻¹, 10 mmol L⁻¹ e 20 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ na forma de NaCl. Como inóculo foi utilizado uma cultura de *A. ferrooxidans* - LR adaptada a calcopirita e a 100 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ (item IV.5.2.). As mesmas condições foram repetidas para os frascos controle, porém sem adição de inóculo.

Os ensaios foram acompanhados por amostragem periódica da fração líquida seguida de medidas de pH e potencial de óxido-redução além de análises das concentrações de Fe²⁺, Fe³⁺ e Cu_{total}. Anteriormente às amostragens a evaporação de cada frasco foi estimada pela perda de massa e compensada pela adição de água destilada esterilizada.

No decorrer do experimento foram adicionados 0 mmol L⁻¹, 10 mmol L⁻¹ e 20 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ aos frascos de lixiviação. Essas adições foram realizadas a cada 7 e 15 dias de ensaio.

No final da experimentação, os resíduos sólidos foram lavados em água ácida (pH 1,8) e secos a temperatura ambiente para posterior análise de DRX.

V. RESULTADOS E DISCUSSÕES

V.1. Estudo com ácidos orgânicos

Como já salientado anteriormente, o objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de ácidos orgânicos (ácido cítrico e oxálico) em controlar a formação de precipitados nos ensaios de biolixiviação e avaliar se a presença destes ácidos proporcionou uma maior solubilização do cobre da calcopirita.

Previamente ao ensaio de biolixiviação da calcopirita na presença dos ácidos orgânicos foram realizados alguns estudos preliminares a fim de verificar a ação dos mesmos no crescimento de *A. ferrooxidans* – LR, na solubilização da jarosita e na formação deste precipitado durante a oxidação dos íons ferrosos.

V.1.1. Efeito dos ácidos orgânicos no crescimento de *A. ferrooxidans* - LR

Na Figura 9A, 9B e 10 estão ilustradas, respectivamente, as variações de pH, potencial de óxido-redução (mV) e porcentagem de oxidação dos íons ferrosos em função do tempo de ensaio na presença do ácido cítrico. A condição controle também está representada.

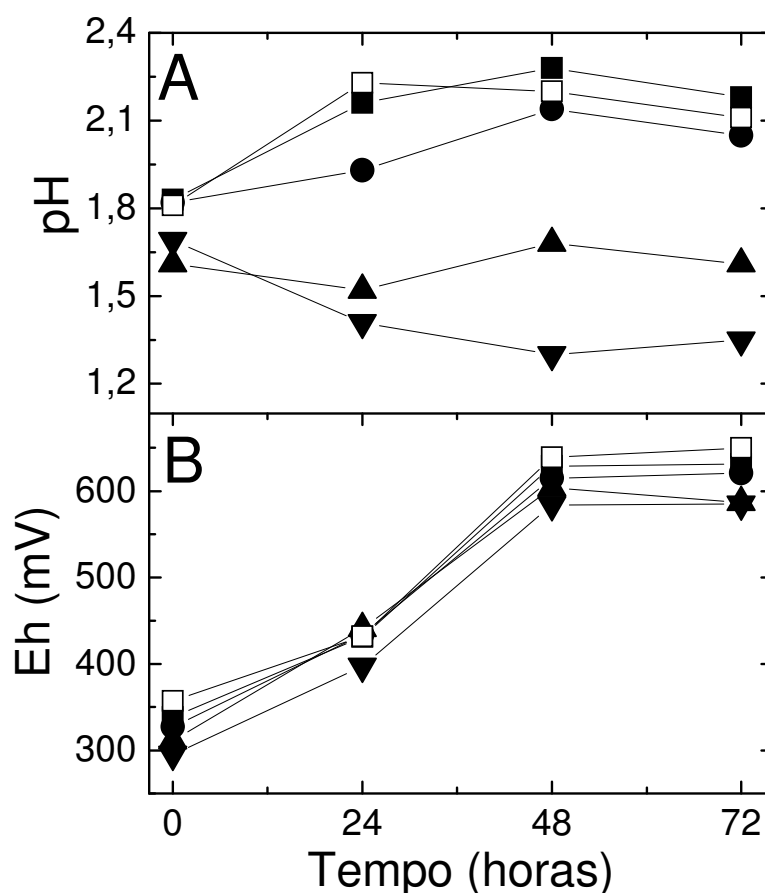


Figura 9: Variação do pH (A) e do potencial de óxido - redução (B) no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (% m/v): (□) Controle - 0; (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50 e (▼) 1,0.

Pode ser observado que os valores de pH do meio na presença do ácido cítrico a 0,10 e 0,25 (% m/v), se comportaram de forma similar ao controle. Houve um aumento no valor de pH da solução nas primeiras 24 horas seguido de uma estabilização.

Nos frascos em que a concentração do ácido foi de 0,50 e 1,0 (% m/v) o pH inicial observado foi menor que nas outras condições, e atingiu no final do ensaio respectivamente 1,5 e 1,2 (Figura 9A). Apesar destas diferenças, o crescimento bacteriano em todas as condições não foi afetado, como pode ser observado pelos valores de potencial de óxido – redução (Figura 9B) e de porcentagem de oxidação dos íons ferrosos (Figura 10) que não apresentaram diferenças significativas em todas as condições testadas.

Como dito anteriormente, o Eh é utilizado como uma medida da tendência de um substrato doar ou receber elétrons. Esse parâmetro é indicativo da capacidade oxidante do meio que nesse caso é dependente do metabolismo bacteriano (equação [8]). Potenciais maiores que o de equilíbrio favorecem a formação de Fe^{3+} , e potenciais menores favorecem a formação de Fe^{2+} (POURBAIX, 1966).

A oxidação total dos íons ferrosos demonstrou que a presença do ácido cítrico, nas diversas concentrações, não inibiu a atividade bacteriana apresentando um comportamento similar ao ensaio controle (Figura 10).

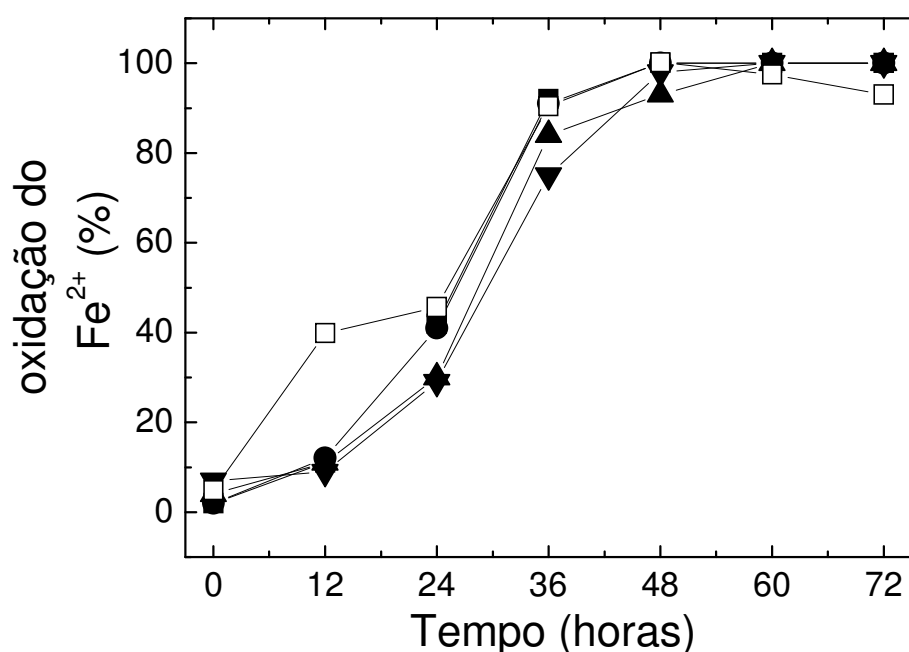


Figura 10: Porcentagem de oxidação dos íons ferrosos no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (% m/v): (□) Controle - 0; (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50 e (▼) 1,0.

Na presença do ácido oxálico a partir da concentração 0,50 (% m/v) ocorreu uma queda significativa do pH para cerca de 1,0 (Figura 11A), valor abaixo do ideal para o crescimento bacteriano, pois apesar desta espécie ser um acidófilo restrito a mesma não é capaz de sobreviver em pH inferiores a 1,2 (SMITH *et al*, 1988; CANDY *et al.*, 2009). Isto justifica a inibição severa no crescimento do *A. ferrooxidans* - LR nas concentrações de 0,50 e 1,0 (% m/v).

Os baixos valores de Eh, ao redor de 300 mV (Figura 11B) e porcentagens de oxidação dos íons ferrosos ao redor de 20% (Figura 12) corroboram esta discussão.

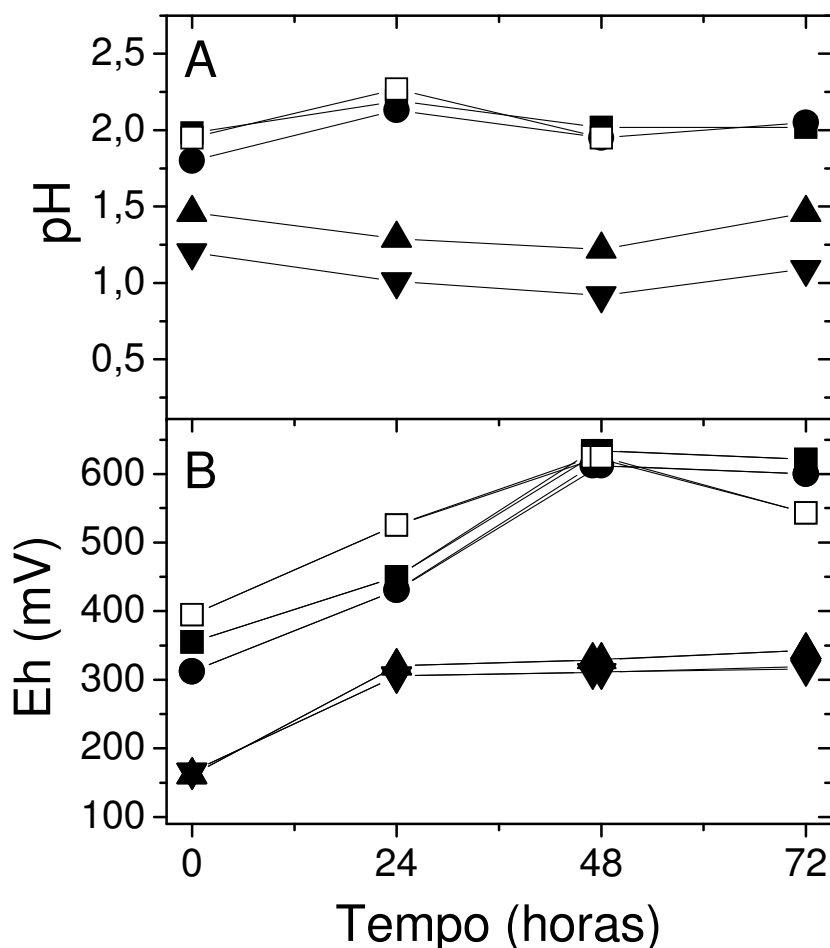


Figura 11: Variação do pH (A) e do potencial de óxido - redução (B) no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença do ácido oxálico nas seguintes concentrações (m/v %): (□) Controle - 0; (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50 e (▼) 1,0.

As concentrações de 0,10 e 0,25 (% m/v) apresentaram valores de pH e Eh similares ao controle (Figuras 11A e B). O valor de pH tende a aumentar nas primeiras 24 horas de ensaio, em ambas as concentrações, e logo sofre uma queda e estabilização que permaneceu até o fim do ensaio em torno 2,0. Com relação ao potencial de óxido - redução ocorreu um aumento do mesmo até as 48 horas de ensaio (~ 600 mV), acompanhado de uma constância até o fim do experimento.

No entanto, em relação à oxidação dos íons Fe^{2+} quando na presença de 0,10% e 0,25% do ácido ocorreu um prolongamento da fase “lag” do crescimento bacteriano (Figura 12).

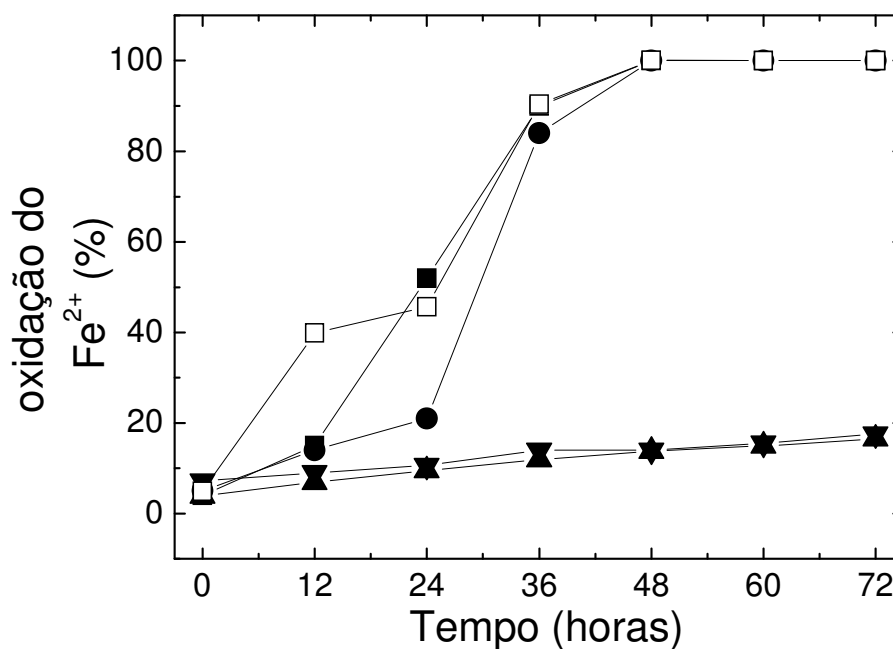


Figura 12: Porcentagem de oxidação dos íons ferrosos no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença do ácido oxálico nas seguintes concentrações (% m/v): (□) Controle - 0; (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50 e (▼) 1,0.

Em função desses resultados o ácido cítrico foi o único a ser utilizado nos ensaios posteriores.

V.1.2. Solubilização da jarosita na presença do ácido cítrico

Neste estudo verificou-se o efeito do ácido cítrico comparado ao efeito do ácido sulfúrico na solubilização das jarositas.

V.1.2.1. Produção das jarositas

Como dito no item VI.6.2.1 após a produção da jarosita, a mesma foi identificada e analisada quanto a concentração de íons férricos. A análise da concentração de Fe^{3+} revelou que em cada grama do sólido havia 0,71 g de Fe^{3+} . O difratograma de raios X (Figura 13) demonstrou que o precipitado formado corresponde principalmente a hidrôniojarosita ($\text{H}_3\text{OFe}^{3+}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$).

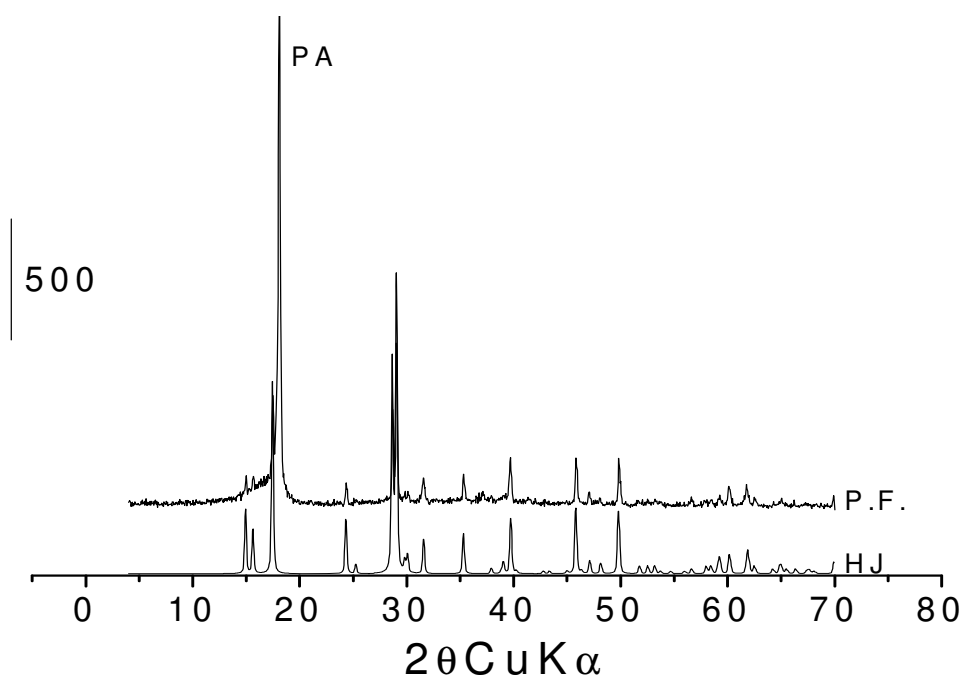


Figura 13: Difratograma do precipitado formado após a oxidação dos íons ferrosos por *A. ferrooxidans* – LR. Símbolos: P.F. – precipitado formado; H.J. – hidrôniojarosita sintética e P.A.- porta amostra.

V.1.2.2. Solubilização das jarositas

Como pode ser visto na Figura 14, ao final das 72 horas apenas a solução de H_2SO_4 a pH 1,2 proporcionou uma dissolução significativa de cerca de 40% do ferro III presente no precipitado. As soluções de ácido cítrico nas diversas concentrações, assim como as de ácido sulfúrico (pH 1,4 e 1,8) solubilizaram somente cerca de 18% de Fe^{3+} presente na hidrôniojarosita.

Portanto, pode-se afirmar que o ácido cítrico não foi eficaz na solubilização do precipitado de ferro III uma vez já formado, nas concentrações avaliadas. Esse fato pode estar relacionado à estrutura cristalina das jarositas que apresentam uma alta energia de rede.

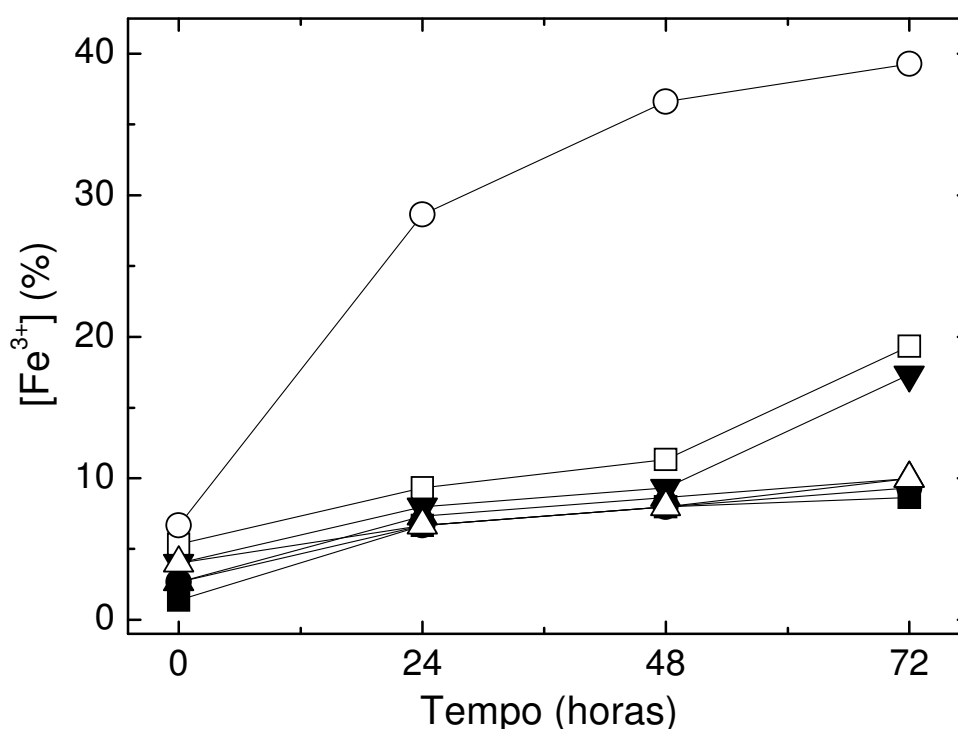


Figura 14: Porcentagem de íons férricos presentes em solução no ensaio de solubilização das jarositas na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (% m/v): (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50 e (▼) 1,0. Os frascos com solução de ácido sulfúrico estão representados pelos símbolos abertos nos respectivos valores de pH: (○) 1,2, (□) 1,4 e (Δ) 1,8.

V.1.3. Efeito do ácido cítrico na formação de jarositas:

Nesse experimento foi analisada quantitativamente a ação do ácido cítrico na formação de jarositas durante a oxidação dos íons ferrosos por *A. ferrooxidans* – LR em meio T&K. A Figura 15 ilustra a variação do pH em função do tempo na presença e ausência do ácido cítrico.

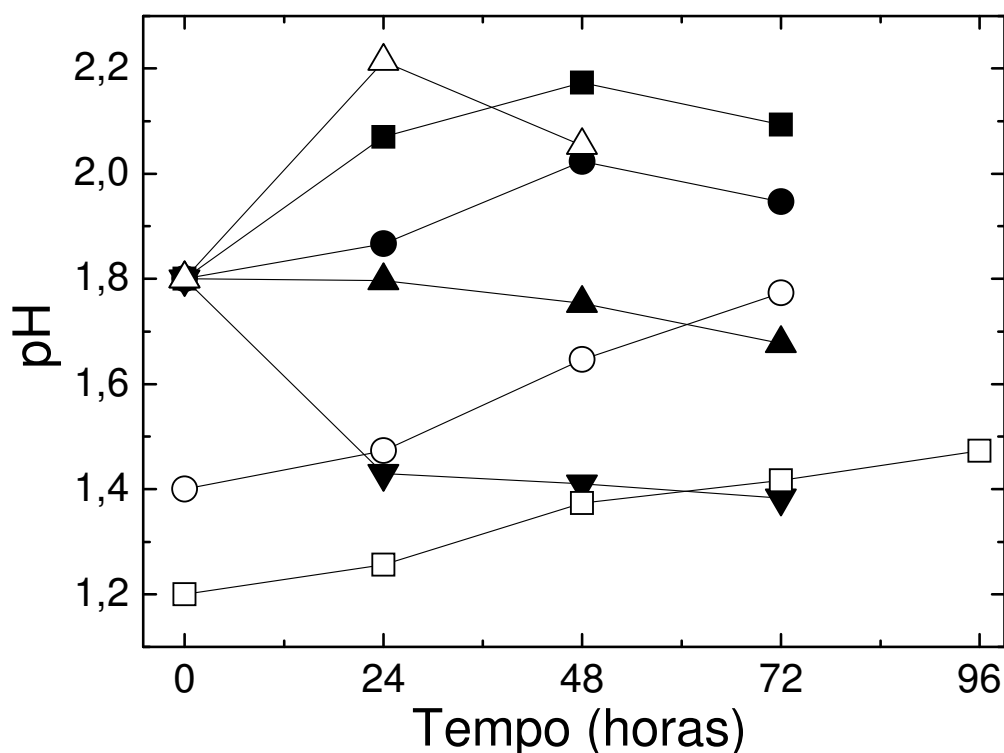


Figura 15: Variação do pH no ensaio da formação de jarositas durante o crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença de ácido cítrico nas seguintes concentrações (% m/v): (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50; (▼) 1,0; Os frascos sem adição de ácido cítrico estão representados pelos símbolos abertos nos respectivos valores de pH: (□) 1,2; (○) 1,4 e (Δ) 1,8.

Os valores de pH dos meios com ácido cítrico nas concentrações de 0,10 e 0,25 (% m/v) apresentaram um ligeiro aumento inicial e estabilizaram após 48 h. Na ausência de ácido cítrico, pH inicial de 1,8 ocorreu um aumento do pH, provavelmente, pelo consumo de íons hidrogênio (equação [8]) que foi contrabalanceado, a partir das 24 horas de ensaio, pela hidrólise dos íons férricos (equação [14] – [16]) provocando uma diminuição nos valores de pH.

Os ensaios na presença de 0,50 e 1,0 (% m/v) do ácido orgânico apresentaram um decaimento significativo do pH ao fim do ensaio (72 horas) atingindo 1,5 e 1,3, respectivamente.

Em relação aos ensaios na ausência do ácido cítrico com o pH inicial de 1,2 e 1,4 houve uma tendência em ambas do pH aumentar até o fim do ensaio chegando a 1,3 e 1,8, respectivamente. Isso pode ser atribuído ao consumo de ácido que ocorre pela oxidação dos íons ferrosos (equação [8]) (Figura 16).

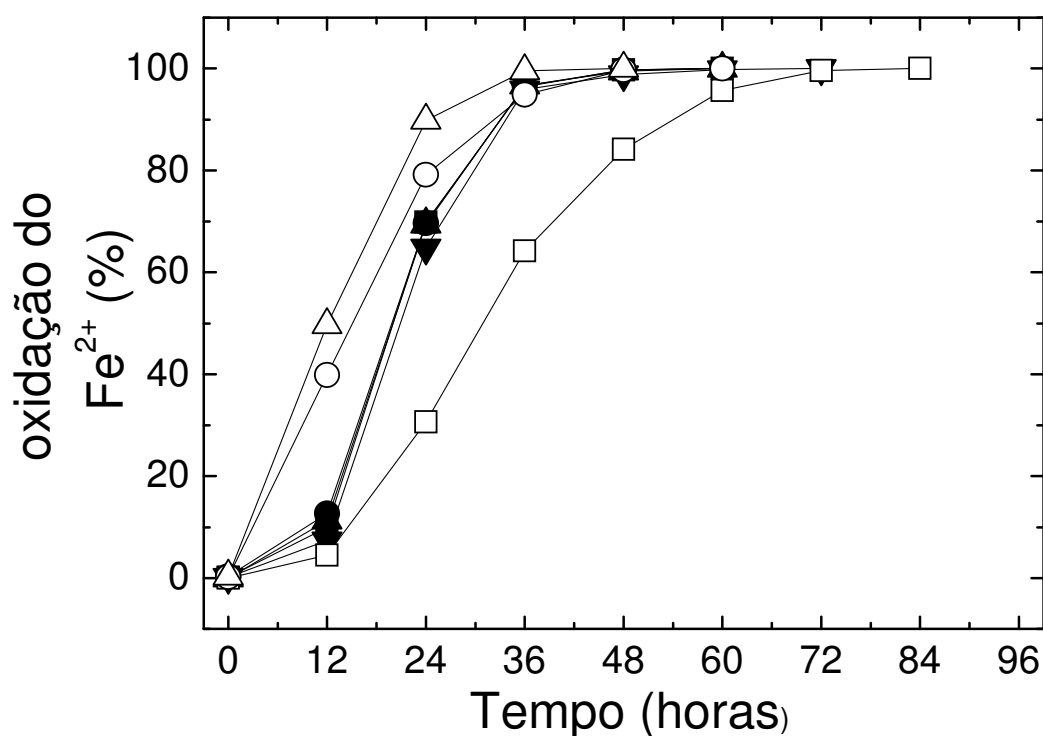


Figura 16: Porcentagem de oxidação dos íons ferrosos no ensaio da formação de jarositas durante o crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença de ácido cítrico nas seguintes concentrações (m/v %): (■) 0,10; (●) 0,25; (▲) 0,50; (▼) 1,0. Os frascos sem adição de ácido cítrico estão representados pelos símbolos abertos nos respectivos valores de pH: (□) 1,2; (○) 1,4 e (Δ) 1,8.

Na Figura 16 pode ser observado que os íons Fe^{2+} presentes na solução foram oxidados completamente em todas as condições estudadas. Contudo, no ensaio com o pH inicial de 1,2 na ausência do ácido cítrico observa-se que a velocidade inicial (v_0) de consumo do substrato é menor em relação às outras condições deste ensaio.

Como dito anteriormente, após oxidação total dos íons ferrosos foi realizado um teste quantitativo de maneira a verificar se a presença do ácido cítrico impediu ou diminuiu a formação dos precipitados de ferro (Tabela 7).

Tabela 7. Formação dos precipitados após oxidação dos íons ferrosos por *A. ferrooxidans* - LR na presença e ausência do ácido cítrico.

Condições dos ensaios realizados	Precipitado(g)
Ácido cítrico 0,10% (m/v)	0,0240
Ácido cítrico 0,25% (m/v)	0,0170
Ácido cítrico 0,50% (m/v)	0,0008
Ácido cítrico 1,0% (m/v)	0,0004
Ácido sulfúrico pH inicial 1,2	0,0005
Ácido sulfúrico pH inicial 1,4	0,0009
Ácido sulfúrico pH inicial 1,8	0,5300

Pode ser observado na tabela 7 que os ensaios com o pH inicial de 1,2 e 1,4 na ausência do ácido cítrico e na presença desse ácido a 0,5 e 1,0 (% m/v) apresentaram menores quantidades dos precipitados formados se comparado ao ensaio com pH inicial de 1,8 na ausência do ácido. Duas explicações podem ser sugeridas para justificar estes resultados: a) no baixo valor pH do meio entre 1,3 e 1,5, a formação destes precipitados não é favorecida (POGLIANI & DONATI, 2000, WANG *et al*, 2006; DAOUD & KARAMANEV, 2006) e b) a coordenação dos íons Fe^{3+} ao citrato, não disponibiliza o metal para reação de formação do precipitado (PIERRE & GAUTIER-LUNEAU, 2000).

Na presença de ácido cítrico 0,1 e 0,25 (% m/v) apenas 0,0240 g e 0,0170 g de precipitados foram formados respectivamente, muito embora o comportamento quanto à acidez fosse comparável à condição sem a presença de ácido cítrico a pH 1,8, que formou uma quantidade de precipitados muito maior (0,5300 g) o que representou cerca de 20 e 30 vezes os valores obtidos para as concentrações citadas. Além disso, a presença do ácido cítrico leva a formação de complexos (FIELD *et al*, 1974; PIERRE & GAUTIER-LUNEAU, 2000) com os íons férricos o que contribuiu para essa diminuição na formação destes precipitados.

V.1.4. Biolixiviação da calcopirita na presença do ácido cítrico

Os resultados da fase líquida obtidos para o ensaio na presença desse ácido orgânico com os seus respectivos controles estão ilustrados nas Figuras 17, 18 e 19.

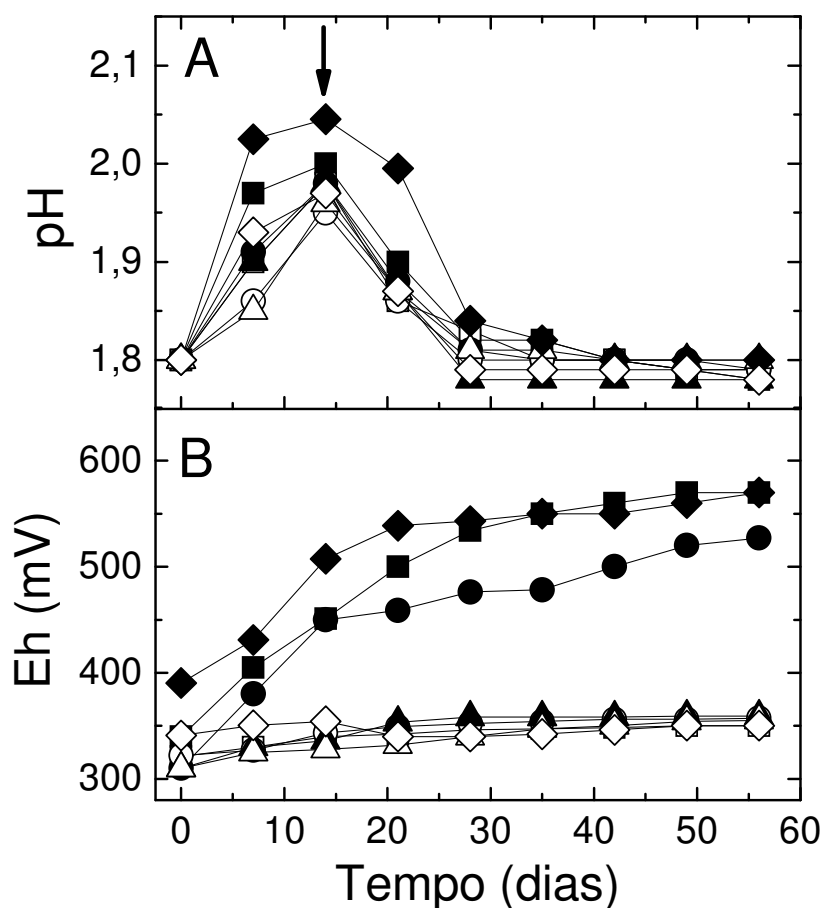
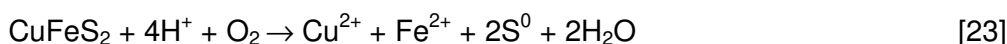
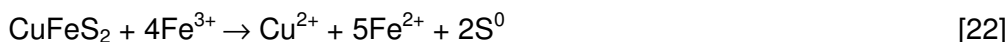


Figura 17: Variação de pH (A) e do potencial de óxido-redução (B) no ensaio de biolixiviação da calcopirita na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (m/v %): (◆)0; (■)0,005; (●) 0,50 e (▲) 1,0. Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos. A seta indica o momento da correção do pH com ácido sulfúrico concentrado.

Pode ser observado que em todas as condições testadas os valores de pH apresentaram um aumento nos primeiros 14 dias, ficando em torno de 2,0

como consequência do consumo de H^+ nas reações de oxidação bacteriana e química descritas nas equações [6] e [7] e nas equações a seguir: ([22] e [23]).



O aumento do valor de pH leva a formação de precipitados sólidos. Por essa razão o pH foi corrigido no 14º dia de ensaio para 1,8, em todos os frascos. Após ajuste do pH houve um ligeiro aumento do mesmo em todas as condições estudadas seguida de declínio e estabilização ao redor de 1,8 a partir do 28º dia de ensaio (Figura 17A).

Vale ressaltar que a presença do ácido cítrico tanto nos frascos inoculados quanto nos controles proporcionou uma diminuição no pH do meio, quando comparado aos ensaios na ausência do ácido. Esse fato pode ser importante para diminuir a formação de hidróxidos de ferro durante a oxidação da calcopirita e com isso auxiliar no processo de dissolução da mesma.

Pode ser notado na Figura 17B que o potencial de óxido redução dos meios na presença do ácido cítrico foi menor em relação à sua ausência. Isso pode ser atribuído pela formação de complexos do ácido cítrico com os íons em solução (KÖNIGSBERGER *et al.*, 2000). No entanto, no ensaio com 1,0 (% m/v) o potencial redox se comportou de forma similar aos controles devido à inibição da atividade bacteriana (~ 350 mV).

Apesar do aumento do potencial redox, nos frascos inoculados com 0, 0,005 e 0,50 (% m/v), ser consequência da oxidação dos íons ferrosos as concentrações, tanto de Fe^{2+} quanto de Fe^{3+} obtidas em todas as condições, foram pouco significativas. Entretanto, pode ser observada uma diferença nas condições inoculadas, exceto 1,0 (% m/v), que a partir do 14º dia ocorreu uma diminuição da concentração de Fe^{2+} seguida de um aumento da concentração de Fe^{3+} , o que indica um ambiente oxidante pela presença da bactéria. Os ensaios controles e a condição inoculada na presença de ácido cítrico 1(% m/v) apresentaram uma concentração de Fe^{2+} e Fe^{3+} inferiores às outras condições inoculadas (Figura 18).

Outro ponto importante é que os ensaios inoculados na presença do ácido cítrico quando comparado ao ensaio inoculado na ausência desse ácido

demonstraram uma menor concentração de íons férricos em solução (Figura 18B), provavelmente, pela complexação do ácido cítrico ao íon férrico.

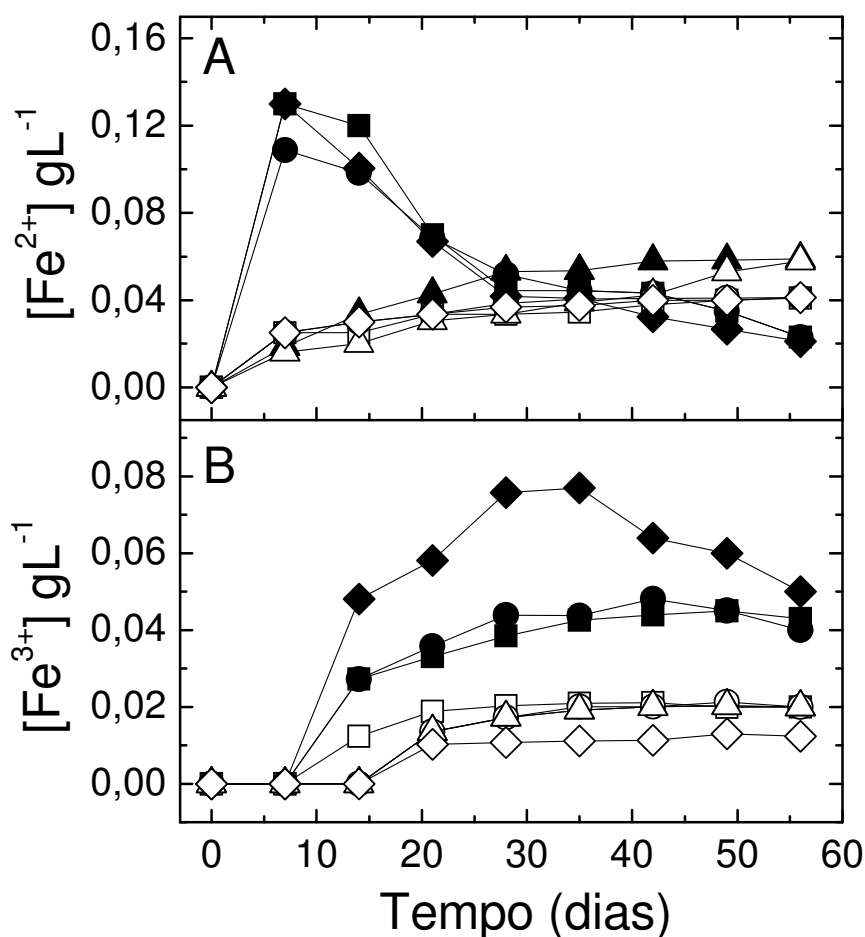


Figura 18: Variação da concentração de Fe^{2+} (A) e de Fe^{3+} (B) no ensaio de biolixiviação da calcopirita na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (m/v %): (◆) 0; (■) 0,005; (●) 0,50 e (▲) 1,0. Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos.

Em relação à quantidade de cobre solubilizado, a presença do ácido cítrico 0,005 (% m/v) (inoculado e controle) apresentaram os maiores valores (~ 26% e 30%, respectivamente). O tratamento inoculado sem adição de ácido apresentou uma quantidade significativamente menor de cobre em solução (~ 17%). Entretanto, em relação às concentrações mais elevadas desse ácido (0,50 e 1,0 (% m/v)) pode-se afirmar que a extração de cobre foi pouco significativa, principalmente, para 1,0 (% m/v) que provocou uma inibição na atividade bacteriana (Figura 19).

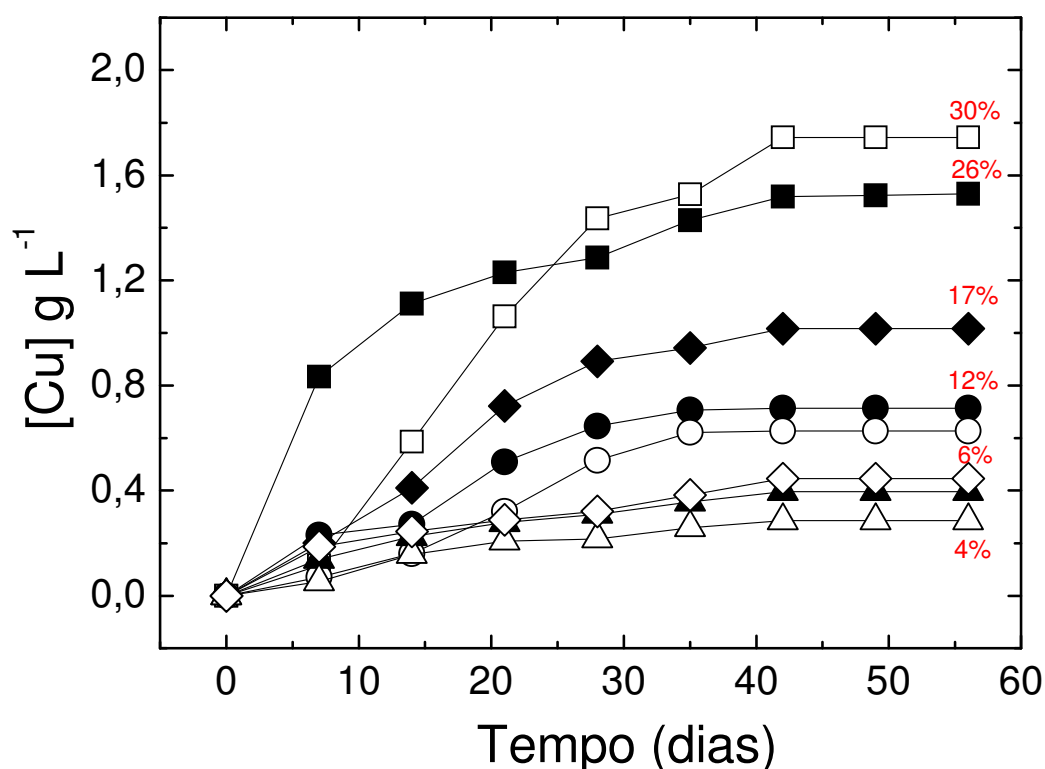


Figura 19: Variação da concentração de cobre no ensaio de biolixiviação da calcopirita na presença do ácido cítrico nas seguintes concentrações (m/v %): (◆) 0; (■) 0,005; (●) 0,50 e (▲) 1,0. Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos.

Vale ressaltar que o ácido cítrico pode ser considerado um agente químico lixiviante para a calcopirita, uma vez que mesmo na ausência de bactéria a quantidade de cobre solubilizada é significativa em comparação a qualquer condição estudada e publicada na literatura à temperatura ambiente. Geralmente os controles abióticos apresentam valores de solubilização de cobre ao redor de 15% (BEVILAQUA *et al.*, 2002).

Outro fato importante é que apesar do ácido cítrico ser eficaz para diminuir a formação de precipitados de ferro, conforme pode ser visto no item V.1.3. não houve uma extração de cobre significativa. Esse fato pode ser justificado pela presença da camada de enxofre que segundo Klauber (2008) se forma anteriormente as jarositas (Figura 4).

V.2. Estudo com os íons cloreto

A ação catalítica dos íons cloreto juntamente com a das células bacterianas de *A. ferrooxidans* no processo oxidativo da calcopirita foi investigado através de ensaios de biolixiviação em frascos. Para tanto foram realizados dois ensaios preliminares que consistia em de verificar a atividade oxidante de *A. ferrooxidans* – LR na presença do íon cloreto.

V.2.1. Ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença de íons Cl^-

A Figura 20 ilustra a oxidação dos íons ferrosos por *A. ferrooxidans* –LR na presença de diferentes concentrações de íons Cl^- . Pode-se notar que o ensaio na presença de 100 mmol L^{-1} de Cl^- , se comparado ao ensaio na ausência desse íon (controle), apresentou uma inibição parcial da atividade bacteriana, que é justificada pelo prolongamento da fase “lag” nas primeiras 90 horas do experimento. As demais concentrações de íons Cl^- testadas provocaram uma inibição celular total, oxidando somente cerca de 10% dos íons ferrosos presentes em solução.

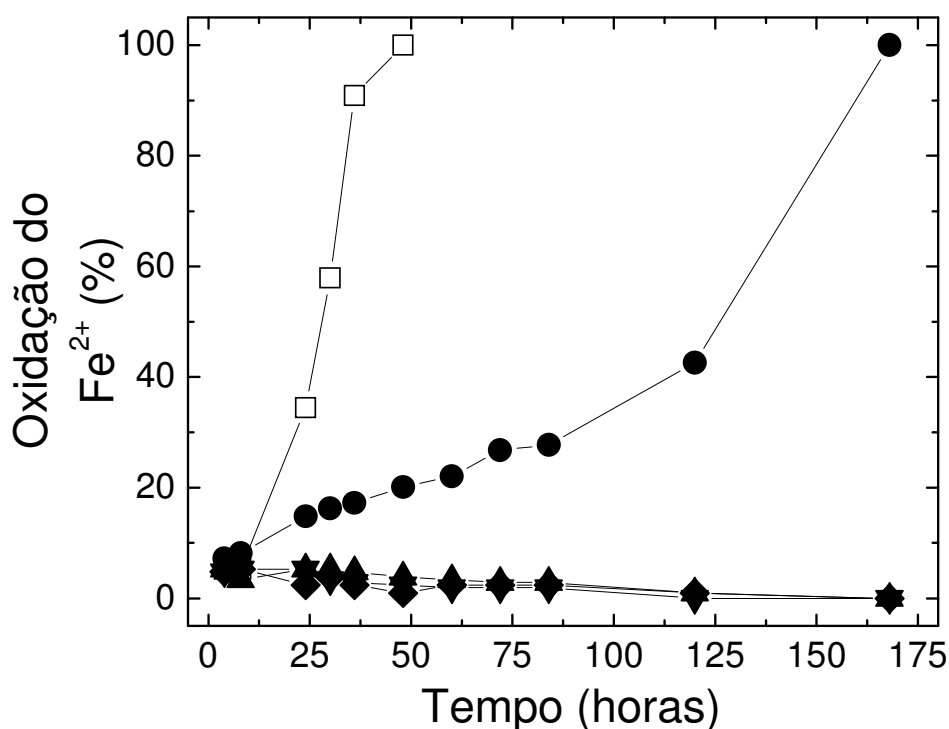


Figura 20: Porcentagem de oxidação dos íons ferrosos no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença dos íons Cl^- nas seguintes concentrações (mmol L^{-1}): (□) Controle - 0; (●) 100; (▲) 200; (▼) 400; (◆) 500.

V.2.2. Ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença de íons Cl^- e da calcopirita.

Na Figura 21 pode ser observado a variação do pH (A) e do potencial de óxido-redução (B) em função do tempo do ensaio.

Pode ser observado que os valores de pH, nas primeiras 48 h de ensaio, apresentaram o mesmo comportamento para todas as condições estudo, aumentando de 1,8 para cerca 2,1 (Figura 21A). Esse fato pode estar associado ao consumo de ácido durante oxidação da calcopirita (HACKL *et al.*, 1995; BEVILAQUA *et al.*, 2002; HORTA, 2008) e dos íons ferrosos.

Nos ensaios na presença dos íons cloreto houve uma estabilização do pH até o fim do experimento, diferentemente do ensaio controle que ocorreu uma queda no valor de pH seguido de uma estabilização do mesmo até o fim do experimento. A diminuição do valor de pH no ensaio controle pode ser justificada pela hidrólise dos íons férricos (equação [14] – [16]).

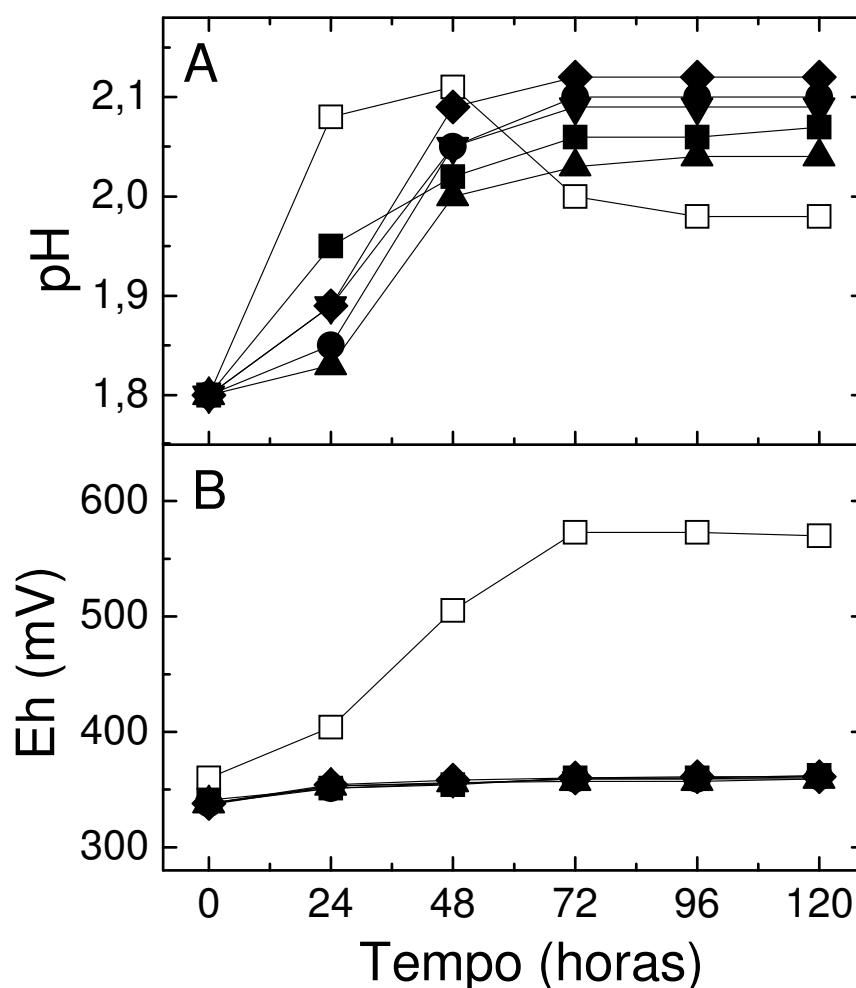


Figura 21: Variação do pH (A) e do potencial de óxido - redução (B) no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença da calcopirita e dos íons Cl⁻ nas seguintes concentrações (mmol L⁻¹): (□) Controle - 0; (■) 50; (●) 100; (▲) 200; (▼) 400; (◆) 500.

No que diz respeito ao Eh (Figura 21B) pode-se notar que os ensaios na presença dos íons cloreto apresentaram um baixo valor (~350 mV), se comparado ao ensaio controle (~600 mV). Esse baixo potencial ocorreu, provavelmente, pela inibição severa da atividade bacteriana pelos íons cloreto. A porcentagem de oxidação dos íons ferrosos por volta de 20% confirma este fato (Figura 22).

A presença da calcopirita provocou uma inibição parcial da atividade bacteriana em relação ao ensaio controle (item V.2.1) pois o tempo para a oxidação total dos íons ferrosos foi cerca de 72 horas, enquanto que o tempo para o ensaio controle foi de 24h.

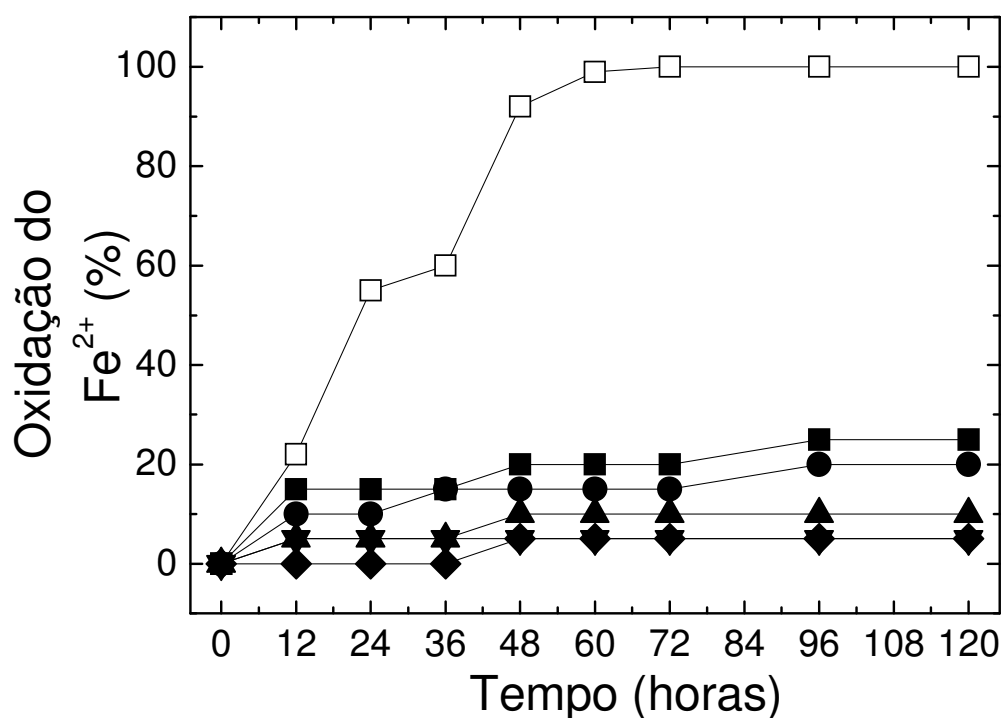


Figura 22: Porcentagem de oxidação dos íons ferrosos no ensaio de crescimento de *A. ferrooxidans* – LR na presença da calcopirita e dos íons Cl^- nas seguintes concentrações (mmol L^{-1}): (□) Controle - 0; (■) 50; (●) 100; (▲) 200; (▼) 400; (◆) 500.

Esses resultados justificaram a realização dos ensaios de adaptação das células bacterianas aos íons cloreto e à calcopirita, previamente aos ensaios de biolixiviação.

V.2.3. Biolixiviação da calcopirita na presença de 150 mmol L^{-1} de íons Cl^-

Na Figuras 23 e 24 estão ilustradas as variações de pH e potencial redox no ensaio de crescimento na presença de íons cloreto.

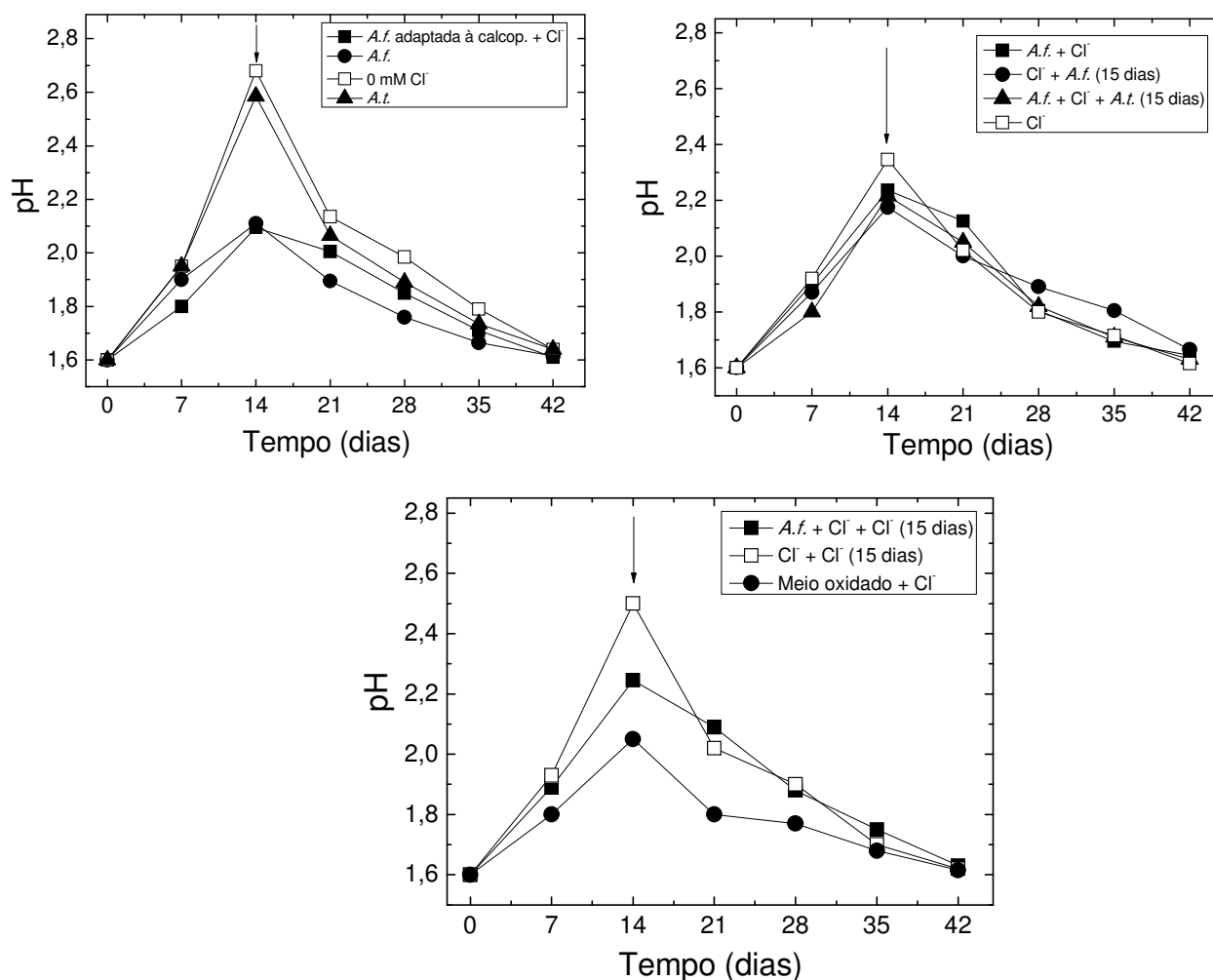


Figura 23: Variação do pH no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto. A seta indica o momento da adição de H₂SO₄.

Pode ser observado na Figura 23 que os valores de pH apresentaram praticamente o mesmo comportamento para todas as condições estudadas, ou seja, o pH dos ensaios tende a aumentar nas primeiras semanas como consequência do consumo de ácido no processo de lixiviação da calcopirita. No entanto, vale ressaltar que os ensaios abióticos apresentaram um maior aumento de pH que os ensaios inoculados. Para que esse aumento não ocasionasse a formação de precipitados sólidos, em especial as jarositas, como já discutido anteriormente, foi realizado a correção do pH com adição de ácido sulfúrico até o pH inicial de 1,6 no 14º dia de experimento.

Após a correção do pH, a partir do 21º dia, ocorreu um ligeiro aumento do mesmo seguido de uma diminuição para cerca de 1,6 até o fim do ensaio.

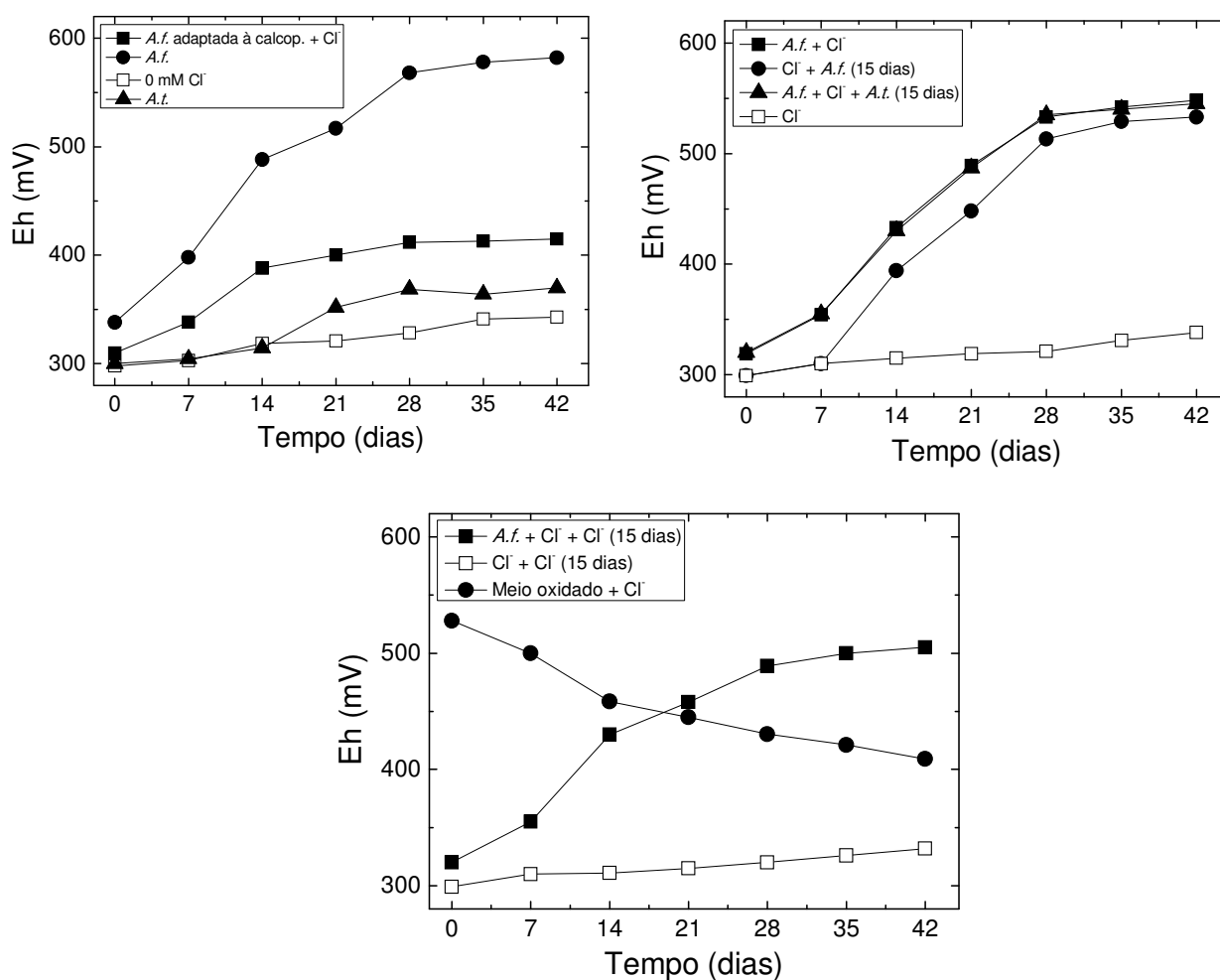


Figura 24: Variação do potencial de óxido-redução no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto.

Os valores de Eh (Figura 24) nos frascos inoculados com *A. ferrooxidans* na presença de íons cloreto foram inferiores àqueles observados na ausência deste íon. A maior diferença entre os ensaios inoculados foi observada no frasco com bactérias adaptada somente à calcopirita, o que reforça a necessidade de adaptação prévia para a realização destes ensaios. Cabe ressaltar que a adição de *A. thiooxidans* não elevou o potencial uma vez que esta bactéria não é oxidante de ferro.

No ensaio inoculado em que foi adicionado mais 150 mmol L⁻¹ de cloreto após 15 dias de ensaio, os valores de potencial se apresentaram menores do que aqueles em que não foram adicionados mais cloreto. O Eh desse ensaio ficou em torno de 500 mV.

Outro ponto importante é que o frasco que continha meio oxidante na presença de cloreto apresentou uma diminuição significativa do potencial de óxido - redução durante o período de ensaio (42 dias), indo de 550 para 400 mV. Esse fato pode ser justificado pela inibição da atividade bacteriana, explicada pela não oxidação dos íons ferrosos na solução (Figura 26).

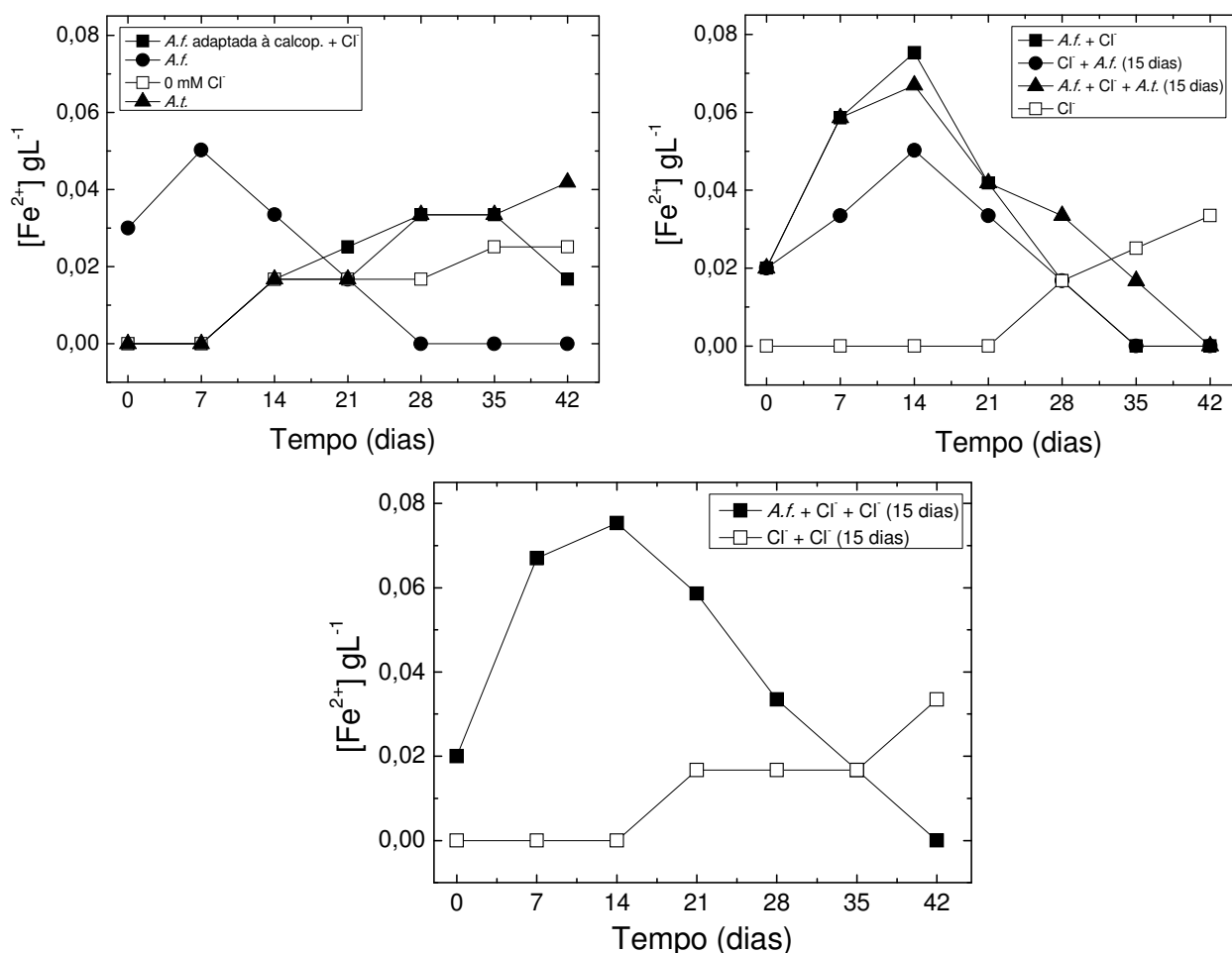


Figura 25: Variação da concentração de Fe²⁺ no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto.

As quantidades detectadas de íons ferrosos foram muito pequenas (~0,08 g L⁻¹) e maiores nos frascos em que foram adicionados íons cloreto

(Figura 25). Apesar dessa pequena concentração de íons ferrosos presente em solução pode-se notar, a partir do 14º dia de ensaio, uma diminuição do mesmo nos ensaios inoculados com *A. ferrooxidans*, justificado pela atividade oxidante dessa bactéria. Esse fato não foi constatado nos ensaios abióticos (Figura 25) e no meio oxidado (Figura 26), onde houve um aumento na concentração do Fe^{2+} até o fim do experimento (42 dias).

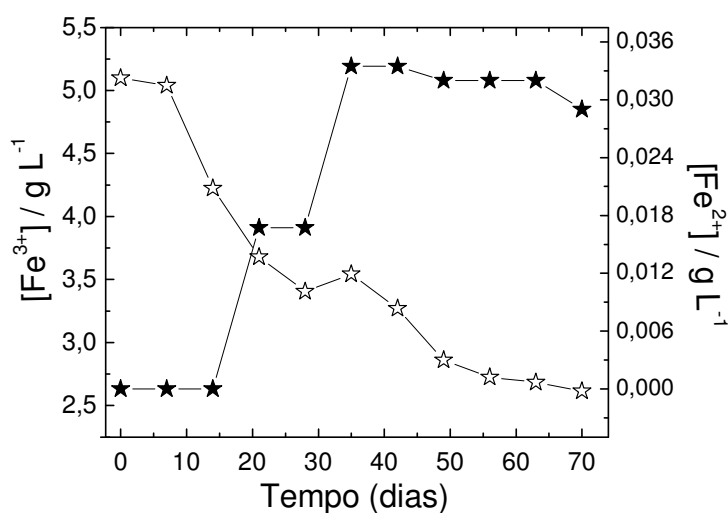


Figura 26: Variação da concentração de Fe^{2+} (★) e Fe^{3+} (☆) do frasco com meio oxidado na presença de Cl^- , no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto.

Em relação às quantidades de Fe^{3+} detectadas (Figura 26 e 27), os valores diferem muito entre as várias condições estudadas, uma vez que dependendo das variações dos valores de pH em cada condição, a precipitação destes íons pode ocorrer de maneiras muito diferentes e portanto podem não ser detectáveis em solução. No entanto, vale destacar que nas condições inoculadas houve um aumento na concentração dos íons férricos com a contínua oxidação dos íons ferrosos.

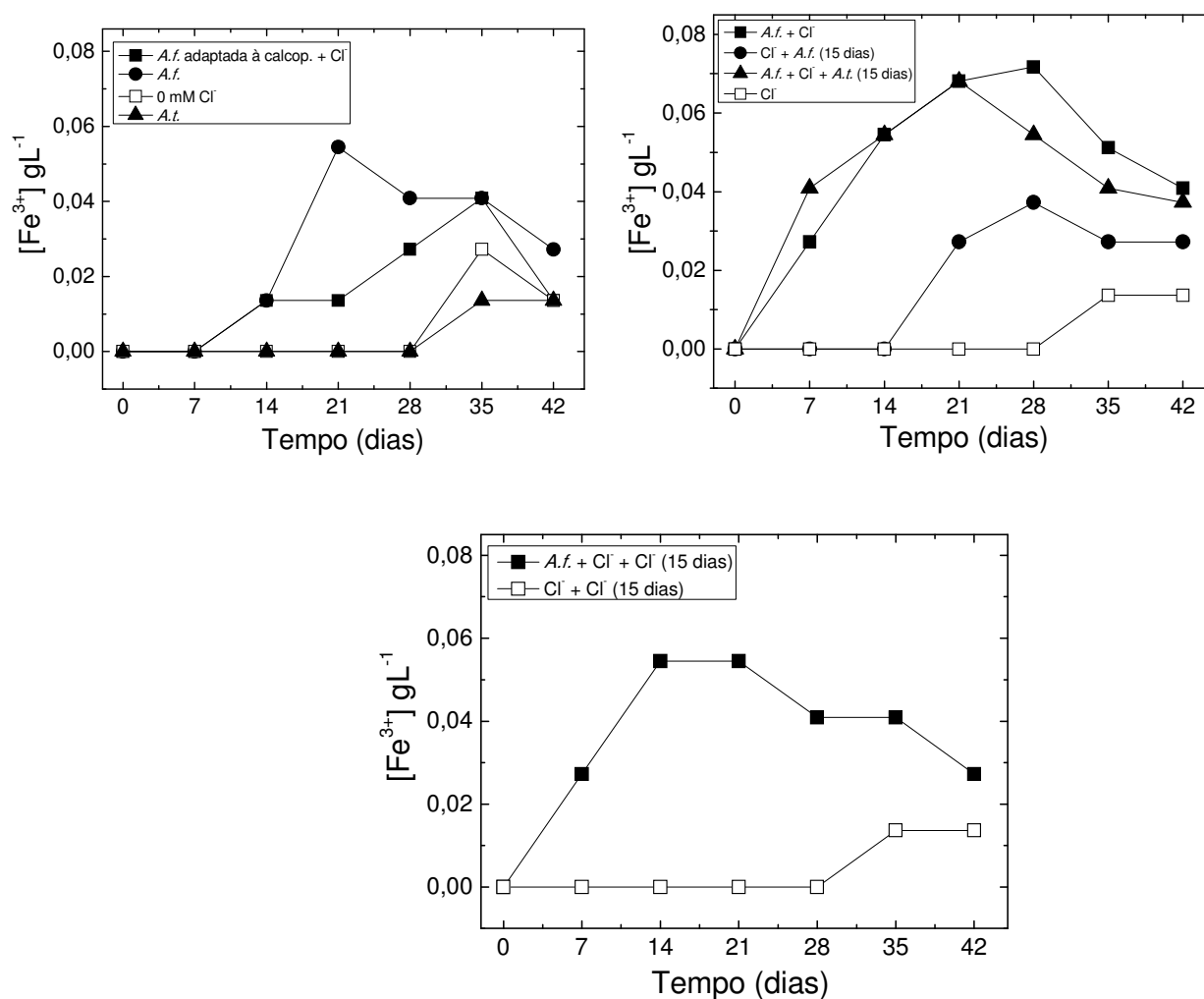


Figura 27: Variação da concentração de Fe³⁺ no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto.

Todas as condições inoculadas apresentaram maior solubilização de cobre em relação aos respectivos controles, exceto em duas condições: inoculado com *A. thiooxidans*, e meio oxidado com 150 mmol L⁻¹ de cloreto, que apresentaram valores de solubilização de cobre comparáveis aos controles não inoculados (Figura 28). A condição testada que apresentou maior solubilização de cobre (~35 %) foi aquela em houve adição de cloreto no início do ensaio e foi inoculada com bactéria adaptada à calcopirita e ao cloreto.

O ensaio inoculado com *A. ferrooxidans* adaptada somente à calcopirita apresentou uma baixa solubilização de cobre (~16%), provavelmente, pela

inibição da atividade bacteriana que pode ser confirmada pelo baixo potencial de óxido-redução (Figura 24).

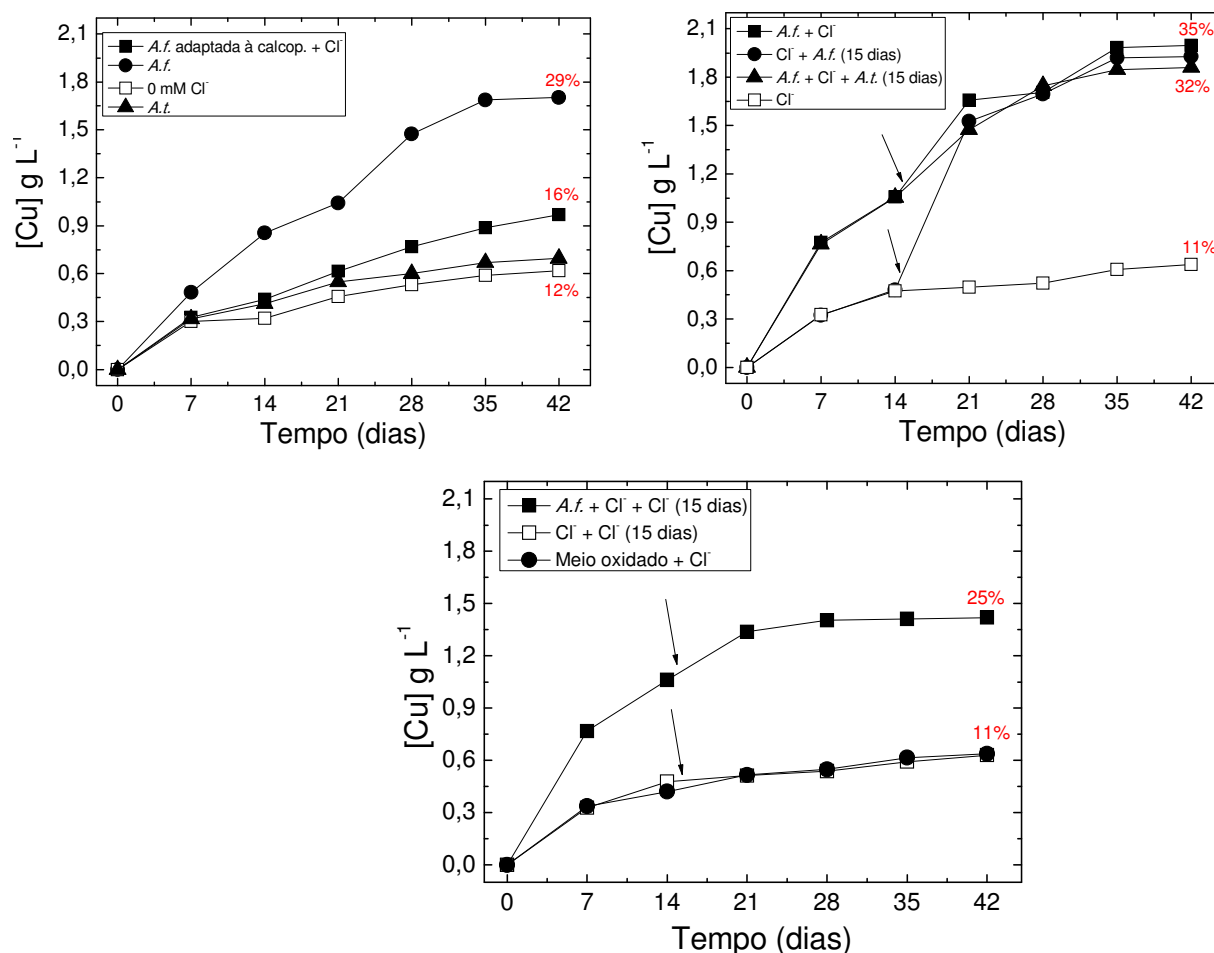


Figura 28: Variação da concentração de cobre no ensaio de biolixiviação na presença dos íons cloreto.

A adição da *A. thiooxidans* teve o intuito de diminuir a camada de enxofre sobre a calcopirita, pois essa bactéria utiliza somente o S⁰ como fonte de energia (GARCIA, 1991). Este efeito já havia sido observado em trabalhos anteriores (LAHTI, 2009), porém não foi observado nas condições utilizadas neste ensaio. Após a adição da mesma, tanto a cinética da lixiviação quanto a porcentagem de extração não apresentou diferença significativa em relação aos ensaios em que não foi inoculado *A. thiooxidans*.

Vale destacar que os ensaios na presença de 150 mmol L⁻¹ de íons cloreto apresentaram valores comparáveis de extração de cobre em relação ao

estudo com 100 mmol L^{-1} de Cl^{-} realizado por Lathi (2009). Pode-se dizer que a presença de 150 mmol L^{-1} solubilizou cerca de 7% a mais de cobre em relação ao ensaio na presença de 100 mmol L^{-1} .

V.2.4. Biolixiviação da calcopirita com adições sucessivas de 10 mmol L^{-1} e 20 mmol L^{-1} de íons Cl^{-}

Nas figuras 29A, 29B, 30A, 30B e 31 estão ilustradas as variações de pH, Eh, $[\text{Fe}^{2+}]$, $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{Cu}_{\text{total}}]$ respectivamente, com o tempo de ensaio. As condições controles também estão representadas.

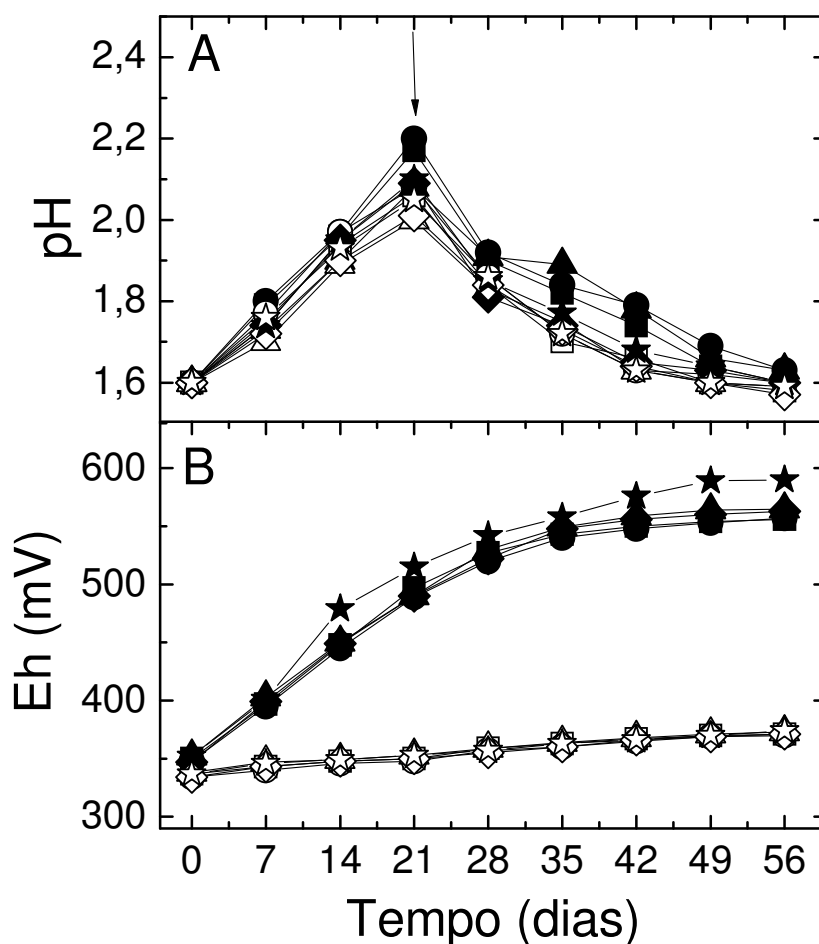


Figura 29: Variação do valor de pH (A) e do potencial de óxido-redução (B) no ensaio de biolixiviação da calcopirita com adições semanais de (■) 10 mmol L⁻¹ e (●) 20 mmol L⁻¹ e quinzenais de (▲) 10 mmol L⁻¹ e (◆) 20 mmol L⁻¹ de íons cloreto. O ensaio sem adição de íons cloreto está representado por (★). Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos.

Pode ser observado que os valores de pH apresentaram o mesmo comportamento em todas as condições testadas, incluindo os controles (Figura 29A). Assim como no ensaio anterior, item V.2.3, o pH tende a aumentar nas primeiras semanas de ensaio, logo é ajustado com H₂SO₄ para o valor inicial de 1,6. Ocorreu um ligeiro aumento do pH em todas as condições, seguido de um decréscimo a partir do 35º dia de experimento e estabilização até o fim do ensaio.

O potencial de óxido – redução dos meios na presença de íons cloreto foi menor (~ 550 mV) quando comparado a ausência desses íons (~ 600 mV)

(Figura 29B). Os controles apresentaram um potencial de aproximadamente 350 mV até o fim do ensaio. Apesar do aumento do potencial redox nos frascos inoculados ser consequência da oxidação dos íons ferrosos, as concentrações tanto de Fe^{2+} quanto de Fe^{3+} obtidas em todas as condições, foram pouco significativas.

Entretanto, na Figura 30, pode-se notar de uma maneira geral que nas primeiras semanas de ensaio houve um aumento da concentração de íons ferrosos nos frascos inoculados seguido de uma diminuição dos mesmos. Essa diminuição pode estar associada ao aumento da concentração dos íons férricos em solução devido à oxidação de Fe^{2+} pela bactéria.

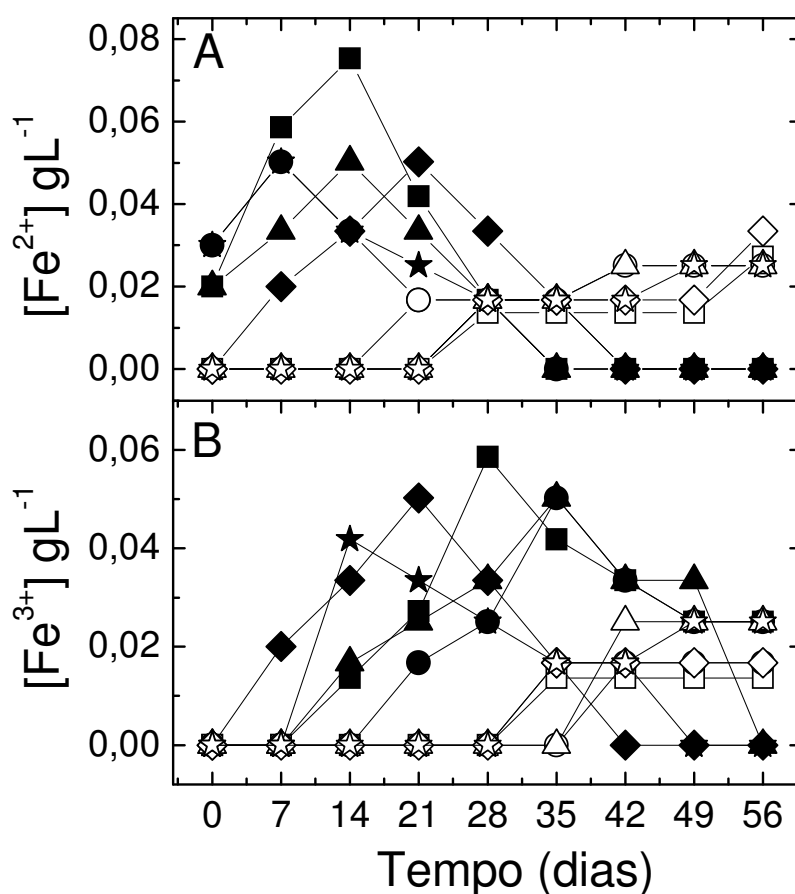


Figura 30: Variação da concentração de Fe^{2+} (A) e Fe^{3+} (B) no ensaio de biolixiviação da calcopirita com adições semanais de (■) 10 mmol L^{-1} e (●) 20 mmol L^{-1} e quinzenais de (▲) 10 mmol L^{-1} e (◆) 20 mmol L^{-1} de íons cloreto. O ensaio sem adição de íons cloreto está representado por (★). Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos.

No que se diz respeito à extração de cobre (Figura 31) pode ser observado que os ensaios inoculados apresentaram valores superiores de extração quando comparado aos seus respectivos controles (ausência de bactéria).

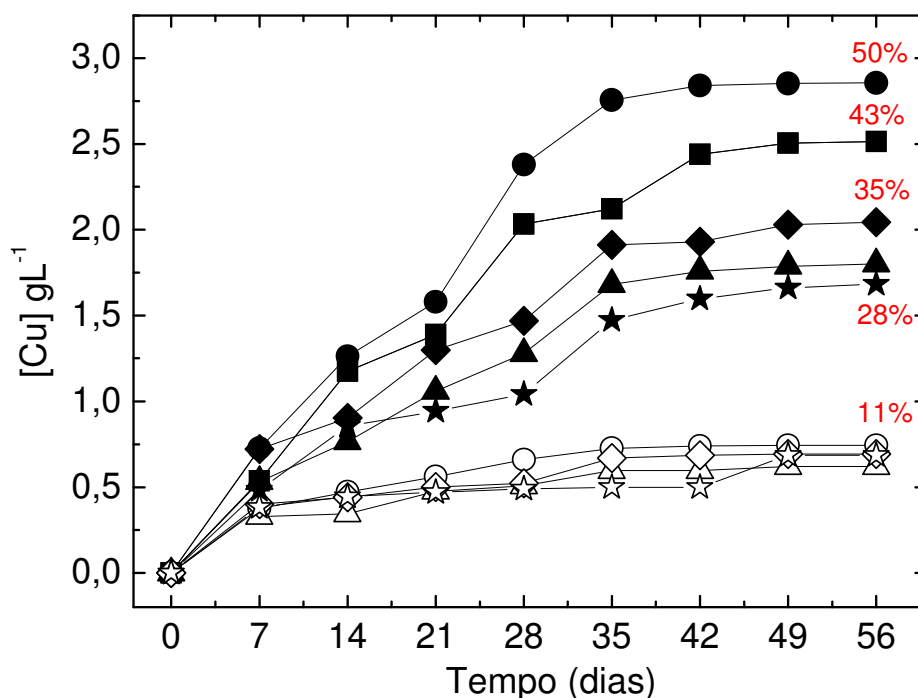


Figura 31: Variação do valor da concentração de cobre no ensaio de biolixiviação da calcopirita com adições semanais de (■) 10 mmol L⁻¹ e (●) 20 mmol L⁻¹ e quinzenais de (▲) 10 mmol L⁻¹ e (◆) 20 mmol L⁻¹ de íons cloreto. O ensaio sem adição de íons cloreto está representado por (★). Os seus respectivos controles estão representados pelos símbolos abertos.

Da mesma maneira que no ensaio anterior, os íons cloreto associados à ação bacteriana proporcionaram maiores extrações de cobre em solução. Os ensaios com adição semanal tanto de 10 mmol L⁻¹ quanto de 20 mmol L⁻¹ de íons Cl⁻ solubilizaram cerca de 2 vezes mais cobre que o ensaio na ausência de cloreto e também foram superiores aos ensaios com adição quinzenal (Figura 31).

Em comparação ao ensaio sem adição de cloreto, na adição quinzenal de 20 mmol L⁻¹, houve um ligeiro aumento da extração de cobre, porém não tão significativo quanto os ensaios com adições semanais de íons cloreto (Figura 31).

Vale destacar que o ensaio com adição semanal de íons Cl^- mostrou-se muito mais promissor que os ensaios com adição inicial de 100 mmol L^{-1} (LATHI, 2009) e 150 mmol L^{-1} , uma vez que com 42 dias de ensaio ($\sim 100 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Cl}^-$) a solubilização de cobre alcançou cerca de 3 g L^{-1} , o que correspondeu a aproximadamente 50% de extração. Estes resultados são cerca de 70% maiores que os ensaios sem adição sucessiva de cloreto. Estes resultados sugerem que as adições sucessivas de cloreto dificultam a formação de eventuais precipitados ou novas fases cristalinas que podem bloquear ou impedir a ação oxidante da solução.

V.3. Análise dos resíduos sólidos finais dos ensaios de biolixiviação da calcopirita

O difratograma correspondente à amostra mineral utilizada (Figura 32) indica que esta apresenta alto conteúdo de calcopirita e, como impurezas mais importantes, quartzo (SiO_2) e compostos fosfatados de cálcio do tipo $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{S}$, $\text{Ca}_9\text{HPO}_4(\text{PO}_4)_5\text{OH}$ ou $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$.

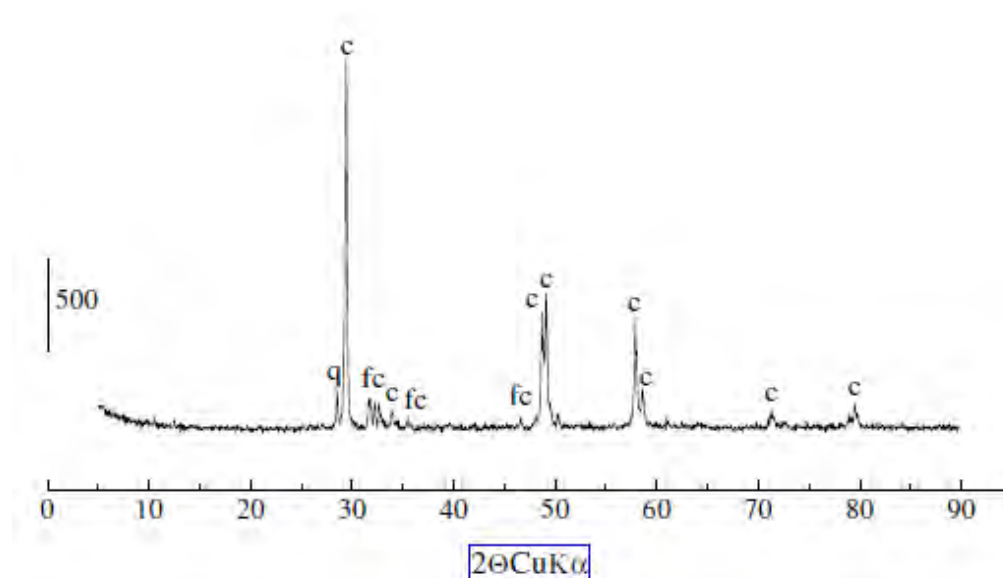


Figura 32: Difratograma de raios X da amostra original de calcopirita utilizada nos ensaios de biolixiviação. Os símbolos indicam C – calcopirita, q – quartzo e fc – compostos fosfatados de cálcio (HORTA, 2008).

V.3.1. Ácido cítrico

Na figura 33 pode ser observado o DRX do resíduo sólido final do ensaio de biolixiviação na presença e ausência do ácido cítrico.

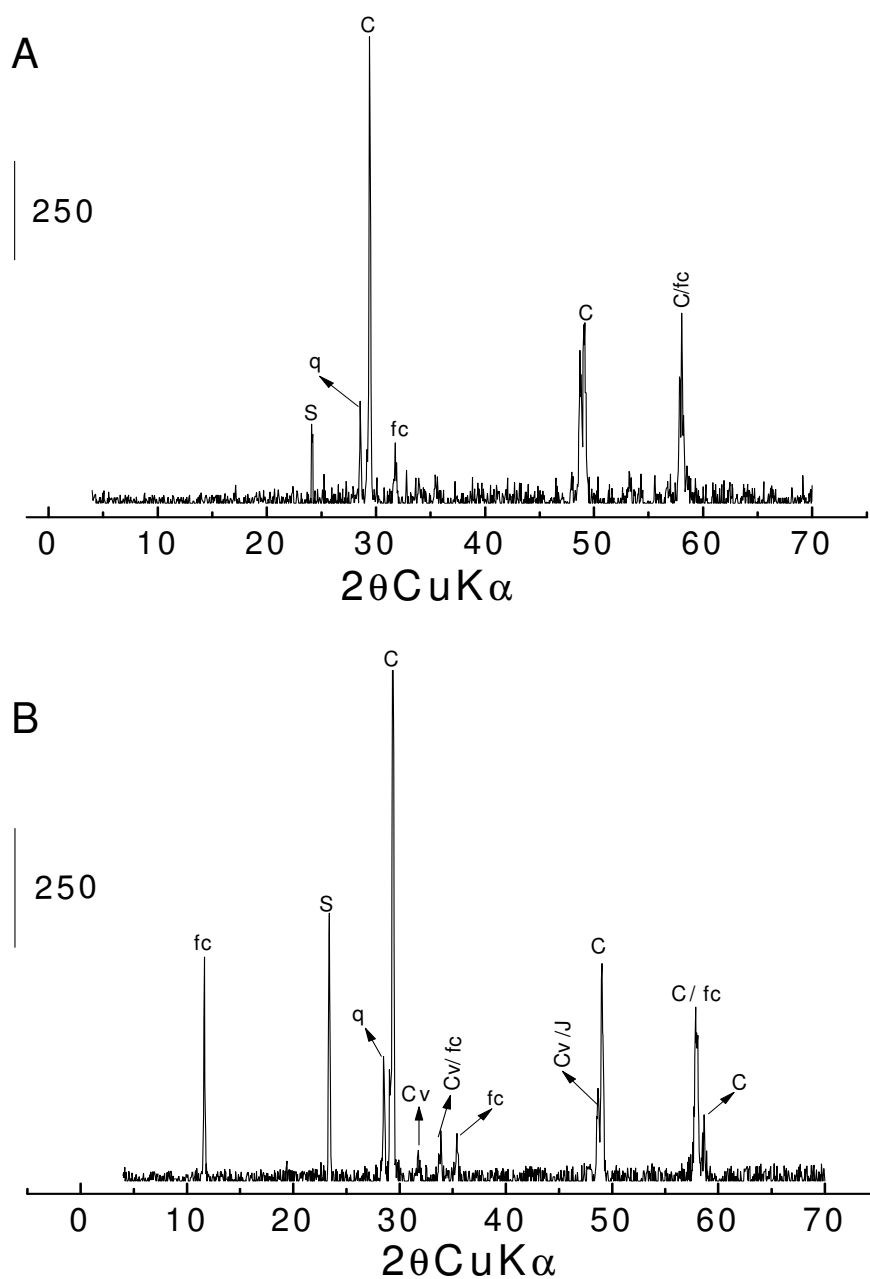


Figura 33: Difratoograma de raios X dos resíduos sólidos finais de biolixiviação na presença (A) e ausência (B) do ácido cítrico (ensaio controle 0,005%). Os símbolos indicam C – calcopirita, q – quartzo, fc – compostos fosfatados de cálcio, Cv – covelita, J – jarosita e S – enxofre.

Nas análises dos difratogramas de raios X observou-se, de maneira geral, a presença de compostos fosfatados de cálcio, quartzo e enxofre, os quais foram também encontrados na amostra original (Figura 32). Pode-se notar que esses produtos apresentaram maior intensidade no ensaio em que não foi adicionado o ácido cítrico.

A formação de jarositas bem como de covelita (CuS) foram também encontradas no ensaio na ausência de ácido cítrico (Figura 33A), podendo sugerir que a presença desse ácido teve um efeito positivo em diminuir a formação de precipitados sobre a superfície do mineral.

Pode também ser observado que os picos correspondentes à calcopirita são menos intensos nos resíduos (Figura 33) que na amostra original (Figura 32).

V.3.2. Íons cloreto

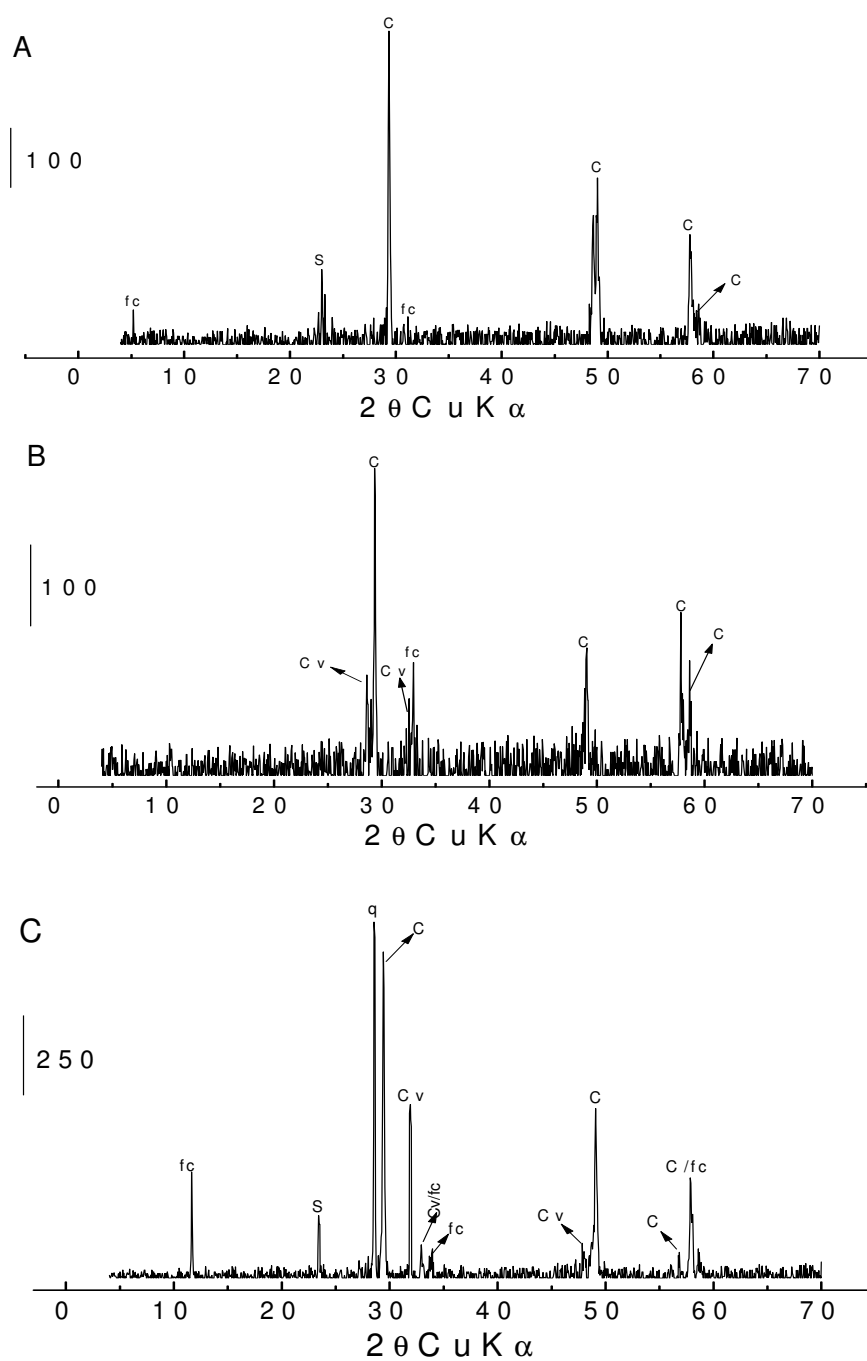


Figura 34: Difratoograma de raios X dos resíduos sólidos finais de biolixiviação na presença dos íons cloreto. A. *f.* (A), A.*f.* + 150 mmol L⁻¹ + 150 mmol L⁻¹ após 15 dias (B), Inoculado com adições semanais de 20 mmol L⁻¹ íons cloreto (C). Os símbolos indicam C – calcopirita, q – quartzo, fc – compostos fosfatados de cálcio, Cv – covelita e S – enxofre.

A presença de íons cloreto provocou o aparecimento de covelita em todos os resíduos sólidos, como pode ser observado na Figura 34 e 35. O ensaio em que houve adições sucessivas desses íons (Figura 34C), apresentou picos de covelita de maior intensidade.

Os picos de covelita no ensaio com adições quinzenais sucessivas de íons cloreto começam a aparecer a partir da primeira semana de ensaio (dados não mostrados). O aparecimento de covelita na solubilização de calcopirita já foi reportado na literatura por vários autores (Bevilaqua *et al.*, 2010). Segundo Rossi (1990) a natureza desta covelita secundária é mais susceptível ao ataque bacteriano que a covelita natural. Bevilaqua *et al* (2010) confirmaram este comportamento na dissolução bacteriana de bornita (Cu_5FeS_4). No entanto na dissolução da calcopirita, essa covelita secundária se acumulou com o tempo de ensaio, permanecendo na fase sólida até o final dos ensaios. Este fato pode ter sido o responsável pela menor solubilização de cobre em relação aos ensaios com adição semanal, que não apresentaram formação de covelita tão precocemente (dados não mostrados). Estudos posteriores devem ser realizados a fim de se confirmar esta hipótese.

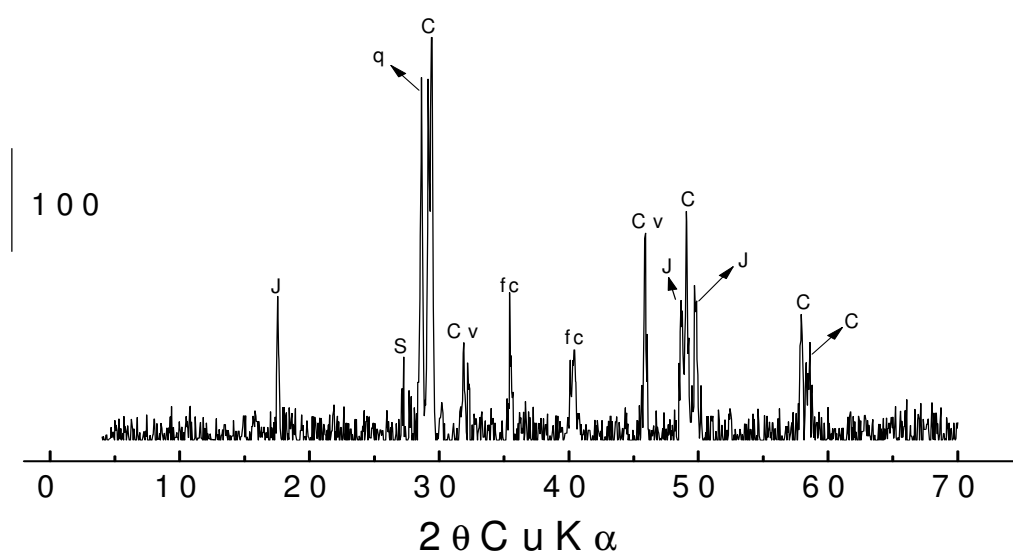


Figura 35: Difratograma de raios X dos resíduos sólidos finais de biolixiviação com meio oxidado na presença de 150mmol L^{-1} de íons cloreto. Os símbolos indicam C – calcopirita, q – quartzo, fc – compostos fosfatados de cálcio, Cv – covelita, J – jarosita e S – enxofre.

As presenças de compostos fosfatados de cálcio, quartzo e enxofre foram verificados em todas as condições de estudo, exceto aquela em que houve a adição de mais 150 mmol L^{-1} de Cl^- após 15 dias de ensaio (Figura 34B) onde não foram detectadas tais fases cristalinas.

Os resíduos sólidos finais da condição que continha meio oxidado na presença de 150 mmol L^{-1} de íons cloretos apresentou picos de jarositas de grande intensidade devido ao excesso de íons férricos em solução (Figura 35).

Apesar de não se pretender quantificar as substâncias sólidas formadas ou presentes nas amostras, observou-se em todos os ensaios de biolixiviação (com ácido cítrico e com cloreto) que os picos correspondentes à calcopirita são menos intensos nos resíduos sólidos finais (Figura 34 e 35) que na amostra original (Figura 32).

VI. CONCLUSÕES

VI.1. Ácidos orgânicos :

O ácido oxálico provocou inibição na atividade bacteriana em concentrações superiores a 0,10%, enquanto que o ácido cítrico não inibiu a atividade bacteriana em nenhuma das concentrações testadas

Apesar do ácido cítrico não ter sido capaz de solubilizar as jarositas nas condições estudadas, o mesmo provocou uma diminuição na formação desse precipitado em todas as condições estudadas.

No ensaio de biolixiviação da calcopirita na presença do ácido cítrico pode-se notar que a solubilização do cobre foi favorecida na presença de 0,005% de ácido cítrico (~2x) tanto no inoculado quanto no controle, porém com cinéticas diferentes. Já nas demais concentrações do ácido (0,5 e 1%) testadas não proporcionaram resultados promissores se comparado ao ensaio na ausência do ácido cítrico.

No DRX dos resíduos sólidos finais pode-se notar que a presença do ácido cítrico, se comparado ao ensaio na ausência desse ácido, impediu a formação de precipitados de ferro, jarositas.

VI.2. Íons cloreto:

A importância da adaptação bacteriana à calcopirita e aos íons cloreto foi comprovada pela melhor eficiência em extração de Cu obtida pelas células adaptadas quando comparadas às não adaptadas ou às adaptadas somente ao sulfeto mineral.

Nas condições testadas o íon Cl^- não pode ser considerado um lixiviante químico da calcopirita.

O ensaio com adição semanal de íons Cl^- mostrou-se muito mais promissor que os ensaios com adição inicial de 100 mmol L^{-1} e 150 mmol L^{-1} , uma vez que com 42 dias de ensaio, quando a concentração se aproximava de

100 mmol L⁻¹ Cl⁻, a solubilização de cobre alcançou cerca 50% de extração. Estes resultados são cerca de 70% maiores que os ensaios sem adição sucessiva de cloreto.

Na análise dos resíduos sólidos pode-se verificar, nos ensaios na presença dos íons cloreto, a formação de covelita com maior intensidade naquele em que houve adição quinzenal dos íons Cl⁻. No ensaio em que foi adicionado mais 150 mmol L⁻¹ de Cl⁻ não foi detectado o aparecimento de enxofre.

REFERÊNCIAS

ABREU, S. F. **Recursos minerais do Brasil**. 2. ed. São Paulo: Ed. USP, 1973, v. 2.

ABSOLON, V. J. **A comparison of biological and chemically induced leaching mechanisms of chalcopyrite**. 2008. 242 f. Thesis (Doctor in Science) - Ian Wark Research Institute, ARC Special Research Centre for Particle and Material Interfaces, University of South Australia, Mawson Lakes, 2008.

AGUIRRE, D. M. Z. **Mineralogia del proceso de oxidación bacteriana de esfarelita, proveniente del distrito minero de marmato**. 2006. 130 f. Dissertação (Maestría en Ingeniería de Materiales) - Facultad de Minas, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, 2006.

ALEXANDER, W.; STREET, A. **Metals in the service of man**. 10 th ed., Baltimore: Penguin Books, 1972.

ALVARADO, S.; MALDONADO, P.; JAQUES, I. Energy and enviromental implications of Cooper production. **Energy**, v. 24, p. 307-316, 1999.

ANDRADE, M. L. A.; CUNHA, L. M. S. de; GANDRA, G. T. O cobre brasileiro em ascensão no cenário mundial. **BNDES Setorial**, n. 13, p. 65-94, 2001.

ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de química**: questionando a vida moderna e o meio ambiente. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2006.

BALLESTER, A.; CÓRDOBA, E. Hidrometalurgia de la calcopirita: innovations in the hydrometallurgical processing of sulphides. In: HYDROCOPPER, 4th, 2005, Santiago. **Proceedings...** Santiago: [s.n.], 2005.

BARON, D.; PALMER, C. D. Solubility of jarosite at 4-35 °C. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 60, p. 185-195, 1996.

BARRETO, M. L. **Mineração e desenvolvimento sustentável**: desafios para o Brasil. Rio de Janeiro: CETEM:MCT, 2001.

BERGAMO, R. F.; NOVO, M. T.; VERISSIMO, R. V. Differentiation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* strains based on 16S-23S rDNA spacer polymorphism analysis. **Research in Microbiol**, v. 155, p. 559-567, 2004.

BETEJTIN, A. G. **Curso de mineralogia**. Moscou: Paz, 1973. p. 9-13.

BETEJTIN, A. **Curso de mineralogia**. 3. ed. Moscou: Paz, 1977. p. 196-446.

BEVILAQUA, D. **Estudo da interação do *Acidithiobacillus ferrooxidans* com calcopirita (CuFeS_2) e bornita (Cu_5FeS_4)**. 2003. 113 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.

BEVILAQUA, D.; GARCIA JUNIOR, O.; TUOVINEN, O. H. Oxidative dissolution of bornite by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Process Biochemistry**, v. 45, p. 101-106, 2010.

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.

BÔAS, R. C. V.; LIMA, L. R. P. A.; KOHLER, H. M. Modelagem e simulação do processo de lixiviação em pilha de minérios auríferos voltados ao desenvolvimento de critérios de sustentabilidade. In. BÔAS, R. C. V.; BEINHOFF, C. (Ed.). **Indicadores de sostenibilidad para la industria extractiva mineral**. Rio de Janeiro: CNPq:CYTED, 2002. p. 241-261.

BOEKEMA, C.; KRUPSKI, A. M.; VARASTE, M.; PARVIN, K.; VANTIL, F.; VAN DER WOUDE, F.; SAWATZKY, G. A. Cu and Fe valence states in CuFeS_2 . **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 272, p. 559-561, 2004.

BOON, M. **Theoretical and experimental methods in the modeling of bio-oxidation kinetics of sulphide minerals.** 1996. 453 f. Thesis (Ph.D. in Chemistry), Technical University of Delft, Netherlands, 1996.

BOSECKER, K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 20, p. 591-604, 1997.

BRIERLEY, J. A. A perspective on developments in biohydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 94, p. 2-7, 2008.

BRIERLEY, J. A.; BRIERLEY, C. L. Present and future commercial applications of biohydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 233-239, 2001.

BRIERLEY, J. A.; LE ROUX, N. W. A facultative thermophilic *Thiobacillus*-like bacterium: oxidation of iron and pyrite. In: SCHWARTZ, W. **Bacterial leaching.** New York: Verlag Chemie, 1977. p. 55-66.

BRYNER, L. C.; JAMESON, A. K. Microorganisms in leaching sulfide minerals. **Applied Microbiology**, v. 6, p. 281-287, 1958.

CANDY, R. M.; BLIGHT, K. R.; RALPH, D. E. Specific iron oxidation and cell growth rates of bacteria in batch culture. **Hydrometallurgy**, v. 98, p. 148-155, 2009.

CARNEIRO, M. F. C.; LEÃO, V. A. The role of sodium chloride on surface properties of chalcopyrite leached with ferric sulphate. **Hydrometallurgy**, v. 87, p. 73-82, 2007.

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

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

CIMINELLI, V. S. T. Hidrometalurgia. In: FERNANDES, R. C. (Ed.). et al. **Tendências tecnológicas Brasil 2015: geociências e tecnologia mineral**. Rio de Janeiro: CETEM:MCT, 2007. Cap. 4, p. 157-174.

CÓRDOBA, E. M.; MUÑOZ, J. A.; BLÁZQUEZ, M. L.; GONZÁLEZ, F.; BALLESTER, A. Leaching of chalcopyrite with ferric ion. Part I: general aspects. **Hydrometallurgy**, v. 93, p. 81-87, 2008.

CROWSON, P. Trends in the global mining industry: rocket or roller-coaster ? In: SPEED, A. P. **International competition for resources**. Dundee: University Press, 2008. p. 21-42.

CRUNDWELL, F. K. How do bacteria interact with minerals? **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 75-81, 2003.

DAOUD, J.; KARAMANEV, D. Formation of jarosite during Fe^{2+} oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Minerals Engineering**, v.19, p. 960-967, 2006.

DREVER, J. I.; STILLINGS, L. L. The role of organic acids in mineral weathering. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 120, p. 167-181, 1997.

DUTRIZAC, J. E. The dissolution of chalcopyrite in ferric sulfate and ferric chloride media. **Metallurgical and Materials Transactions B**, v. 12B, p. 371-378, 1981.

EDWARDS, H. G. M.; RUSSELL, N. C. Vibrational spectroscopic study of iron (II) and iron (III) oxalates. **Journal of Molecular Structure**, v. 443, p. 223-231, 1998.

EHRlich, H. L. Past, present and future of biohydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 127-134, 2001.

FIELD, T.; McCOURT, J. L. A.; McBRYDE, W. A. E. Composition and stability of iron and copper citrate complexes in aqueous solution. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 52, p. 3119-3124, 1974.

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.; BEVILAQUA, D. **Microbiologia ambiental – microrganismos, minerais e metais**. 2. ed. Jaguariúna: Embrapa, 2008. p. 49-81.

GARCIA JUNIOR, O.; URENHA, L. C. **Biotecnologia industrial**: lixiviação bacteriana de minérios. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v. 3, p. 285-512.

GAUTIER-LUNEAU, I.; MERLE, C.; PHANON, D.; LEBRUN, C.; BIASO, F.; SERRATRICE, G.; PIERRE J. L. New trends in the chemistry of iron(III) citrate complexes: correlations between X-ray structures and solution species probed by electrospray mass spectrometry and kinetics of iron uptake from citrate by iron chelators. **Chemistry: A European Journal**, v. 11, p. 2207-2219, 2005.

GRAEDEL, T. E.; BERTRAM, M.; FUSE, K.; GORDON, R.B.; LIFSET, R.; RECHBERGER, H.; SPATARI, S. The contemporary European copper cycle: the characterization of technological copper cycles. **Ecological Economics**, v. 42, p. 9-26, 2002.

GRISHIN'T, S. I.; BIGHAM, J. M.; TUOVINEN, O. H. Characterization of jarosite formed upon bacterial oxidation of ferrous sulfate in a packed-bed reactor. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, p. 3101-3106, 1988.

HABASHI, F. **Chalcopyrite**: its chemistry and metallurgy. Chatham: McGraw-Hill, 1978.

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.

HARAHSHEH, M.; KINGMAN, S.; AL-HARAHSHEH, A. Ferric chloride leaching of chalcopyrite: synergetic effect of CuCl_2 . **Hydrometallurgy**, v. 91, p. 89 – 97, 2008.

HARAHUC, L.; LIZAMA H. M.; SUZUKI, I. Selective inhibition of the oxidation of ferrous iron or sulfur in *Thiobacillus ferrooxidans*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, p. 1031-1037, 2000.

HARTMAN, H. L. (Ed.). **SME mining engineering handbook**. Littleton: Society for Mining, Metallurgy, and Exploration, 1992. p. 3.

HORTA, D. G. **Influência da adição da espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans* e de íons Cl^- na dissolução da calcopirita (CuFeS_2)**. 2008. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

HUANG, W. H.; KELLER, W. D. Dissolution of rock forming minerals in organic acids: simulated first stage weathering of fresh mineral surfaces. **American Mineralogist**, v. 55, p. 2076-2094, 1970.

HYVARINEN, O.; HAMALAINEN, M. HydroCopper™-a new technology producing copper directly from concentrate. **Hydrometallurgy**, v. 77, p. 61, 2005.

IVARSON, K. C. Microbiological formation of basic ferric sulfates. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 16, p. 23-33, 1973.

JIANG, H.; LAWSON, F. Reaction mechanism for the formation of ammonium jarosite. **Hydrometallurgy**, v. 82, p. 195-198, 2006.

JOHNSON, D. B.; HALLBERG, K. B. The microbiology of acidic mine waters. **Research in Microbiology**, v. 154, p. 466-473, 2003.

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.

KARAVAIKO, G. I.; TUROVA, T. P.; KONDRAT'EVA, T. F.; LYSSENKO, A. M.; KOLGANOVA, T. V.; AGEEVA, S. N.; MUNTYAN, L. N.; PIVOVAROVA, T. A. Phylogenetic heterogeneity of the species *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 113-119, 2003.

KLAUBER, C. Fracture reconstruction of a chalcopyrite CuFeS_2 surface. **Surface and Interface Analysis**, v. 35, p. 415-428, 2003.

KLAUBER, C. A critical review of the surface chemistry of acidic ferric sulphate dissolution of chalcopyrite with regards to hindered dissolution. **International Journal of Mineral Processing**, v. 86, p. 1-17, 2008.

KELLY, D. P.; WOOD, A. P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 511-516, 2000.

KÖNIGSBERGER, L.-C.; KÖNIGSBERGER, E.; MAY, P. M.; HEFTER, G. T. Complexation of iron(III) and iron(II) by citrate. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 78, p. 175-184, 2000.

LAHTI, H. **Chalcopyrite bioleaching using mesophiles with emphasis on surface passivation**. 2009. 121 f. Thesis (Master of Science) – Environmental Biotechnology, University of Technology, Finland, 2009.

LAWSON, E. N.; NICHOLAS, C. J.; PELLAT, H. The toxic effects of chloride ions on *Thiobacillus ferrooxidans*. In: VARGA, T.; JEREZ, C.A.; WIERTZ, J. V.; TOLEDO, H. (Ed.). **Biohydrometallurgy processing**. Santiago: Universidad de Chile, 1995. p. 165-174.

LE ROUX, N. W.; WAKERLEY, D. S.; HUNT, S. D. Thermophilic *Thiobacillus* - type bacteria from Icelandic thermal areas. **Journal of General Microbiology**, v. 100, p. 197-201, 1977.

LEAHY, M. J.; SCHWARZ, M. P. Modeling jarosite precipitation in isothermal chalcopyrite bioleaching columns. **Hydrometallurgy**, v. 98, p. 181-191, 2009.

LEE, S. O.; TRAN, T.; PARK, Y. Y.; KIM S. J.; KIM, M. J. Study on the kinetics of iron oxide leaching by oxalic acid. **International Journal of Mineral Processing**, v. 80, p. 144-152, 2006.

LEE, S. O.; TRAN, T.; JUNG, B. H.; KIM, S. J.; KIM, M. J. Dissolution of iron oxide using oxalic acid. **Hydrometallurgy**, v. 87, p. 91-99, 2007.

LIDDICOAT, J.; DREISINGER, D. Chloride leaching of chalcopyrite. **Hydrometallurgy**, v. 89, p. 323-331, 2007.

LU, Z. Y.; JEFFREY, M. I.; LAWSON, F. The effect of chloride ions on the dissolution of chalcopyrite in acidic solutions. **Hydrometallurgy**, v. 56, p. 189-202, 2000a.

LU, Z. Y.; JEFFREY, M. I.; LAWSON, F. An electrochemical study of the effect of chloride ions on the dissolution of chalcopyrite in acidic solutions. **Hydrometallurgy**, v. 56, p. 145-155, 2000b.

LUNDGREN, D. G.; SILVER, M. Ore leaching by bacteria. **Annual Review Microbiology**, v. 34, p. 263-283, 1980.

LUNDSTROM, M.; AROMA, J.; FORSÉN, O.; HYVARINEN, O.; BARKER, M. H. Leaching of chalcopyrite in cupric chloride solution. **Hydrometallurgy**, v. 77, p. 89-95, 2005.

MAJIMA, H.; AWAKURA, Y.; HIRATO, T. The leaching of chalcopyrite in ferric chloride and ferric sulfate solutions. **Canadian Metallurgical Quarterly**, v. 24, n.4, p. 283-291, 1985.

MANLEY, E. P.; EVANS, L. J. Dissolution of feldspars by low-molecular-weight aliphatic and aromatic acids. **Soil Science**, v. 141, p. 106-117, 1986.

MIKHLIN, Y. L.; TOMASHEVICH, Y. V.; ASANOV, I. P.; OKOTRUB, A. V.; VARNEK, V. A.; VYALIKH, D. V. Spectroscopy and electrochemical characterization of the surface layers of chalcopyrite (CuFeS_2) reacted in acidic solutions. **Applied Surface Science**, v. 225, p. 395-409, 2004.

NAVA, D.; GONZÁLES, I.; LEINEN, D.; RAMOS-BARRADO, J. R. Surface characterization by X-ray photoelectron spectroscopy and cyclic voltammetry of products formed during the potentiostatic reduction of chalcopyrite.

Electrochimica Acta, v. 53, p. 4889-4899, 2008.

NDLOVU, S. Biohydrometallurgy for sustainable development in the African minerals industry. **Hydrometallurgy**, v. 91, p. 20-27, 2008.

NOVELLO, A. P. F. **Análise proteômica diferencial de *Acidithiobacillus ferrooxidans* em resposta aos sulfetos minerais calcopirita e bornita e efeito de uma proteína recombinante de *A. ferrooxidans* - LR contendo cisteína na oxidação bacteriana da calcopirita**. 2008. 189 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

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

OLSON, G. J.; BRIERLEY, J. A.; BRIERLEY, C. L. Bioleaching review part B: Progress in bioleaching: applications of microbial processes by the minerals industries. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 63, p. 249-257, 2003.

PANIAS, D.; TAXIARCHOU M.; PASPALIARIS, I.; KONTOPOULOS, A. Mechanisms of dissolution of iron oxides in aqueous oxalic acid solutions. **Hydrometallurgy**, v. 42, p. 257-265, 1996.

PAPIKE, J. J.; KARNER, J. M.; SHEARER, C. K. Comparative planetary mineralogy: implications of martian and terrestrial jarosite. A crystal chemical perspective. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 70, p. 1309-1321, 2006.

PARKER, G. K.; WOODS, R.; HOPE, G. A. Raman investigation of chalcopyrite oxidation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, v. 318, p. 160-168, 2008.

PEACEY, J.; GUO, X.-J.; ROBLES, E. Copper hydrometallurgy-current status, preliminary economics, future direction and positioning versus smelting. **Transactions- Nonferrous Metals Society of China**, v. 14, p. 560-568, 2004.

PIERRE, J. L.; GAUTIER-LUNEAU, I. Iron and citric acid: a fuzzy chemistry of ubiquitous biological relevance. **BioMetals**, v. 13, p. 91-96, 2000.

POGLIANI, C.; DONATI, E. Immobilisation of *Thiobacillus ferrooxidans*: importance of jarosite precipitation. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 997-1004, 2000.

POURBAIX, M. J. N. **Atlas of electrochemical equilibrium in aqueous solutions**. Elmsford: Pergamon, 1966.

PRADHAN, N.; NATHSARMA, K. C.; RAO, K. S.; SUKLA, L. B.; MISHRA, B. K. Heap bioleaching of chalcopyrite: a review. **Minerals Engineering**, v. 21, p. 355-365, 2008.

PUVVADA, G. V. K.; MURTHY, D. S. R. Selective precious metals leaching from a chalcopyrite concentrate using chloride/hypochlorite media. **Hydrometallurgy**, v. 58, p. 185-191, 2000.

QUATRINI, R.; JEDLICKI, E.; HOLMES, D. S. Genomic insights into the iron uptake mechanisms of the biomining microorganism *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Journal Industries Microbiology Biotechnology**, v. 32, p. 606-614, 2005.

RADETZKI, M. Seven thousand years in the service of humanity-the history of copper, the red metal. **Resources Policy**, v. 34, p. 176-184, 2009.

RAWLINGS, D. E. The molecular genetics of *Thiobacillus ferrooxidans* and other mesophilic, acidophilic, chemolithotrophic, iron- or sulfur-oxidizing bacteria. **Hydrometallurgy**, v. 59, n. 2-3, p. 187-201, 2001.

RAWLINGS, D. E. Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates. **Microbial Cell Factories**, v. 4, n. 13, p. 1-15, 2005.

RAWLINGS, D. E.; JOHNSON, D. B. The microbiology of biomining: development and optimization of mineral-oxidizing microbial consortia. **Microbiology**, v. 153, p. 315-324, 2007.

RAWLINGS, D. E.; SILVER, S. Mining with microbes. **Biotechnology**, v. 13, p. 773-778, 1995.

RAWLINGS, D. E.; DEW, D.; PLESSIS, C. Biomineralization of metal-containing ores and concentrates. **Trends in Biotechnology**, v. 21, p. 38-44, 2003.

REIS, G. L. R. História invejável: CVRD 65 anos. **Brasil Mineral**, n. 261, p. 18-60, 2007.

RIBEIRO, W. A. N. **Bioliixiviação de minério de cobre da mina de Sossego, PA - Companhia Vale do Rio Doce**. 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

RODRÍGUEZ, Y.; BLÁZQUEZ, M. L.; BALLESTER, F.; GONZÁLEZ, F.; MUÑOZ, A. J. La biolixivación al comienzo del siglo XXI. **Revista de Metalurgia**, v. 37, p. 616-627, 2001.

RODRÍGUEZ, Y.; BALLESTER, A.; BLÁZQUEZ, F.; GONZÁLEZ, F.; MUÑOZ, J. A. New information on the pyrite bioleaching mechanism at low and high temperature. **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 37-46, 2003.

ROHWERDER, T.; GEHRKE, T.; KINZLER, K.; SAND, W. Bioleaching review part A: progress in bioleaching fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 63, p. 239-248, 2003.

ROSSI, G. **Biohydrometallurgy**. Hamburg: MacGraw-Hill, 1990. p. 2-5.

RUDOLFS, W.; HELBROUNER, A. Oxidation of zinc sulfide by microorganisms. **Soil Science**, v. 14, p. 459-464, 1922.

SAND, W.; GEHRKE, T.; HALLMANN, R.; SCHIPPERS, A. Sulfur chemistry biofilm, and the indirect attack mechanism, a critical evaluation of bacterial leaching. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 43, p. 961-996, 1995.

SAND, W., GEHRKE, T.; JOZSA, P.; SCHIPPEERS, A. (Bio)chemistry of bacterial leaching - direct vs. indirect bioleaching. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 159-175, 2001.

SANTOS, R.; CIMINELLI, V. Hidrometalurgia. In: FERNANDES, F. R. C.(Ed.). et al. **Tendências tecnológicas Brasil 2015: geociências e tecnologia mineral**. Rio de Janeiro: CETEM:MCT, 2007. p.151-163.

SCHIPPERS, A. Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification. In: DONATI, E. R.; SAND, W. **Microbial processing of metal sulfides**. La Plata: Springer, 2007. Cap. 1, p. 3-33.

SCHIPPERS, A.; SAND, W. Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. **Applied Environment Microbiology**, v. 65, p. 319-21, 1999.

SCOTT, K. Origin of alunite- and jarosite-group minerals in the Mt. Leyshon epithermal gold deposit, northnest Queensland, Australia. **American Mineralogist**, v. 75, p. 1176-1181, 1990.

SHIERS, D. W.; BLIGHT, K. R.; RALPH, D. E. Sodium sulphate and sodium chloride effects on batch culture of iron oxidizing bacteria. **Hydrometallurgy**, v. 80, p. 75-82, 2005.

SHU-XIN T.; ZHI-FEN, G.; JIN-HE, S. Effect of oxalic acid on potassium release from typical chinese soils and minerals. **Pedosphere**, v.17, p. 457-466, 2007.

SILVERMAN, M. P.; LUNDGREN, D. G. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Thiobacillus ferrooxidans* 1: an improved medium and a harvesting procedure for securing high cellular yields. **Journal of Bacteriology**, v. 77, p. 642-647, 1959.

SKROBIAN, M.; HAVLIK, T.; UKASIK, M. The effect of NaCl concentration and particle size on chalcopyrite leaching in cupric chloride solution. **Hydrometallurgy**, v. 77, p. 109-114, 2005.

SMITH, J. R.; LUTHY, R. G.; MIDDLETON, A. C. Microbial ferrous iron oxidation in acidic solution. **Journal of the Water Pollution Control Federation**. v. 60, p. 518-530, 1988.

STOTT, M. B.; WATLING, H. R.; FRANSMANN, P. D.; SUTTON, D. The role of iron - hydroxy precipitates in the passivation of chalcopyrite during bioleaching. **Minerals Engineering**, v.13, p. 1117-1127, 2000.

SUZUKI, I. Microbial leaching of metals from sulfide minerals. **Biotechnology Advances**, v.19, p. 119-132, 2001.

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

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 CO_2 -fixation and iron oxidation as measures on growth. **Archives of Microbiology**, v. 88, p. 285-298, 1973.

VILCÁEZ, J.; SUTO, K.; INOUE, C. Bioleaching of chalcopyrite with thermophiles: temperature–pH–ORP dependence. **International Journal of Mineral Processing**, v. 88, p. 37-44, 2008.

VOGEL, A. **Análise inorgânica quantitativa**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1981.

WAGNER, A. A eleição presidencial e a mineração. **Gazeta Mercantil**, São Paulo, n. 36, p. A3, 20 set. 2002.

WAKSMAN, S. A.; JOFFE, I. S. Microorganisms concerned with the oxidation of sulfur in soil. II *Thiobacillus thiooxidans*, a new sulfur oxidizing organism isolated from the soil. **Journal Bacteriology**, v. 7, p. 239-256, 1922.

WANG, H.; BIGHAM, J. M.; TUOVINEN, O. H. Formation of schwertmannite and its transformation to jarosite in the presence of acidophilic iron – oxidizing microorganisms. **Material Science & Engineering**, v. 26, p. 588-592, 2006.

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

WINAND, R. Chloride hydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 27, p. 285-316, 1991.

XIA, L.; LIU, X.; ZENG, J.; YIN, C.; GAO, J.; LIU, J.; QIU, G. Mechanism of enhanced bioleaching efficiency of *Acidithiobacillus ferrooxidans* after adaptation with chalcopyrite. **Hydrometallurgy**, v. 901, 2008.