



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA**

**Biolixiviação de minério de cobre da mina de Sossego,
PA - Companhia Vale do Rio Doce**

Wilson Alves Ribeiro Neto

Araraquara, 2007

Wilson Alves Ribeiro Neto

**Biolixiviação de minério de cobre da mina de Sossego,
PA - Companhia Vale do Rio Doce**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Instituto de Química - Câmpus de Araraquara,
da Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para a obtenção do título de
mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Garcia Jr.

Co-orientadora: Dra. Denise Bevilaqua

Araraquara, 2007

Dedico

***aos meus pais, Wilson e Fátima, pela
oportunidade de estudar e por estarem sempre ao
meu lado nas horas difíceis. A vocês, minha eterna
gratidão;***

***à minha esposa e filho, Alessandra e
Alexandre. Obrigado por vocês existirem!***

***Aos meus irmãos, Dário e Felipe, por todos
esses anos de convivência.***

Agradeço

ao professor Dr. Oswaldo Garcia Jr., grande orientador e professor, pela aprendizagem e pela contínua orientação;

à Dra. Denise Bevilaqua, pela ajuda no laboratório e pelo inestimável auxílio com os artigos e referências;

aos técnicos Waldenir, Gustavo e Juliana, pela amizade e convivência;

aos colegas de laboratório, Robson (Cebinho), Lesado, Mineiro, Ana Paula, Heloisa, Alexandra, Daniela, Priscila e Fabiana;

a todas as pessoas que passaram pela república “A Rocha”, pelo apoio e pela amizade durante todos esses anos;

ao professor Assis Vicente Benedetti, pelas sugestões;

aos outros professores, Anchieta, Clóvis, Raquel, Massao e Mercedez, que esclareceram minhas freqüentes dúvidas;

aos funcionários Sebastião, Neide e, principalmente, à Maria Helena, do departamento de Físico-Química, pela boa vontade e pela colaboração;

às funcionárias da Biblioteca, pela sua atenção durante todos esses anos;

a todos os funcionários da seção de pós-graduação, pela paciência e tolerância com os prazos estipulados;

e, finalmente, à Capes, pelo auxílio financeiro concedido.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMO	iv
ABSTRACT	vii
I. INTRODUÇÃO	01
I.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	06
I.1.1. <i>ACIDITHIOBACILUS FERROOXIDANS</i>	06
I.1.2. O PROCESSO DE BIOLIXIVIAÇÃO	09
II. OBJETIVOS	15
III. MATERIAIS E MÉTODOS	16
III.1 LINHAGEM BACTERIANA	16
III.2 AMOSTRA MINERAL	16
III.3 MEIO DE CULTURA	17
III.4 ENSAIOS REALIZADOS	17
III.4.1. EFEITO DO Cl^- , Ag^+ E TWEEN 80 NA OXIDAÇÃO DO Fe^{2+} POR <i>A. FERROOXIDANS</i> -LR.	17
III.4.2. BIOLIXIVIAÇÃO EM FRASCOS AGITADOS	18
III.5. METODOLOGIA ANALÍTICA	19
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
IV.1. EFEITO DO Cl^- , Ag^+ E TWEEN 80 NA OXIDAÇÃO DO Fe^{2+} POR <i>A. FERROOXIDANS</i> -LR.	24
IV.2. BIOLIXIVIAÇÃO EM FRASCOS AGITADOS	27
V. CONCLUSÕES	46
V. REFERÊNCIAS	47
ANEXO	54

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Biolixiviação estática em pilhas para cobre.

Tabela 2. Alguns projetos em andamentos ou previstos para a produção de cobre no Brasil.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema do mecanismo do tiosulfato e do polissulfeto na biolixiviação dos sulfetos metálicos.

Figura 2. Esquema geral da biolixiviação estática em pilhas.

Figura 3 Difratograma de raios x do minério original utilizado nos experimentos de biolixiviação.

Figura 4. Efeito da concentração do íon cloreto na oxidação do íon ferroso por *A. ferrooxidans*-LR.

Figura 5. Efeito da concentração de Tween 80 na oxidação do íon ferroso por *A. ferrooxidans*-LR.

Figura 6: Efeito da concentração do íon prata na oxidação do íon ferroso por *A. ferrooxidans*-LR.

Figura 7: Variação do pH (■) e do potencial de óxido-redução (●) no experimento de biolixiviação de minério de cobre em frascos, na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e de controles (símbolos vazios). (A) solução A do meio T&K; (B) solução A do meio T&K, com adição suplementar de 30 mMol L⁻¹ de Fe²⁺; (C) meio T&K completo, previamente oxidado pela bactéria.

Figura 8: Variação do pH (■) e do potencial de óxido-redução (●) no experimento de biolixiviação em frascos, na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e de controles (símbolos vazios), em minério de cobre. (A) solução A do meio T&K, com a adição de 100 mMol L⁻¹ de NaCl; (B) solução A do meio T&K, com a adição de 200 mMol L⁻¹ de NaCl; (C) solução A do meio T&K, com a adição de 400 mMol L⁻¹ de NaCl.

Figura 9: Variação do pH (■) e do potencial de óxido-redução (●) no experimento de biolixiviação em frascos na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e de controles (símbolos vazios), em minério de cobre. (A) solução A do meio T&K, com adição de Tween 80 a 0,005%; (B) solução A do meio T&K, com adição de 0,01 mMol L⁻¹ de Ag₂SO₄.

Figura 10: Variação da concentração de Fe²⁺(■) e Fe³⁺(●) no experimento de biolixiviação em frascos com minério de cobre, na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e de controles (símbolos vazios); (A) solução A do meio T&K; (B) solução A do meio T&K, com adição suplementar de 30 mMol L⁻¹ de Fe²⁺; (C) meio T&K completo, previamente oxidado pela bactéria.

Figura 11: Variação da concentração de Fe^{2+} (■) e Fe^{3+} (●) no experimento de biolixiviação em frascos com minério de cobre, na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios); (A) solução A do meio T&K, com a adição de 100 mMol L^{-1} de NaCl; (B) solução A do meio T&K, com a adição de 200 mMol L^{-1} de NaCl; (C) solução A do meio T&K, com a adição de 400 mMol L^{-1} de NaCl.

Figura 12: Variação da concentração de Fe^{2+} (■) e Fe^{3+} (●) no experimento de biolixiviação em frascos com minério de cobre, na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios); (A) solução A do meio T&K, com adição de Tween 80 a 0,005%; (B) solução A do meio T&K, com adição de $0,01 \text{ mMol L}^{-1}$ de Ag_2SO_4 .

Figura 13: Porcentagem de extração de cobre na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e de controles (símbolos vazios). (A) solução A do meio T&K; (B) solução A do meio T&K, com adição suplementar de 30 mMol L^{-1} de Fe^{2+} ; (C) meio T&K completo, previamente oxidado pela bactéria.

Figura 14: Porcentagem de extração de cobre na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e de controles (símbolos vazios). (A) solução A do meio T&K, com a adição de 100 mMol L^{-1} de NaCl; (B) solução A do meio T&K, com a adição de 200 mMol L^{-1} de NaCl; (C) solução A do meio T&K, com a adição de 400 mMol L^{-1} de NaCl.

Figura 15: Porcentagem de extração de cobre na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e de controles (símbolos vazios). (A) solução A do meio T&K, com adição de Tween 80 a 0,005%; (B) solução A do meio T&K, com adição de $0,01 \text{ mMol L}^{-1}$ de Ag_2SO_4 .

Figura 16: Difratogramas de raios X dos resíduos dos experimentos de biolixiviação do minério da mina de Sossego, com a linhagem *A. ferrooxidans* - LR. (A) minério original utilizado nos experimentos de biolixiviação; (B) resíduo do ensaio controle somente com adição da solução A do meio T&K; (C) resíduo do ensaio somente com adição da solução A do meio T&K com bactéria.

Figura 17: Difratogramas de raios X dos resíduos dos experimentos de biolixiviação do minério da mina de Sossego, com a linhagem *A. ferrooxidans*-LR em solução A do meio T&K, com adição suplementar de 30 mMol L^{-1} de Fe^{2+} . (A) controle abiótico; (B) inoculado.

Figura 18: Difratogramas de raios X dos resíduos dos experimentos de biolixiviação do minério da mina de Sossego, com a linhagem *A. ferrooxidans* - LR em meio de cultivo T&K (completo), já oxidado. (A) controle abiótico; (B) inoculado.

RESUMO

Devido ao esgotamento progressivo das jazidas de minérios de cobre com teores elevados ($>2\%$), a aplicação de processos convencionais para a extração de cobre desses minérios, como a pirometalurgia, torna-se inviável devido ao alto custo dos gastos de energia envolvidos.

Em função desse esgotamento, bem como do acúmulo de rejeitos de baixos teores ($< 0,5\%$), a busca de processos alternativos para atender a demanda crescente desse metal em todo mundo tornou-se uma necessidade. Uma das alternativas mais viáveis envolve o uso de microrganismos capazes de solubilizar sulfetos metálicos de cobre, em decorrência de seus processos metabólicos oxidativos.

O processo que utiliza esses microrganismos na recuperação do cobre de minérios de baixo teor ou de rejeitos é conhecido como biolixiviação e tem sido aplicado em escala industrial em vários países, em especial EUA e Chile, onde estão as maiores reservas mundiais de minério de cobre. Biolixiviação ou lixiviação bacteriana é o processo pelo qual bactérias, sobretudo as do gênero *Acidithiobacillus* e, principalmente, a espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans*, oxidam sulfetos metálicos (CuFeS_2 , CuS , CuS_2 , PbS , ZnS entre outros) como fonte de energia, levando à solubilização desses metais. O *A. ferrooxidans* é uma espécie mesofílica, quimiolitotrófica e acidofílica que, além de sulfetos metálicos, oxida também íons ferrosos e compostos reduzidos de enxofre. Esse processo é uma alternativa viável para a extração de cobre, pois requer poucos gastos com insumos (ácidos e agentes oxidantes), apresenta reduzido gasto energético, baixo investimento de capital, baixo custo operacional e reduzida mão de obra especializada na operação.

Dentre os minerais de cobre, o mais abundante e também o mais refratário ao ataque químico ou bacteriano é a calcopirita. Assim, muitos estudos foram desenvolvidos nos últimos anos, voltados notadamente para a compreensão dos mecanismos envolvidos na dissolução desse mineral e para

o desenvolvimento de processos alternativos, com o objetivo de viabilizar a lixiviação mais eficiente da calcopirita.

Dessa forma, o objetivo central deste trabalho foi avaliar o efeito de agentes químicos como os íons Cl^- , Ag^+ e um surfactante (Tween 80) na biolixiviação do minério de cobre da mina de Sossego, PA, da Companhia Vale do Rio Doce, através da técnica de biolixiviação em frascos agitados. Além desses agentes, a adição de Fe^{2+} e Fe^{3+} aos meios de lixiviação foi também avaliada.

Antes da realização dos ensaios com o minério, estudou-se o efeito desses agentes no crescimento do *A. ferrooxidans*-LR. A avaliação do crescimento do *A. ferrooxidans*-LR na presença desses agentes foi realizada em meio de cultura contendo Fe^{2+} como fonte de energia e o parâmetro indicador de crescimento foi a taxa de oxidação do íon ferroso. Foram testadas as concentrações de 100, 200, 400, e 500 mMol L^{-1} de NaCl; 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,25 e 0,5% (v/v) de Tween 80; 0,005, 0,01, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0 e 10 mMol L^{-1} de Ag_2SO_4 . Verificou-se que as concentrações não inibitórias para a bactéria foram, respectivamente, 100 e 200 mMol L^{-1} para o NaCl e 0,01, 0,005 e 0,001% para o Tween 80. Na presença do Ag^+ , todas as concentrações testadas inibiram completamente a oxidação do Fe^{2+} pela bactéria. Um ensaio adicional avaliou o efeito desse íon na presença do minério e, nesse estudo, o *A. ferrooxidans* suportou concentrações anteriormente inibitórias (0,01 mMol L^{-1} Ag_2SO_4) somente na presença do meio de cultivo.

Todos os parâmetros envolvidos na avaliação dos experimentos de biolixiviação (pH, Eh e concentrações dos íons Fe^{2+} , Fe^{3+} e Cu^{2+}) indicaram que a presença da bactéria é decisiva no aumento da solubilização do cobre, em relação ao controle abiótico. Dos agentes avaliados como promotores da biolixiviação, apenas o íon prata mostrou alguma eficiência, pois a sua presença no meio inoculado determinou a maior taxa de extração de cobre dessa amostra de minério, cerca de 35%. Por outro lado, sem adição de

qualquer agente promotor, obteve-se também cerca de 35% na extração de cobre, na presença da bactéria. O Tween 80 provocou uma diminuição significativa na extração do cobre, mesmo na presença da bactéria (~10%), e o Cl^- não apresentou efeito promotor significativo. A adição complementar de fonte energética (Fe^{2+}), ou mesmo do meio previamente oxidado (“alta” concentração de Fe^{3+}), não determinou maior rendimento de extração do cobre, em relação ao tratamento contendo Ag^+ , e mesmo sem a adição complementar de qualquer agente. A redução na extração do cobre nesses tratamentos decorreu da formação significativa de jarosita, conforme difratogramas de raios x dos resíduos finais dos experimentos. A maior extração, verificada na presença de Ag^+ , pode estar associada à formação de um precipitado conhecido por argentita (Ag_2S). Finalmente, deve-se ressaltar que o minério se apresenta bastante refratário, devido provavelmente à presença de sílica como fase principal no minério.

ABSTRACT

High-grade copper ores deposits ($>2\%$) have been depleted for centuries. So, conventional processes to recover copper from low-grade ores such as pyrometallurgy have become prohibitive due the elevated costs, since large amount of energy is spent in this process. As a result of this depletion, a huge amount of low-grade ores ($<0.5\%$) as well waste materials from conventional process have been accumulated for years, waiting for an economic alternative method. In order to match up a constant increase in the copper world demand, the search for new methodologies has become an obligation. Among these alternatives, the use of microorganisms capable to copper sulfides dissolution is the most feasible one.

This process, known as bioleaching or bacterial leaching, has been applied in industrial scale in several countries, such as USA and Chile, where the highest copper deposits are located. Bacterial leaching is developed by certain bacteria belong to the *Acidithiobacillus* genus, among others, mainly by species *Acidithiobacillus ferrooxidans*, which oxidize metal sulfides (CuFeS_2 , CuS , CuS_2 , PbS , ZnS , etc) as its energy source, solubilizing the corresponding metal. It is a mesophilic, chemolithotrophic and acidophilic bacterium that besides metal sulfides oxidize also ferrous iron and other reduced sulphur compounds as energy source. The viability of the process is related with the low costs operation: low capital investments, reduced needs for specialized works, low reagents and materials consumption, etc.

Chalcopyrite is most abundant copper mineral and, at same time, the most refractory to chemical or bacterial attack. In this way, several studies have been devoted to understand the mechanisms involved in the mineral dissolution, as well to developed new methodologies to improve chalcopyrite dissolution.

It was investigated in this study the effect of some chemical agents in the bioleaching of a sample of copper ore from Sossego Mine, state of Para, Brazil, kindling supplied by Vale do Rio Doce Company. It was tested the influence of

the ions Cl^- , Ag^+ and the surfactant Tween 80 in the bioleaching utilizing shake flasks technique. Besides, the addition of Fe^{2+} , Fe^{3+} in the leaching medium was also tested.

Before the bioleaching experiments, it was carried out an initial investigation about the toxicity of the mentioned agents in the *A. ferrooxidans* growth, evaluating the rate of ferrous oxidation by the bacteria.

It was tested the following agents concentration: 100, 200, 400 and 500 mMol L^{-1} of NaCl ; 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,25 and 0,5% (v/v) of Tween 80; 0,005, 0,01, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0 and 10 mMol L^{-1} of Ag_2SO_4 . The results showed that non-inhibitory concentrations for NaCl were 100 and 200 mMol L^{-1} and for Tween 80 0,01, 0,005 e 0,001%. All the Ag^+ concentrations tested inhibited completely the ferrous iron oxidation. However, when this ion was added (0,01 mMol L^{-1} Ag_2SO_4) to medium containing 2,5% (w/v) of ore, the oxidation of Fe^{2+} by the strain was absolutely normal.

Regarding bioleaching experiments, the presence of bacteria in any treatment showed always better copper extraction rates, comparing to abiotic controls, as revealed by the parameters evaluated: pH, Eh and dissolved metals (Fe^{2+} , Fe^{3+} e Cu^{2+}). The presence of Ag^+ was the only agent that presented some promoting effect in the copper solubilization, even though not higher than the treatment where nothing was added in the culture; in both situations, around 35% of copper was extracted at the end of experiments. On the other hand, Tween 80 caused the lowest copper extraction (~10%) even in the presence of bacteria, and NaCl did not show any promoting effect.

Supplemental Fe^{2+} and Fe^{3+} addition had no significant effect in the bacterial leaching of copper, comparing with the Ag^+ or bacterial-only treatment. Probably the jarosite formation in both conditions, as revealed by XRD diffractograms, blocked the leaching agents diffusion onto the mineral surface. The positive influence of silver ions should be associated with the formation of argentite (Ag_2S) during experiments time course, which is believed to present

something like “porosity” allowing a better diffusion of leaching agents to the copper mineral.

Finally, should be mentioned that the ore sample utilized in this study had a significant refractory behavior, probably due the presence of silica as the major mineral phase.

I. INTRODUÇÃO

O progresso tecnológico esteve sempre associado, desde as primeiras forjas da Idade do Bronze, ao conhecimento dos metais e à sua utilização em cabos telefônicos, enrolamentos elétricos, encanamentos, indústrias automobilística, aeronáutica, naval, bélica e de construção civil, as principais responsáveis pelo consumo de metal em grande escala. São também representativos os setores de eletrônica e comunicações cujo consumo de metal, apesar de quantitativamente inferior, é também importante para a economia mundial. Apenas alguns metais, como o ouro, a prata, o cobre, a platina e o bismuto ocorrem na natureza em sua forma elementar. Quase sempre os metais são encontrados em forma de óxidos ou sulfetos, em minérios que contêm quantidades variáveis de impurezas (ganga), como argila, granito e sílica, das quais os compostos metálicos devem ser separados. Minério pode ser definido como um conjunto de vários minerais que podem ser processados sob certas condições, para a recuperação de um ou mais elementos de interesse econômico. Mineral é usualmente definido como um composto inorgânico, normalmente cristalino, às vezes amorfo, de estrutura e composição definida (1).

Tradicionalmente, o processo no qual minerais sulfetados de cobre são submetidos à extração é denominado pirometalurgia, que consiste basicamente na oxidação do minério contendo o metal de interesse, através da queima do mesmo em altas temperaturas. Este processo, no entanto, só é economicamente viável quando utilizado para minérios de alto teor ou minérios concentrados, devido ao elevado custo energético. Outro problema relacionado à pirometalurgia é de natureza ambiental, pois durante o processo ocorre a emissão do SO_2 , que origina a chuva ácida. Esses fatores explicam o grande interesse despertado pelo estudo de processos alternativos para recuperação de cobre em minérios, sobretudo em minérios com baixo teor de cobre (0,1 a 0,5%).

Processos hidrometalúrgicos convencionais, nos quais se utiliza soluções ácidas ou básicas para tratamento de minérios e a recuperação do metal de interesse, são uma alternativa. A biohidrometalurgia, no entanto, uma

variação da hidrometalurgia, vem sendo investigada por vários pesquisadores já há alguns anos. Esse processo fundamenta-se basicamente na utilização de microorganismos que auxiliam na solubilização de metais através da oxidação de sulfetos metálicos e da regeneração de agentes lixiviantes como o íon férrico. A lixiviação bacteriana apresenta algumas vantagens, mesmo comparada aos processos hidrometalúrgicos, pois não requer gastos com insumos (ácidos e agentes oxidantes), que são produzidos pela própria bactéria. O gasto energético é, ademais, reduzido; o investimento de capital e o custo operacional, baixos; e a mão de obra especializada é igualmente reduzida, em relação aos demais processos de recuperação de metais. A característica principal da operação é o aproveitamento de rejeitos de minérios com teores reduzidos de metais. A biolixiviação já era usada há cerca de 2000 anos por gregos e romanos, que extraíam cobre de águas de minas, porém sem conhecer a participação de microrganismos. Quase 4.000 anos depois, por volta de 1950, é que uma bactéria foi relacionada ao processo. No período de 1950 a 1980 a biolixiviação já era considerada a tecnologia mais apropriada para a recuperação de cobre e outros metais de minérios de baixo teor, em comparação com processos pirometalúrgicos.

A operação de processos biohidrometalúrgicos é conduzida em geral sob a forma de lixiviação estática em pilhas, aproveitando-se a ação natural das bactérias presentes no minério, cujo metal de interesse já se apresenta na forma de sulfeto, por exemplo a calcocita (Cu_2S) e covelita (CuS), transformadas pela ação oxidante da bactéria no sulfato solúvel correspondente (CuSO_4). Obtém-se então, uma solução ácida rica em cobre, na forma de sulfato, posteriormente conduzida para a extração através de processos convencionais, operados em conjunto com a biolixiviação para a obtenção do cobre. A lixiviação é efetuada por bactérias como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans*, entre outras. A espécie mais conhecida e estudada é o *Acidithiobacillus ferrooxidans*, isolada em 1947 por Colmer e Hinkle (2), nas águas de drenagens ácidas de minas de carvão.

A biolixiviação é aplicada comercialmente para a lixiviação de cobre e urânio, e de minerais com ouro incluso, como a arsenopirita, no Chile, EUA, Peru, Austrália e China, entre outros países. A Tabela 1 mostra algumas plantas de biolixiviação de cobre em alguns dos países mencionados acima (3, 4).

Tabela 1. Biolixiviação estática em pilhas para cobre.

Planta/localização	Produção (ton/ano)	Anos em operação
Lo Aguirre, Chile	14-15x10 ³	1980-1986
Cerro Colorado, Chile	100x10 ³	1993-presente
Quebrada Blanca, Chile	75x10 ³	1994-presente
Andacollo, Chile	21x10 ³	1996-presente
Lomas Bayas, Chile	60x10 ³	1998-presente
Cerro Verde, Peru	54.2x10 ³	1977-presente
Morenci, Arizona	380x10 ³	2001-presente
Girilambone, Australia	14x10 ³	1993-2003
Jinchuan Copper, China	10x10 ³	2006-presente

As reservas mundiais atingem atualmente mais de 900 milhões de toneladas de cobre contido. C cerca de 38% das reservas encontram-se no Chile, 7,5% nos EUA, 6,7% na China, 6,4% no Peru, 5,1% na Polônia, 4,6% na Austrália, e há menores quantidades em países como México, Canadá, Indonésia e Rússia. As reservas minerais no Brasil somam 1,5% (14,9 Mt) do total existente no mundo e estão localizadas principalmente no Pará (65%), Goiás (14,4%) e Bahia (13,2%); os 7,4% restantes estão distribuídos pelos estados de Alagoas, São Paulo, Ceará, Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Paraná e Mato Grosso (5). A Tabela 2 mostra alguns projetos em andamento e/ou previstos no Brasil (5).

A crosta terrestre tem sido explorada, em busca dos vários metais (ferro, cobre, ouro, prata, alumínio) necessários à população, há muitos anos. No início do século passado, no entanto, já era difícil encontrar minérios de cobre

com alto teor, devido à grande exploração dos mesmos no começo da Revolução Industrial. Naquela época, a extração do cobre de um minério com teor de 2% de cobre contido não era econômica, pois o minério era considerado de baixo teor e o lucro não cobriria os gastos com a energia utilizada.

Tabela 2. Alguns projetos em andamentos ou previstos para a produção de cobre no Brasil.

Planta/localização	Produção (ton/ano)	Anos em operação
Sossego (CVRD), Carajás (PA)	140.000(concentrado de cobre)	2004 – presente
Corpo 118 (CVRD), Carajás (PA)	36.000 (cátodo de cobre)	Operação em 2008
Cristalino (CVRD), Carajás (PA)	90.000 (concentrado de cobre)	Operação em 2010
Alemão (CVRD), Carajás (PA)	155.000(concentrado de cobre)	2006 – presente
Salobo (Salobo metais / CVRD), Marabá (PA)	200.000 (cátodo de cobre)	Operação em 2010
Chapada (Mineração Maracá / Yamada Gold), Alto Horizonte(GO)	200.000(concentrado de cobre)	2004 – presente
Caraíba Metais, Dias D'Ávila (BA)	220.000 (cobre eletrolítico)	2005 – presente

Tem sido cada vez mais difícil encontrar novas jazidas de cobre com alto teor para exploração econômica. Pode-se dizer que, hoje em dia, só existem minérios de cobre com teor inferior a 2% em metal contido, além do acúmulo diário de rejeitos de processos com teores inferiores a 0,5%. Com a utilização de processos como a lixiviação estática em pilhas, conhecida, dependendo do tratamento dado ao minério, como “heap leaching” ou “dump leaching”, é possível recuperar o metal de um minério de forma mais econômica. No “heap leaching” delimita-se uma região que é impermeabilizada com algum tipo de plástico, por exemplo, e então o minério anteriormente triturado é transportado para esse local e empilhado. No “dump leaching”, a quantidade de minério tratada é bem superior: o minério é tratado na própria mina sem ser triturado e sem a utilização de uma base impermeável. A característica principal da lixiviação estática em pilhas é o aproveitamento de rejeitos minerais, que vêm se acumulando nos últimos anos. A Biohidrometalurgia pode ser ainda uma

alternativa para o aproveitamento de jazidas localizadas muito longe de centros com infra-estrutura apropriada.

Significantes melhoramentos nas operações de biolixiviação estática em pilhas têm ocorrido nos últimos 15 anos, particularmente em relação a estratégias de irrigação (vazão e pH da solução), aeração e controle do tamanho das partículas, parâmetros importantes para a alta extração de cobre de sulfetos minerais com baixo teor (6-8). Castillo et al. (6) investigaram a extração do cobre de minério de baixo teor localizado próximo às minas de Escondida, no Chile, que possuem aproximadamente 110 milhões de toneladas de minério empilhado. Em 1999 foi construída uma planta piloto com capacidade de tratar 240 toneladas de minério que, em 250 dias, resultou em uma extração de cobre de 50%. Em estudo com montes de aproximadamente 300.000 toneladas de minério, tratados pelo processo de “dump leaching”, a extração de cobre também chegou aos 50%, só que em 350 dias. Esses processos existem geralmente em locais que não apresentam extremos de temperatura; no entanto, mesmo em regiões de grandes altitudes, com invernos rigorosos, verificam-se operações de “dump leaching” (7). Uma estratégia utilizada para evitar o congelamento da solução lixiviante, nesses locais, é instalar o equipamento responsável pela irrigação a 50 cm de profundidade da superfície da pilha de minério, além de um filtro, antes da solução começar a percolar através do minério. Em 2003, essa planta de recuperação de cobre, próxima a Santiago (Chile), produziu mais de 15.000 toneladas de cátodos de cobre (7).

A Companhia Minera Collahuasi (Chile) começou, há poucos anos, um estudo em laboratório com um minério da região de Rosário com teor de 0,2 a 0,36% de cobre. O intuito é realizar posteriormente uma biolixiviação estática em pilhas com o minério, pois se estima que a mina de Rosário possui cerca de 1,1 bilhões de toneladas de minério e poderá ficar em operação até 2032. Os testes foram realizados em frascos e colunas com um metro de altura e capacidade para 30 kg de amostra. Nos frascos foram obtidas extrações de aproximadamente 28-60% a 25 °C, em 26 dias de experimento, e de 44-72% a 45 °C, em 43 dias. Os testes em colunas sugerem que as variáveis com maior

importância são a temperatura e o tamanho de partícula. Nos testes com calcopirita, por exemplo, a extração foi de 15% a 25 °C, e mais de 35% a 45 °C. Nos testes em frascos a extração foi maior devido ao menor tamanho das partículas (8).

Existe ainda a necessidade de melhorar alguns parâmetros em operações de biolixiviação em pilhas, como o tamanho de partícula para cada tipo de minério, a atividade bacteriana na pilha, as estratégias de irrigação em cada tipo de minério, assim como regular de alguma forma a temperatura no interior da pilha para aumentar a recuperação do metal de interesse.

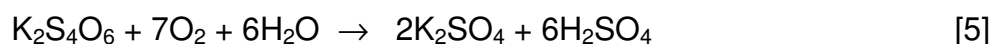
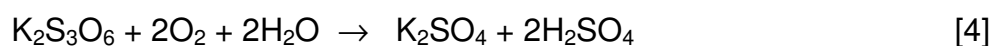
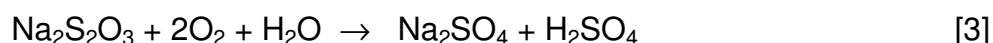
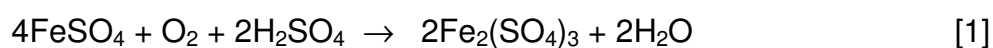
I.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

I.1.1. *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Das espécies cultiváveis em laboratório, a mais estudada é *A. ferrooxidans*, microrganismo capaz de oxidar íons ferrosos e formas reduzidas de enxofre (incluindo os sulfetos metálicos), formando assim íons Fe^{3+} , o principal agente lixiviante no processo, e SO_4^{2-} , que em solução aquosa forma ácido sulfúrico (H_2SO_4). O ácido sulfúrico irá auxiliar a dissolução de diversos sulfetos minerais de importância industrial, como a calcopirita (CuFeS_2), a bornita (Cu_5FeS_4), a calcocita (Cu_2S), a covelita (CuS) e a esfalerita (ZnS), entre outros (9). Essa espécie possui uma característica importante, a tolerância a concentrações elevadas de metais pesados. Acredita-se que essa tolerância se deve a uma mudança na permeabilidade da membrana celular da bactéria, que se dá através de um mecanismo de efluxo, criado através de proteínas específicas, ou ainda pela modificação da membrana nos sítios de inibição. O *A. ferrooxidans* pode tolerar concentrações de metais como (mMol L^{-1}): 1,5 de As, 10 de Cd, 100 de Cu, 0,1 de Hg, 160 de Ni, 8,0 de U, 370 de Al, 150 de Zn, 170 de Co, 180 Mn e 100 de Cr (10, 11).

O *A. ferrooxidans* é uma bactéria acidofílica, não patogênica, gram-negativa, que se apresenta como bastonetes pequenos de 0,3-0,5 x 0,7-4,0 μm , móveis, com um ou mais flagelos polares. Essa espécie fixa dióxido de carbono (CO_2) da atmosfera através do ciclo de Calvin e o utiliza como sua

fonte de carbono para a síntese de material celular, por meio da enzima ribulose 1,5-bifosfato carboxilase (RuBPCase ou Rubisco) (12). Essa espécie também utiliza, para seu crescimento, nitrogênio, fosfato e sais de magnésio e é classificada como quimiolitotrófica porque utiliza somente substratos inorgânicos como fonte de energia. É um microrganismo mesofílico, com temperatura ótima de crescimento entre 28 e 30 °C, mas observou-se que, mesmo em temperaturas de 4 °C, provoca a solubilização bacteriana de cobre, cobalto, níquel e zinco (13). Após anos de pesquisa, existe unanimidade com relação à estequiometria da reação de oxidação do íon Fe^{2+} (equação 1) e de formas reduzidas de enxofre (equações 2,3,4 e 5) (13).



O ajuste do pH é uma condição necessária para o crescimento da bactéria, sendo que o pH ótimo para ocorrer a oxidação bacteriana de íons ferrosos e sulfetos está entre 1,5 e 2,5. O suprimento de oxigênio é também necessário para um bom crescimento e alta atividade bacteriana; o oxigênio é oxidante nas reações químicas e age no metabolismo dessas bactérias como aceptor final de elétrons, na cadeia respiratória. Se não houver um sistema de aeração no interior das massas minerais em lixiviação, seja por convecção natural ou por convecção forçada, pode-se gerar um ambiente redutor (14).

Já vem de longa data a discussão sobre os mecanismos responsáveis pela dissolução de metais em sistemas de biolixiviação (15-18). O mecanismo direto ocorre quando a bactéria adere à superfície do sulfeto durante a dissolução oxidativa do mineral, mediada por uma série de enzimas que atuam diretamente em sua estrutura cristalina. Esse mecanismo, no entanto, é questionado por alguns autores (15-17). No mecanismo indireto, não há adesão bacteriana sobre a superfície do mineral, e a bactéria efetua a oxidação

cíclica do Fe^{2+} a Fe^{3+} , que por sua vez oxida o sulfeto metálico. No mecanismo de contato indireto, a bactéria aderida ao mineral oxida o Fe^{2+} dentro de um biofilme, formado pela própria bactéria e por material exopolimérico que ela produz. O Fe^{3+} gerado lixivia o metal dentro dessa camada exopolimérica. Além desses, existe outro mecanismo, de natureza eletroquímica, conhecido por conversão galvânica, que ocorre quando estão presentes no minério mais de um sulfeto metálico e semicondutores de diferentes potenciais elétricos em contato (9). Forma-se então uma célula galvânica, na qual o mineral de maior potencial (mais nobre) atua como cátodo, enquanto o de menor potencial (menos nobre) atua como ânodo, decompondo-se preferencialmente.

De acordo com um modelo mais atual, proposto por Sand et al. (19), a dissolução dos sulfetos metálicos pode ocorrer via mecanismo do polissulfeto ou via mecanismo do tiosulfato, dependendo da configuração eletrônica de cada sulfeto. Nos sulfetos cuja banda de valência deriva apenas do orbital de átomos metálicos, a quebra da ligação entre o metal e o enxofre é dificultada (esses sulfetos podem ser oxidados apenas pelo íon Fe^{3+}). Pirita (FeS_2), molibdenita (MoS_2) e tungstenita (WS_2), que possuem banda de valência preenchida somente com elétrons do átomo metálico, são ditos insolúveis em ácidos e seguem a via do tiosulfato. Os sulfetos metálicos solúveis em ácido (CuS , ZnS , PbS , etc.), contudo, são aqueles em que a banda de valência é preenchida com elétrons de orbitais do átomo metálico e do átomo do enxofre, o que facilita a quebra da ligação metal-enxofre realizada tanto por prótons (H^+) como por íons Fe^{3+} . Esses outros minerais seguem então a via do polissulfeto. A Figura 1 ilustra estes mecanismos (20).

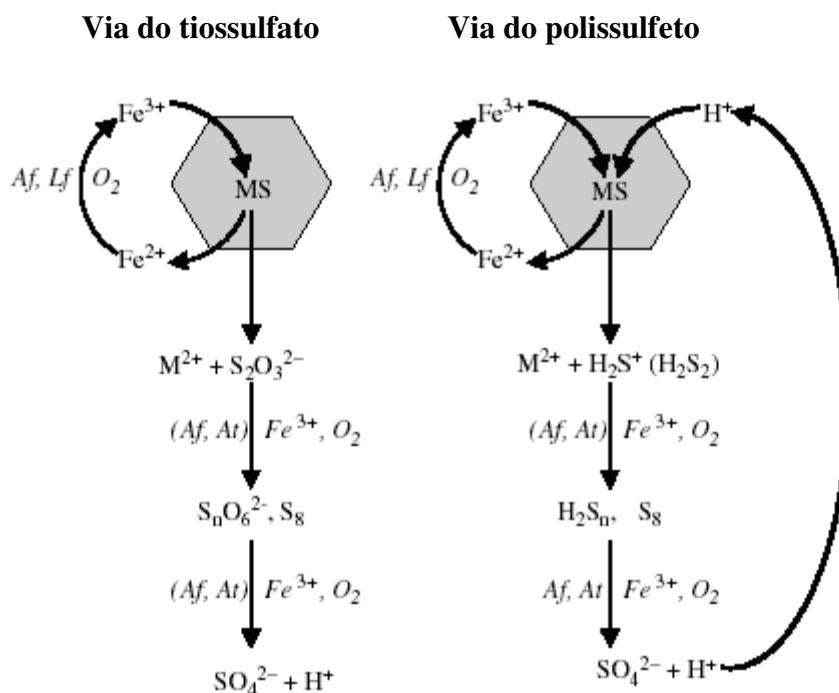


Figura 1: Esquema do mecanismo do tiosulfato e do polissulfeto na biolixiviação dos sulfetos metálicos. MS - sulfeto metálico; M^{2+} - íon metálico; $S_2O_3^{2-}$ - tiosulfato, (H_2S_2 , H_2S_n) - compostos intermediários de enxofre; S_8 - enxofre elementar; A.f., A.t e L. f. - reações enzimáticas promovidas por *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans* e *L. ferrooxidans*.

I.1.2. O PROCESSO DE BIOLIXIVIAÇÃO

A técnica da lixiviação bacteriana tem sido aplicada em larga escala nos países produtores de cobre (EUA, Chile, Espanha, Canadá e México, principalmente) a partir de sulfetos como calcopirita, calcocita, covelita e bornita, contidos em rejeitos (minérios de teor reduzido) dos processos convencionais.

O processo operacional da biohidrometalurgia é conduzido de forma simples, nos casos do cobre e do urânio, aproveitando-se a ação natural de bactérias já presentes nos minérios apropriados, aqueles em que o metal de interesse já se apresenta na forma de sulfeto (por exemplo, a calcopirita- $CuFeS_2$). Esse processo consiste na deposição de grandes quantidades de minério (milhares de toneladas) sobre uma base impermeabilizada, seguida de uma irrigação com uma solução de ácido sulfúrico ($pH \sim 2$) na superfície dessa

pilha. A solução, coletada após a percolação pelo minério, é reciclada constantemente pela pilha, levando a uma intensificação da atividade bacteriana no mineral sulfetado. Dessa ação, resulta um aumento da acidez e do poder oxidante da solução, pela produção biológica de H_2SO_4 e do íon Fe^{3+} (14). Na Figura 2 vê-se um esquema geral da biolixiviação estática em pilhas.

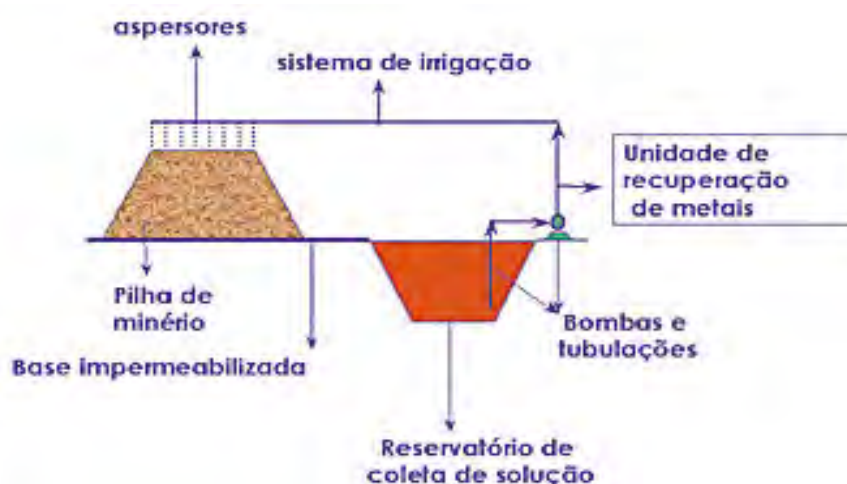
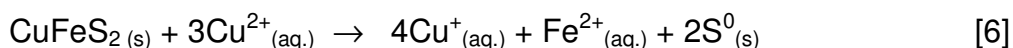


Figura 2. Esquema geral da biolixiviação estática em pilhas.

O efeito de íons catalíticos (Cl^- , Ag^+) e de surfactantes na lixiviação de sulfetos minerais (21-44), tem sido muito estudada nos últimos anos. Lu et al. (21, 22) observaram que, quando a lixiviação é feita na presença do íon cloreto, forma-se uma camada de enxofre, depositada na superfície do minério, mais cristalina e porosa do que na lixiviação efetuada em sua ausência. Essa camada possibilita a difusão de reagentes através do filme, formado até a superfície do mineral, favorecendo a dissolução de cobre. E demonstraram também, através de técnicas eletroquímicas, que a oxidação do minério é aumentada, particularmente em temperaturas mais elevadas.

Em estudos realizados sobre o uso do íon cloreto e de uma solução ácida de cloreto de cobre na lixiviação da calcopirita (23, 24), notou-se a formação de complexos como $[\text{CuCl}_2]^{-1}$, $[\text{CuCl}_3]^{2-}$, $[\text{Cu}_2\text{Cl}_4]^{2-}$, $[\text{Cu}_3\text{Cl}_6]^{3-}$. Segundo os autores, tais complexos melhoram a transferência de elétrons das reações de oxido-redução que ocorrem durante a lixiviação. A dissolução da calcopirita pôde ocorrer de acordo com a equação 6:



No entanto, complexos formados por Cu^{+1} e Cl^{-1} em soluções expostas ao ar não são estáveis, o que torna duvidoso o argumento dos autores (22). Existe uma contradição a respeito do enxofre formado em meio contendo cloreto. Lu et al. (21, 22) mostraram que o filme de enxofre formado na superfície da calcopirita em meio com cloreto é cristalino e poroso e, em meio sem cloreto, é amorfo e dificulta a dissolução do mineral. Por outro lado, Lundström et al. (24) defendem que essa camada de enxofre, em determinadas concentrações, dificulta a dissolução da calcopirita.

Recentemente, Starosvetsky et al. (25) utilizaram discos de cobre de 2,0 mm com 99,97% de pureza e observaram, através de técnicas eletroquímicas, uma passivação inicial do cobre em meio contendo cloreto e atribuíram tal comportamento à formação de uma camada de CuCl . Notaram também que a dissolução do metal só ocorre após um período de incubação, relacionado ao início da formação de pequenos sítios oxidados.

Embora estudado há vários anos, o efeito catalítico do íon cloreto em sistemas de biolixiviação de minério de cobre não foi ainda investigado, mesmo em caráter preliminar. Por outro lado, o efeito catalítico de íons prata (Ag^{+}) na dissolução do cobre, sobretudo da calcopirita, que é o mineral mais refratário, tem sido investigado tanto em estudos de lixiviação química como bacteriana (26-34), em que a prata pode ser recuperada com ácido clorídrico ou sulfúrico, ou ainda com uma solução salina ácida (35-38).

Miller e Portillo sugeriram o primeiro modelo para explicar o efeito catalítico da prata, no qual se destaca a formação de um sulfeto de prata conhecido como argentita (Ag_2S), que funciona como um canal pelo qual os elétrons podem atravessar, facilitando as reações catódicas (39). Gomes et al. (31,32) utilizaram métodos voltamétricos, microscopia eletrônica de varredura e microscopia de elétrons Auger para analisar as mudanças ocorridas na superfície da calcopirita lixiviada em meio contendo prata e outros íons, confirmando a formação de Ag_2S . Íons ferrosos podem reagir com íons prata

para formar, também na superfície do minério, a prata metálica (equação 7, abaixo) (39).



Hyroyoshi et al. (33) propuseram um modelo para explicar o efeito catalítico da prata na dissolução da calcopirita em solução ácida. O modelo proposto assume que a calcopirita lixívia em dois passos: primeiramente, a calcopirita é reduzida por íon ferrosos, para formar Cu_2S que é lixiviado mais rapidamente; posteriormente, o Cu_2S é oxidado pelo Fe^{3+} ou oxigênio dissolvido liberando íons cobre. Íons prata reagem com sulfeto de hidrogênio para formar um sulfeto de prata como precipitado.

Posteriormente, Wang et al. (34) propuseram um modelo cinético para a biolixiviação da calcopirita catalisada por íons prata, em que ocorre a substituição do cobre e íons ferrosos pelo íon prata (Ag^+) no retículo cristalino da calcopirita. Essa substituição pode ocorrer, pois o raio iônico do íon prata é similar aos do cobre e dos íons ferrosos.

Sato et al. (29) estudaram o efeito da adição da prata na forma de sulfato e de cloreto na biolixiviação de concentrado de calcopirita juntamente com *A. ferrooxidans*, e obtiveram uma boa extração de cobre (65%) nos primeiros vinte dias de experimento. Nesse estudo, ocorreu certa inibição na capacidade oxidativa da bactéria quando o meio utilizado continha sulfato de prata, em relação ao meio com cloreto de prata, provavelmente devido à diferença de solubilidade dos compostos. Em concentrações de prata superiores a $0,01 \text{ mMol L}^{-1}$ ocorre uma inibição na atividade oxidativa de sulfetos e na oxidação do íon ferroso pelo *A. ferrooxidans* (39,40). Ao utilizar o AgCl , que é mais insolúvel do que o Ag_2SO_4 , a concentração de prata livre foi menor e, assim, a atividade bacteriana foi maior, determinando melhor taxa de extração do cobre (29).

Além dos estudos destacados acima, que mencionam o uso do íon prata, Yueyua et al. (30) demonstraram, em estudos realizados em frascos agitados, a possibilidade de se utilizar prata como AgNO_3 ou prata contida em

concentrados minerais e sulfetos como a argentita (Ag_2S), como via alternativa para lixiviar calcopirita de forma mais eficiente. Os rendimentos finais de extração de cobre do minério estudado foram de 79,5%, 90,5% e 67%, na presença de AgNO_3 , de concentrado contendo prata e de Ag_2S , respectivamente. Nos frascos controles (sem Ag^+) os rendimentos não atingiram 30%.

Há dez anos, na Universidade de Sevilha, Espanha, foi desenvolvido um processo conhecido como IBES (Indirect Bioleaching with Effects Separation) aplicado para um concentrado de zinco (ZnS) e cobre (CuFeS_2) (41). O processo apresenta, basicamente, dois estágios; no primeiro estágio, realiza-se uma lixiviação com solução de sulfato férrico a 70°C para recuperar o zinco; no segundo estágio, o resíduo gerado é lixiviado com solução de sulfato férrico com adição de prata, para recuperar o cobre. A solução de Fe^{2+} é separada do resíduo sólido e segue para um tanque com a bactéria *A. ferrooxidans*, que irá oxidar o íon Fe^{2+} para Fe^{3+} ; a prata, que está na parte sólida, é recuperada com uma lixiviação ácida (HCl) em meio de NaCl . Esse tipo de lixiviação é utilizado para recuperar metais como a prata, na forma de argentojarosita - $\text{AgFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$ (34, 35). O íon Na^+ desloca a prata da argentojarosita, liberando o metal para a solução.

Os mesmos autores do processo IBES desenvolveram outro processo similar para o tratamento de sulfetos secundários (CuS e Cu_2S) (38) e primários (CuFeS_2), conhecido como BRISA (Biolixiviación Rápida Indirecta com Separación de Acciones) (37, 42). Ambos os processos, IBES e BRISA, foram realizados em frascos e tanques agitados, mostrando cerca de 95% de extração de cobre em 16 e 18 horas, respectivamente.

Além do efeito da prata, o efeito de agentes surfactantes na otimização da lixiviação bacteriana de sulfetos metálicos tem sido também investigado, pois sua capacidade de diminuir a tensão superficial do mineral favorece a adesão bacteriana nessa superfície e, em consequência, melhora a dissolução deste mineral.

Surfactantes são substâncias que contêm um grupo hidrofílico polar e um grupo hidrofóbico não polar, que podem abaixar a tensão superficial da

água em soluções aquosas. A tensão superficial atua paralelamente à superfície, atraindo moléculas para fora da interface sólido-líquido, diminuindo o contato de ambas e, assim, dificultando o processo de biolixiviação (43). O potencial de surfactantes no controle de processos de biolixiviação consiste, essencialmente, no aumento da disponibilidade de substratos não polares. Isso ocorre devido às suas propriedades de “molhabilidade”, mas eles podem produzir algum tipo de inibição do desenvolvimento bacteriano (44, 45). Deng et al. (43) mostraram, através da determinação da taxa de oxidação de arsênio e ferro, que em um meio com a bactéria, um tensoativo e água magnetizada, o tempo de biolixiviação diminui quando a concentração do surfactante é menor do que 500 mg/L. A taxa de oxidação do ferro, no entanto, foi menos afetada quando comparada à do arsênio.

Seidel et al. (44), estudando a solubilização de metais de sedimentos contaminados com metais pesados por *Thiobacillus* ssp. endógeno, na presença de surfactantes (SDS, Prävozel e Netzschwefel 80 WP), concluíram que tais agentes não são apropriados quando o material tem muita matéria orgânica ou o tamanho de partícula é muito reduzido. Existem outros trabalhos que mencionam o uso de surfactantes (46-48) ou de biosurfactantes (49), não na biolixiviação de minério de cobre, mas na extração do cobre, quando o mesmo já está em solução.

Não existem, atualmente, minérios com altos teores de cobre; há, somente, minérios com teores reduzidos, que em geral se apresentam com teores de cobre entre 0,1% e 0,5%. Processos pirometalúrgicos não são economicamente viáveis para extração de cobre, o que torna importante um estudo que visa o desenvolvimento de um processo bacteriano de extração de cobre em minérios de baixo teor, e que teste potenciais agentes promotores da atividade oxidativa bacteriana nos sulfetos de cobre presentes nesses minérios.

II. OBJETIVOS

O objetivo central deste projeto foi o estudo inicial da biolixiviação do minério de cobre da mina de Sossego, PA, da Companhia Vale do Rio Doce, com a técnica de frascos agitados.

Objetivos específicos:

- Verificar a influência dos íons Cl^- e Ag^+ e do surfactante Tween 80 na oxidação do íon ferroso pelo *A. ferrooxidans*;
- verificar o efeito da adição suplementar do íon Fe^{2+} na biolixiviação do minério;
- verificar o efeito da adição do meio de cultura previamente crescido (com alta concentração de Fe^{3+} e de células do *A. ferrooxidans*) na biolixiviação do minério;
- verificar a influência dos íons Cl^- e Ag^+ e do surfactante Tween 80 na biolixiviação do minério.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

III.1. LINHAGEM BACTERIANA

A linhagem bacteriana utilizada foi a *A. ferrooxidans*-LR, isolada de lixívia ácida de minério de urânio procedente de Lagoa Real, Bahia (50).

III.2. AMOSTRA MINERAL

Foi utilizada uma amostra da mina de Sossego, PA, fornecida pela Companhia Vale do Rio Doce. Para os estudos de biolixiviação em frascos agitados, a granulometria da amostra foi de 100%<0,2mm (65 mesh) e sua composição química para os elementos de interesse — Cu, Fe e S — foram, respectivamente, 0,31%, 20,8% e 0,29%.

III.3. MEIO DE CULTURA

Para a manutenção periódica da linhagem bacteriana e obtenção de inóculo para realização dos experimentos, foi utilizado o meio de cultura T&K, desenvolvido por Tuovinen & Kelly (51). Sua composição e modo de preparo estão descritos a seguir.

A. REAGENTES

Solução A:

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

Solução B:

FeSO₄.7H₂O.....33,3g
 pH (H₂SO₄ concentrado).....1,8
 água deionizada.....q.s.p. 200mL

B. PROCEDIMENTO

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

III.4. ENSAIOS REALIZADOS**III.4.1. EFEITO DO Cl⁻, Ag⁺ e TWEEN 80 NA OXIDAÇÃO DO Fe²⁺ PELO *A. ferrooxidans*-LR**

Foram realizados ensaios de crescimento da linhagem bacteriana em meio T&K completo (Fe²⁺, como fonte de energia), na presença de Cl⁻, Ag⁺ e Tween 80. Para o Cl⁻, adicionado na forma de NaCl, foram utilizadas as seguintes concentrações (mMol L⁻¹): 100, 200, 400 e 500. Para o íon Ag⁺, utilizado na forma de Ag₂SO₄, as concentrações em mMol L⁻¹ foram: 0,005, 0,01, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0 e 10. E, para o Tween 80 % (v/v): 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,25 e 0,5.

Frascos erlenmeyer de 250mL, com 100 mL de meio T&K, receberam os agentes nas concentrações indicadas. Os frascos foram inoculados (5% v/v) com uma cultura ativa de *A. ferrooxidans*-LR e mantidos a 30° C em mesa agitadora (150 rpm). Alíquotas de 1mL para a determinação do Fe²⁺ foram retiradas periodicamente. Os ensaios foram efetuados em triplicata e os resultados do crescimento foram expressos como porcentagem de oxidação do Fe²⁺ em função do tempo. O íon Fe²⁺ foi determinado por titulometria redox,

utilizando-se dicromato de potássio a 0,01N e difenilaminosulfonato de bário como indicador (52).

III.4.2. BIOLIXIVIAÇÃO EM FRASCOS AGITADOS.

Os ensaios foram realizados em frascos erlenmeyer de 250 mL com 150 mL de solução A do meio T&K e a amostra mineral na concentração de 2,5% de densidade de polpa. As condições dos ensaios foram:

- a) somente solução A do meio T&K;
- b) solução A do meio T&K com adição suplementar de 30 mMol L⁻¹ de Fe²⁺;
- c) meio completo previamente oxidado pela bactéria;
- d) solução A do meio T&K com a adição de 100, 200 e 400 mMol L⁻¹ de NaCl, em cada frasco;
- e) solução A do meio T&K com adição de Tween 80 a 0,005%;
- f) solução A do meio T&K com adição de 0,01 mMol L⁻¹ de Ag₂SO₄.

Os frascos foram inoculados (5% v/v) com uma cultura ativa de *A. ferrooxidans*-LR e incubados em mesa agitadora a 150 rpm e 30 °C.

Paralelamente, foram incubados os respectivos controles (sem inóculo) de todos os tratamentos indicados acima. O controle do tratamento “c” foi obtido por esterilização em membrana Millipore (0,45 µm) do meio previamente crescido. A perda de água por evaporação foi compensada com adição de água destilada estéril, antes de cada amostragem.

Alíquotas de 10-12 mL da polpa de cada frasco foram retiradas periodicamente para a determinação de pH, Eh, Fe³⁺, Fe_{total} (Fe²⁺, obtido pela diferença entre Fe_{total} e Fe³⁺) e Cu. As determinações de pH e Eh foram realizadas com eletrodo combinado de Pt (contra Ag⁰/AgCl/KCl 3M). As determinações de Fe³⁺ e Fe_{total} foram feitas por método espectrofotométrico, conforme descrição de Karamenev (53) e posterior avaliação de Paipa et al. (54). O método consiste, resumidamente, em adicionar 3,0 mL do ácido SSA

(sulfosalicílico) 10% em 0,1 mL de amostra. Há formação de um complexo vermelho violeta com o íon Fe^{3+} . Depois de determinar a concentração do íon férrico, adicionou-se no mesmo balão volumétrico 3,0 mL do NH_4OH 25%, para determinação do Fe_{total} pois, em pH alcalino, forma-se um complexo amarelo com os íon Fe^{2+} e Fe^{3+} . O Fe^{3+} e Fe_{total} foram determinados, respectivamente, em $\lambda = 500 \text{ nm}$ e $\lambda = 425 \text{ nm}$, em espectrofotômetro FEMTO 600S. O cobre foi determinado por absorção atômica de alta resolução, em equipamento CONTR AA 300 (Analytic Jena, Alemanha) com uma fonte de radiação contínua (lâmpada de arco voltaico xenon XBO, 300W). Os resíduos sólidos foram lavados com água ácida (pH 1,8), secos a 60°C por 24 horas e mantidos em atmosfera de argônio para serem analisados por difratometria de raios x (DRX).

III.5. METODOLOGIA ANALÍTICA

III.5.1. Caracterização Química do Minério

O minério utilizado neste estudo foi fornecido pela Companhia Vale do Rio Doce. Paralelamente aos estudos de biolixiviação, foram realizadas análises químicas para determinação de cobre, ferro e enxofre. Utilizou-se titulação iodométrica para a determinação do Cu (55), titulação por óxido-redução com dicromato de potássio para o Fe (52) e gravimetria para determinação de enxofre (9).

A. Determinação de cobre no minério

A.1. Reagentes

- solução de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, seco a 60°C por três horas (padrão primário)
- HCl concentrado
- NaHCO_3 , 1 Mol L^{-1}
- KI, 60%.
- HClO_4 , 60%

- NH_4OH , 1:1
- NH_4HF_2
- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, padronizado em $0,01\text{Mol L}^{-1}$ (solução preparada com água recém destilada e conservada em frasco de vidro âmbar com 3 gotas de clorofórmio para evitar contaminação microbiana)
- solução indicadora de amido a 1% (dissolveu-se 1,0 g de amido em um pouco de água e sob constante agitação, aqueceu-se até a fervura; acrescentou-se 2g de KI e completou-se o volume para 100 mL).

A.2. Procedimento

Após secagem do minério a 60°C , até peso constante, colocou-se 1,0 g do mesmo em um béquer e adicionou-se 15,0 mL de HClO_4 . Aqueceu-se brandamente por 5 minutos, esfriou-se à temperatura ambiente e adicionou-se solução de NH_4OH (1:1) até a solução desprender um leve cheiro de amônia. Em seguida, adicionou-se o tampão NH_4HF_2 até que o pH atingisse mais ou menos 4,0 e então adicionou-se 10 mL da solução de KI (60%). Titulou-se a solução de cobre imediatamente, com tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0,01\text{Mol L}^{-1}$ padronizado), até que a cor do iodo diminuísse de intensidade, para então adicionar a solução de amido (indicador) a 1%. Continuou-se a adição de tiosulfato de sódio até a mudança da cor azul da solução para cor levemente amarelada, ou quase incolor (ponto final).

B. Determinação de ferro total no minério

B.1. Reagentes

- solução de SnCl_2 (150g de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em 1L de HCl , 1:2)
- HgCl_2 , 5%
- H_2SO_4 , 1:5
- H_3PO_4 , 85%
- KMnO_4 , 2%
- $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{BaN}_2\text{O}_6\text{S}_2$ (difenilaminosulfonato de bário), 0,2%

- $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, seco à 60°C por três horas, $0,017 \text{ Mol L}^{-1}$ (padrão primário)
- HCl , 1:1
- HCl concentrado

B.2. Procedimento

Pesou-se 0,30 g do minério, adicionou-se 10 mL de HCl concentrado e 3 mL de solução de SnCl_2 e aqueceu-se em banho-maria até a dissolução do minério. Extraíu-se o resíduo com 10 mL de HCl 1:1 e adicionou-se KMnO_4 a 2% até a obtenção de uma coloração amarela. Aqueceu-se a solução até perto do ponto de ebulição, adicionou-se solução de SnCl_2 , gota a gota, com agitação, até o desaparecimento da cor amarela, e então duas gotas em excesso. Esfriou-se à temperatura ambiente e adicionou-se 10 mL de HgCl_2 5%. Posteriormente, adicionou-se 200 mL de água destilada, 10 mL de H_2SO_4 1:5, 5 mL de H_3PO_4 85% e 5 gotas de solução de difenilaminosulfonato de bário 0,2%. Titulou-se com $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $0,017 \text{ Mol L}^{-1}$ até mudança da coloração verde para azul violeta.

C. Determinação gravimétrica de enxofre total

C.1. Reagentes

- solução de água régia (HCl e HNO_3 concentrados na proporção 3:1)
- HCl concentrado
- HCl , 50%
- NaOH , 2 Mol L^{-1}
- BaCl_2 , 10%

C.2. Procedimento

Após secagem do minério a 60°C , até peso constante, colocou-se 2,0 g do minério em béquer de 600 mL e adicionou-se então 80 mL de água régia e cobriu-se com vidro de relógio para repouso por uma noite. Esse béquer foi

então colocado em chapa de aquecimento e deixado para secar, sem calcinar; adicionou-se 10 mL de HCl concentrado e novamente deixou-se secar, sem calcinar. Esse último tratamento foi repetido por mais duas vezes e então retomado com 30 mL de HCl 50%. Filtrou-se a solução com minério em papel de filtro faixa branca (Whatman 40) e recolheu-se o filtrado, ao qual adicionou-se solução de NaOH até pH ~ 8,0, deixou-se ferver por 10 minutos e filtrou-se novamente em papel de filtro faixa branca. Ajustou-se o pH do filtrado com solução de HCl até pH ~ 4,5, adicionou-se 10 mL de HCl 50% e completou-se o volume para 400 mL com água destilada. Aqueceu-se até o início da ebulição e adicionou-se vagarosamente, sob agitação, 30 mL de solução de BaCl₂ 10%. Deixou-se em repouso por 3 horas em banho-maria e filtrou-se com papel de filtro faixa azul (Whatman 42). Lavou-se o precipitado com água fria até eliminar todo o cloreto, colocou-se o papel e o precipitado em cadinho de porcelana previamente tarado e calcinou-se. Em seguida, o precipitado foi levado à mufla por 1 hora, a 900 °C. Deixou-se esfriar e pesou-se o resíduo.

III.5.2. Difração de raios x (DRX)

O equipamento utilizado para a obtenção dos difratogramas foi um difratômetro de raios x D5000 Siemens, equipado com monocromador no feixe difratado. Os parâmetros ajustados nas análises foram: tempo de contagem, 2s; passo (variação do ângulo 2θ), 0,05°; corrente de 30 mA; diferença de potencial de 40 kV e intervalo de ângulo de varredura de 10 a 70° (2θ).

Nas análises realizadas, utilizou-se um porta-amostra de teflon de 47 mm de diâmetro por 3 mm de espessura, com cavidade de 15 ou 20 mm de diâmetro por 1 mm de profundidade no centro, destinada a conter a amostra para a análise. O pico do porta-amostra é bem definido e fica em cerca de 18° (2θ) ($d = 4,90$), mas não foi mostrado no difratograma de raios x, pois poderia confundir-se com algum outro pico próximo a esta região.

IV . RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 3 mostra o difratograma da amostra original do minério de cobre, revelando a presença significativa do quartzo (SiO_2) e de compostos complexos formados por metais alcalinos, alcalinos terrosos, sílica, cloro, ferro e alumínio. O ferro, presente no minério a 20,8%, apresenta-se principalmente na forma de compostos complexos, como a hastingsita $[(\text{K},\text{Na})\text{Ca}_2(\text{Fe},\text{Mg})_5(\text{Si},\text{Al})_8\text{O}_{22}\text{Cl}_2]$ e a wadalita $[\text{Ca}_6(\text{Al},\text{Fe},\text{Mg})_5\text{Si}_2\text{O}_{16}\text{Cl}_3]$. No anexo I estão relacionadas todas as fases cristalinas identificadas nesse estudo, discutidas posteriormente, com seus principais picos e respectivos valores de “d” (distância interplanar para $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$).

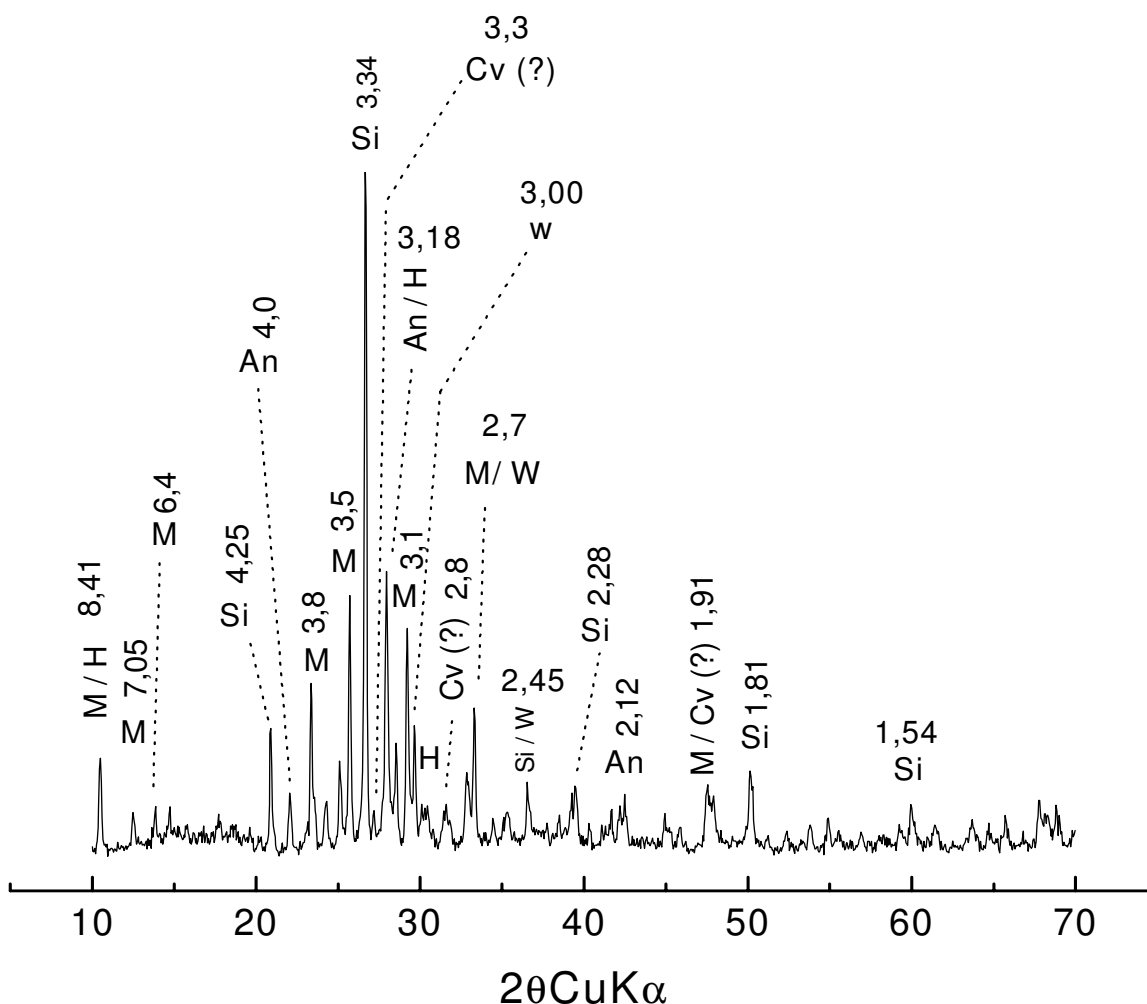


Figura 3: Difratograma de raios x do minério original utilizado nos experimentos de biolixiviação.

IV.1. EFEITO DO Cl^- , Ag^+ E TWEEN 80 NA OXIDAÇÃO DO ÍON Fe^{2+} POR *A. ferrooxidans* - LR.

Antes da realização dos ensaios de biolixiviação, estudou-se o efeito dos íons Cl^- , Ag^+ e do tensoativo Tween 80 na oxidação do íon ferroso pela bactéria. Essa avaliação inicial foi de fundamental importância para a definição de concentrações não inibitórias para a bactéria e que, ao mesmo tempo, apresentassem algum efeito promotor no processo de biolixiviação.

A Figura 4 mostra as curvas de oxidação do íon ferroso por *A. ferrooxidans*, na presença de várias concentrações do íon Cl^- .

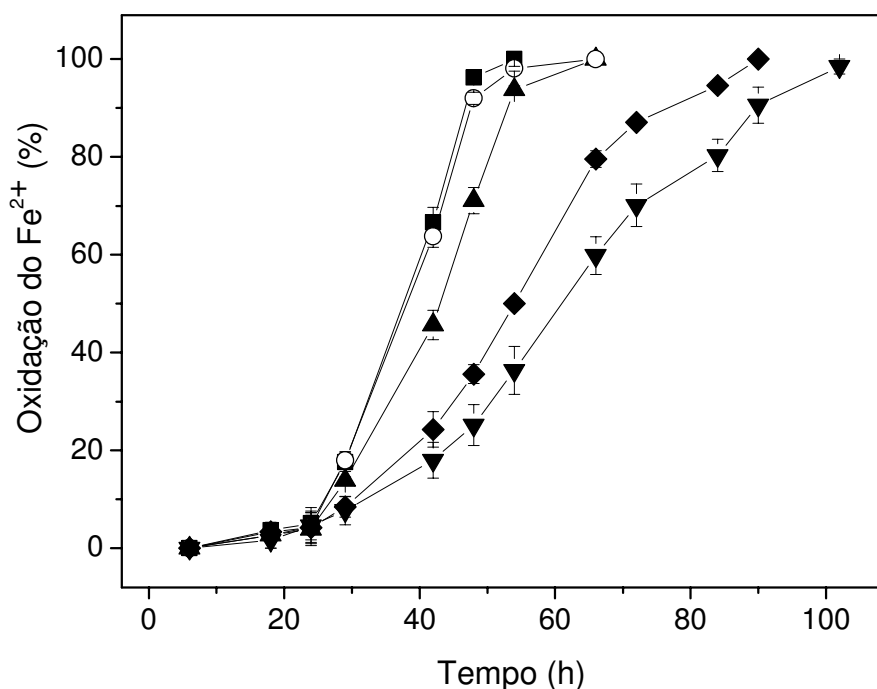


Figura 4. Efeito da concentração do íon cloreto na oxidação do íon ferroso por *A. ferrooxidans*-LR. Símbolos: (■) controle sem NaCl; (▲) 100mM de NaCl; (○) 200mM de NaCl; (◆) 400mM de NaCl; (▼) 500mM de NaCl. As barras verticais indicam o desvio padrão das médias obtidas.

Observa-se que até 200 mM não houve efeito significativo nas curvas de oxidação do Fe^{2+} pela bactéria. Nas concentrações de 400 e 500 mM L^{-1} , no entanto, ocorreu uma leve inibição na taxa de oxidação do Fe^{2+} pela bactéria, determinando um prolongamento da fase “lag” do crescimento e também uma

diminuição dessas taxas na fase logarítmica. Dessa forma, o tempo total para a oxidação do íon Fe^{2+} foi dilatado de cerca de 50 horas (controle) para aproximadamente 100 horas.

Pode ser observado, pela Figura 5, que nas concentrações de 0,001, 0,005 e 0,01% de Tween 80 a taxa de oxidação do Fe^{2+} pela bactéria foi similar ao controle sem a presença de Tween 80. Por outro lado, a concentração de 0,05% provoca uma extensão na fase “lag” da oxidação do Fe^{2+} até cerca de 50 horas, para depois se iniciar a fase exponencial. Nas concentrações de 0,1%, 0,25% e 0,5% ocorreu uma inibição total da oxidação do Fe^{2+} pela bactéria em até 120 horas de cultivo.

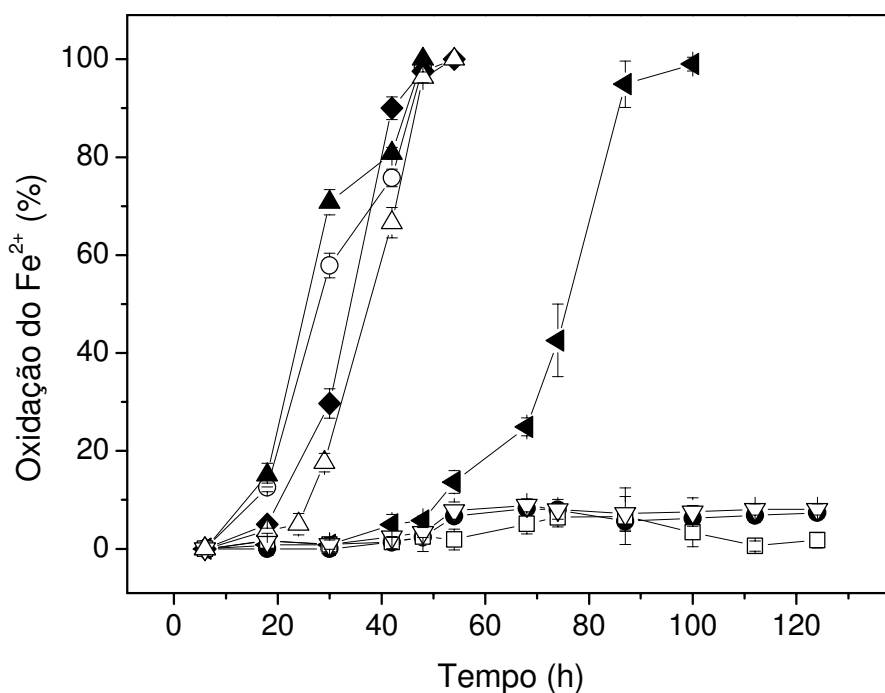


Figura 5. Efeito da concentração de Tween 80 na oxidação do íon ferroso por *A. ferrooxidans* – LR. Símbolos: (Δ) controle sem tenso-ativo; (○) 0,001% de Tween 80; (▲) 0,005% de Tween 80; (◆) 0,01% de Tween 80; (◄) 0,05% de Tween 80; (●) 0,1% de Tween 80; (◻) 0,25% de Tween 80; (◻) 0,5% de Tween 80. As barras verticais indicam o desvio padrão das médias obtidas.

Em relação ao efeito do íon Ag^+ , todas as concentrações utilizadas, exceto a $0,005 \text{ mMol L}^{-1}$ de Ag_2SO_4 , provocaram inibição completa da oxidação do íon ferroso pelo *A. ferrooxidans-LR* (Figura 6). A concentração de $0,005 \text{ mMol L}^{-1}$ provocou uma extensão de até noventa horas, aproximadamente, na fase “lag” de crescimento do *A. ferrooxidans-LR*, tempo que a mesma demorou para se adaptar a esta concentração de Ag_2SO_4 . Ao utilizar $0,01 \text{ mMol L}^{-1}$ de sulfato de prata, observou-se uma completa inibição na oxidação do íon ferroso. Em experimentos de lixiviação na presença de íons Ag^+ têm sido utilizadas concentrações de 9,0, 2,5, 2,0, 0,9 e 0,25 mMol L^{-1} desse íon, por exemplo, com resultados promissores (31,39,56,57). As concentrações utilizadas determinaram uma inibição completa da oxidação do Fe^{2+} , como mencionado acima, e foi realizada então uma avaliação da oxidação do íon ferroso na presença de $0,01 \text{ mMol L}^{-1}$ de Ag_2SO_4 ($0,02 \text{ mMol L}^{-1}$ em Ag^+), mas juntamente com o minério. A Figura 6 mostra que, nessas condições, a oxidação do íon Fe^{2+} pelo *A. ferrooxidans-LR* foi absolutamente normal: em cerca de 48 horas houve a completa oxidação da fonte de energia pela bactéria.

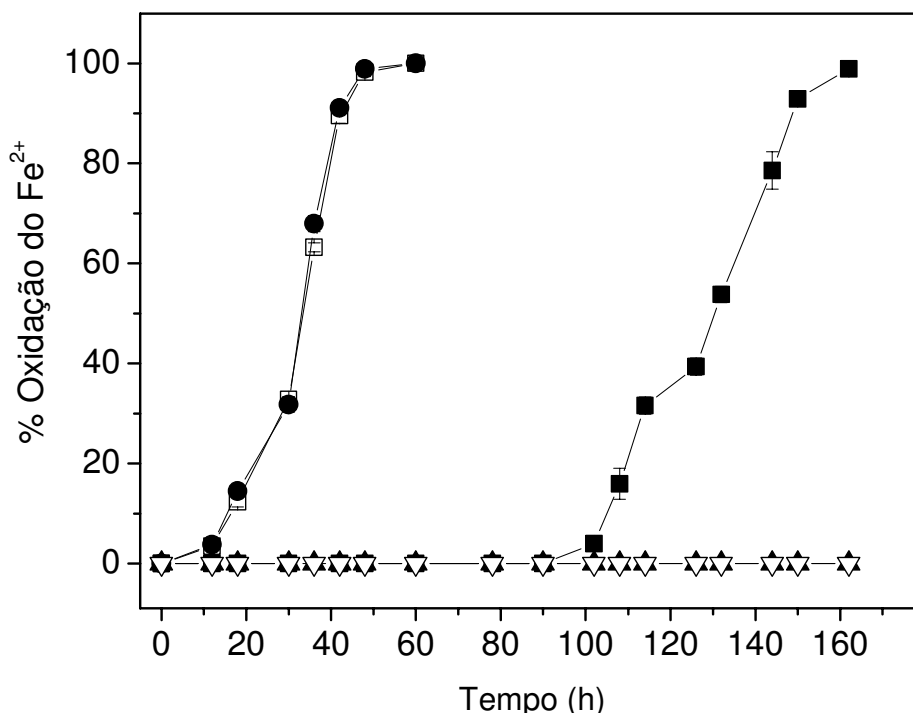
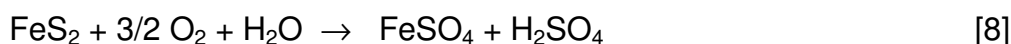


Figura 6: Efeito da concentração do íon prata na oxidação do íon ferroso por *A. ferrooxidans*-LR. Símbolos: (□) controle sem adição de Ag_2SO_4 ; (■) $0,005 \text{ mMol L}^{-1}$ de Ag_2SO_4 ; (●) $0,01 \text{ mMol L}^{-1}$ de Ag_2SO_4 com 3,75g de minério; (▲) $0,01 \text{ mMol L}^{-1}$ de Ag_2SO_4 sem adição de minério; (▽) $0,1 \text{ mMol L}^{-1}$ de Ag_2SO_4 . As barras verticais indicam o desvio padrão das médias obtidas.

Nessa condição, o íon Ag^+ pode estar depositando na superfície do minério e formando algum tipo de precipitado com outros íons, ficando menos disponível em solução aquosa e, conseqüentemente, menos tóxico para a bactéria.

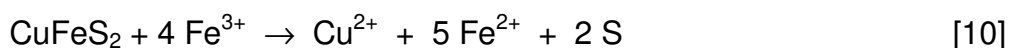
IV.2. BIOLIXIVIAÇÃO EM FRASCOS AGITADOS

Em um sistema de biolixiviação, a elevação do pH indica o consumo de ácido pelo minério, enquanto sua diminuição indica a geração de ácido, devido à oxidação de um sulfeto mineral como, por exemplo, a pirita (equação 8), e/ou devido à hidrólise do íon Fe^{3+} , de acordo com a equação 9.



O potencial de óxido-redução no meio com bactéria é determinado pela razão $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$; quanto maior a razão, maior a atividade bacteriana. Em meio abiótico, os valores do potencial redox variam também em função dos íons Fe^{3+} e Fe^{2+} em solução aquosa.

As Figuras 7, 8 e 9 mostram os valores do pH e do Eh para todos os ensaios, para os frascos inoculados e para os respectivos controles abióticos. De forma geral, nota-se que, durante todo o experimento, os valores de pH são sempre maiores nos controles abióticos do que nos frascos com bactéria. Na presença da bactéria, o pH decresce rapidamente, enquanto nos controles, exceto para o meio com adição de T&K previamente oxidado (Figura 7C), demora cerca de quatro semanas para atingir valores inferiores a 2,0. Conforme salientado anteriormente, a bactéria provavelmente oxida formas reduzidas de enxofre, presentes na amostra mineral (calcopirita, e eventualmente a pirita, por exemplo), ou enxofre produzido a partir da oxidação desses sulfetos (equações 10 e 8, respectivamente), gerando ácido sulfúrico conforme a equação 2. Deve também ser considerada a hidrólise dos íons férricos produzidos pela atividade bacteriana de oxidação dos sulfetos contendo ferro (pirita e calcopirita, por exemplo), que produz ácido sulfúrico, conforme a equação 9.



Ainda em relação às Figuras 7, 8 e 9, pode-se observar que exceto para os meios contendo prata e concentrações superiores a 100 mMol L^{-1} de NaCl, os valores de potencial permaneceram superiores a 500-550 mV nos meios com a presença da bactéria, devido à maior concentração de íons férricos nesses meios, proveniente da oxidação bacteriana do íon ferroso. Já nos controles abióticos, como esperado, os valores permaneceram em torno de 350-400 mV.

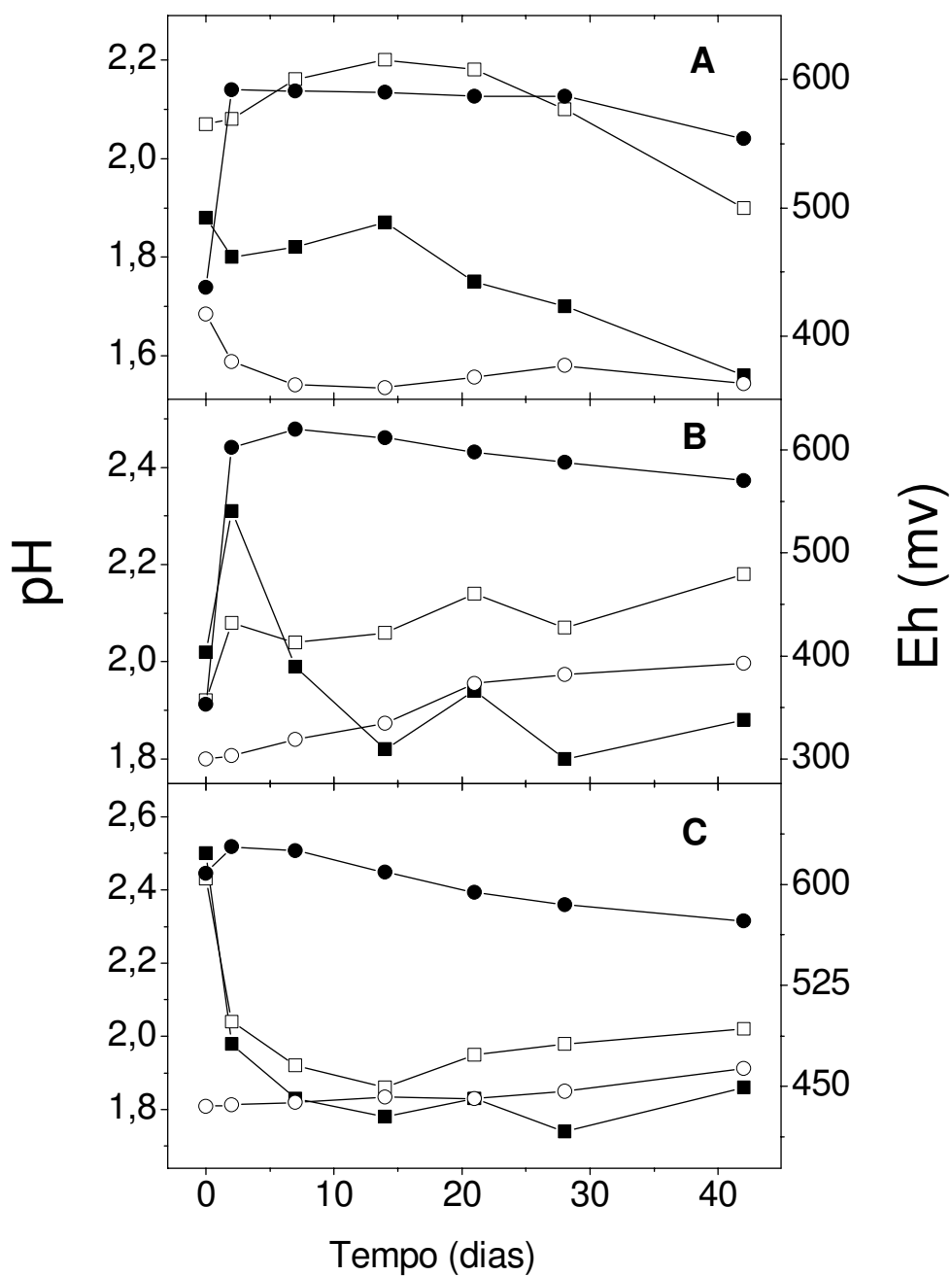


Figura 7: Variação do pH (■) e do potencial de óxido-redução (●) no experimento de biolixiviação de minério de cobre em frascos, na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e de controles (símbolos vazios). (A) solução A do meio T&K; (B) solução A do meio T&K, com adição suplementar de 30 mM L^{-1} de Fe^{2+} ; (C) meio T&K completo, previamente oxidado pela bactéria.

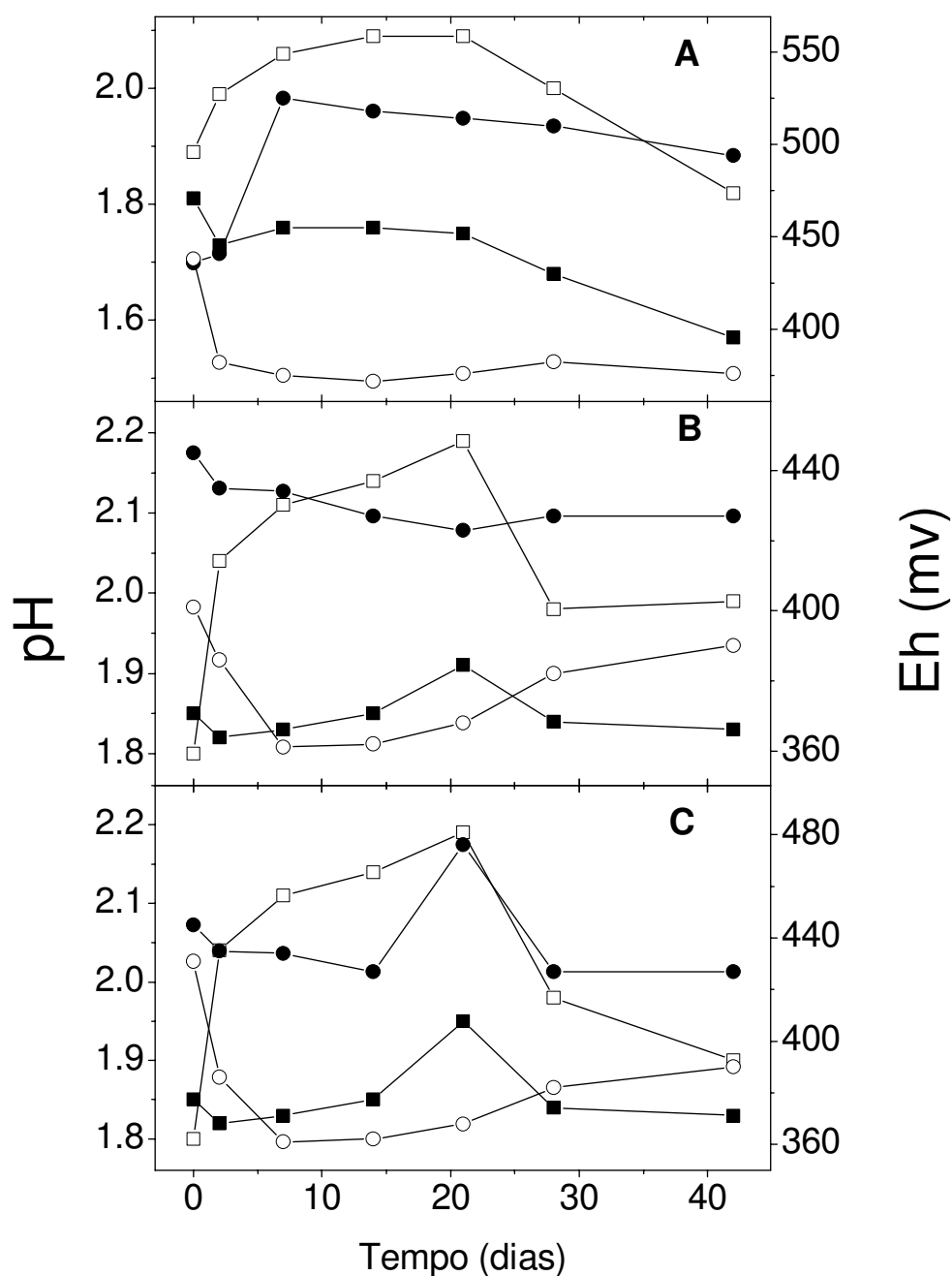


Figura 8: Variação do pH (■) e do potencial de óxido-redução (●) no experimento de biolixiviação em frascos na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em minério de cobre. (A) solução A do meio T&K, com a adição de 100 mMol L⁻¹ de NaCl; (B) solução A do meio T&K, com a adição de 200 mMol L⁻¹ de NaCl; (C) solução A do meio T&K, com a adição de 400 mMol L⁻¹ de NaCl.

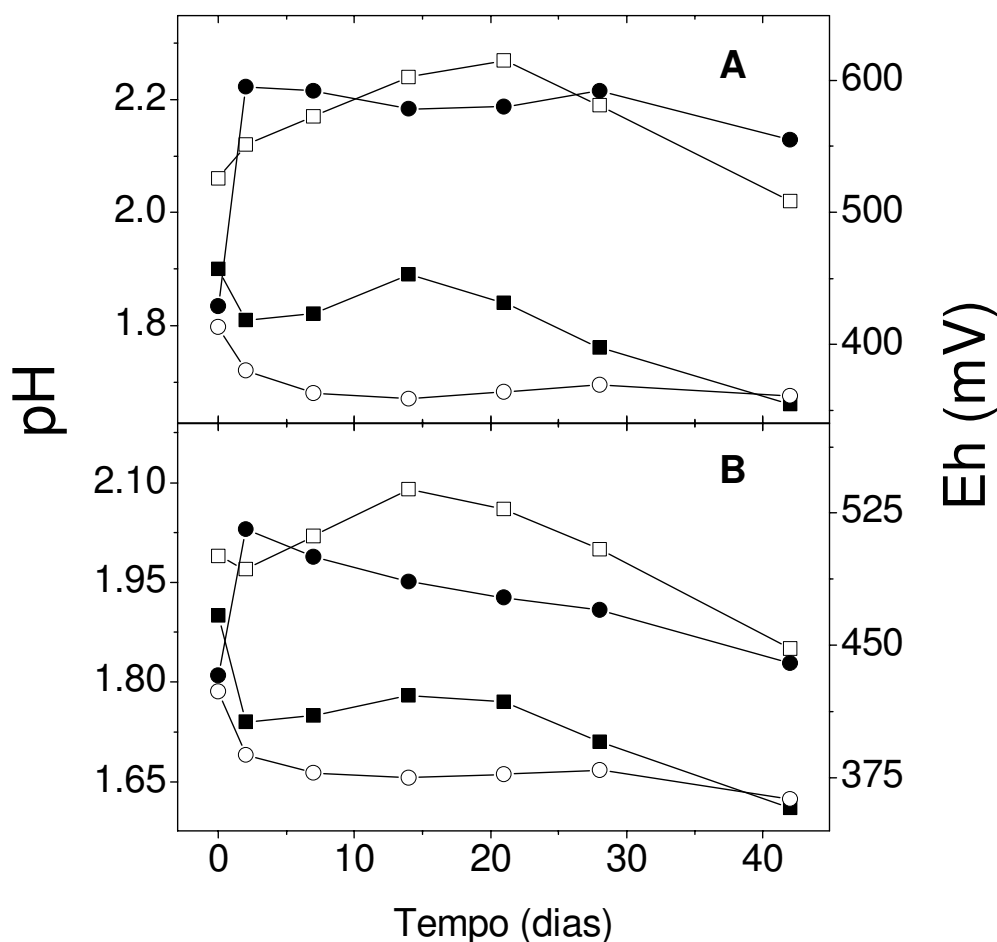


Figura 9: Variação do pH (■) e do potencial de óxido-redução (●) no experimento de biolixiviação em frascos na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em minério de cobre. (A) solução A do meio T&K, com adição de Tween 80 a 0,005%; (B) solução A do meio T&K, com adição de 0,01 mMol L⁻¹ de Ag₂SO₄ (0,2 mMol L⁻¹ de Ag⁺).

As Figuras 10, 11 e 12 mostram as variações nas concentrações de Fe²⁺ e Fe³⁺ nos ensaios de biolixiviação. No tratamento sem adição suplementar de íon ferroso (Figura 10-A) não ocorreram mudanças significativas na concentração desse íon, inoculado ou não; a concentração de Fe³⁺ manteve-se desde o início ao redor de 6 mMol L⁻¹ no tratamento inoculado, provavelmente devido à adição inicial desse íon no procedimento de inoculação.

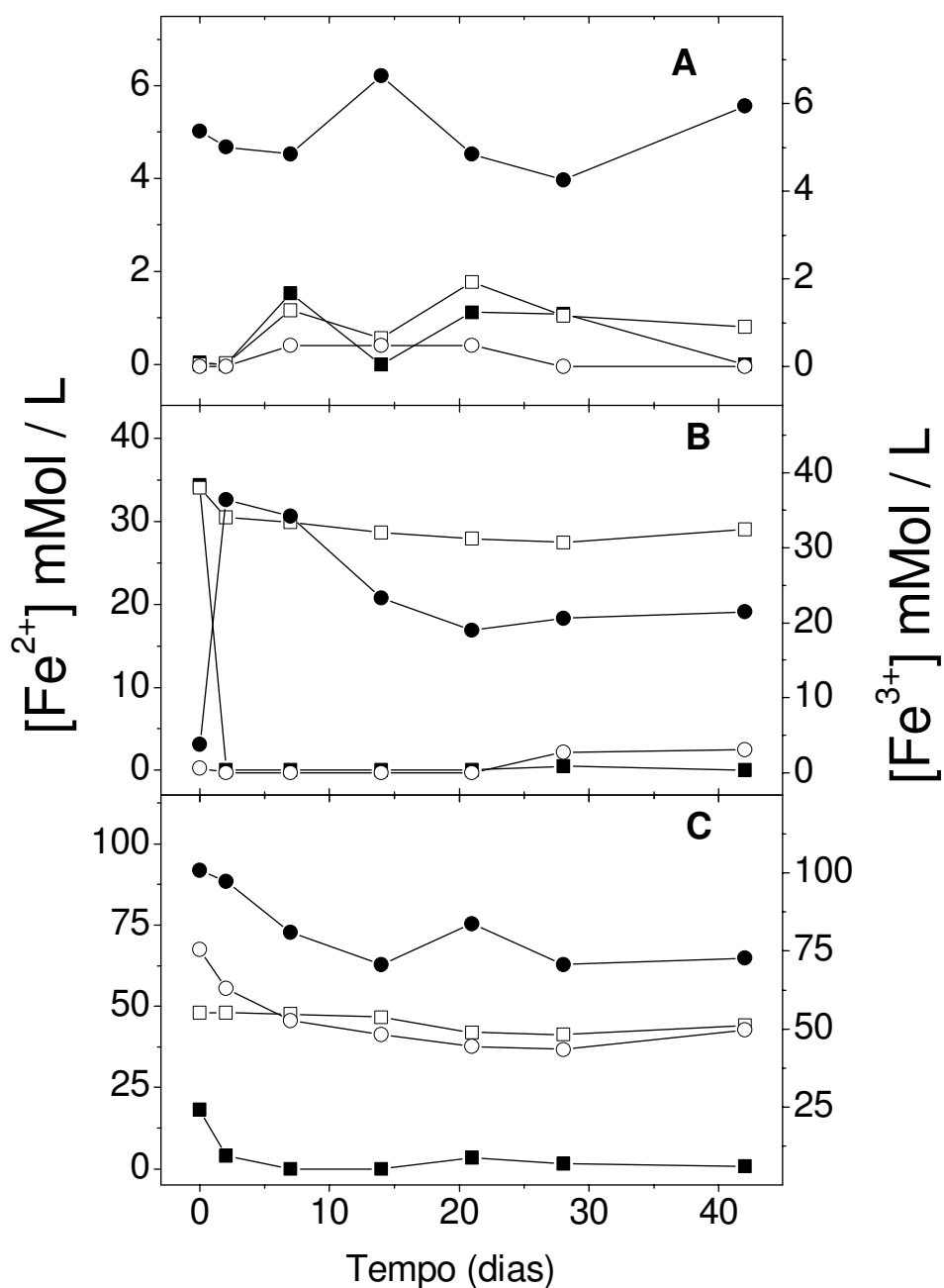


Figura 10: Variação da concentração de Fe^{2+} (■) e Fe^{3+} (●) no experimento de biolixiviação em frascos na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em minério de cobre. (A) solução A do meio T&K; (B) solução A do meio T&K, com adição suplementar de 30 mMol L^{-1} de Fe^{2+} ; (C) meio T&K completo, previamente oxidado pela bactéria.

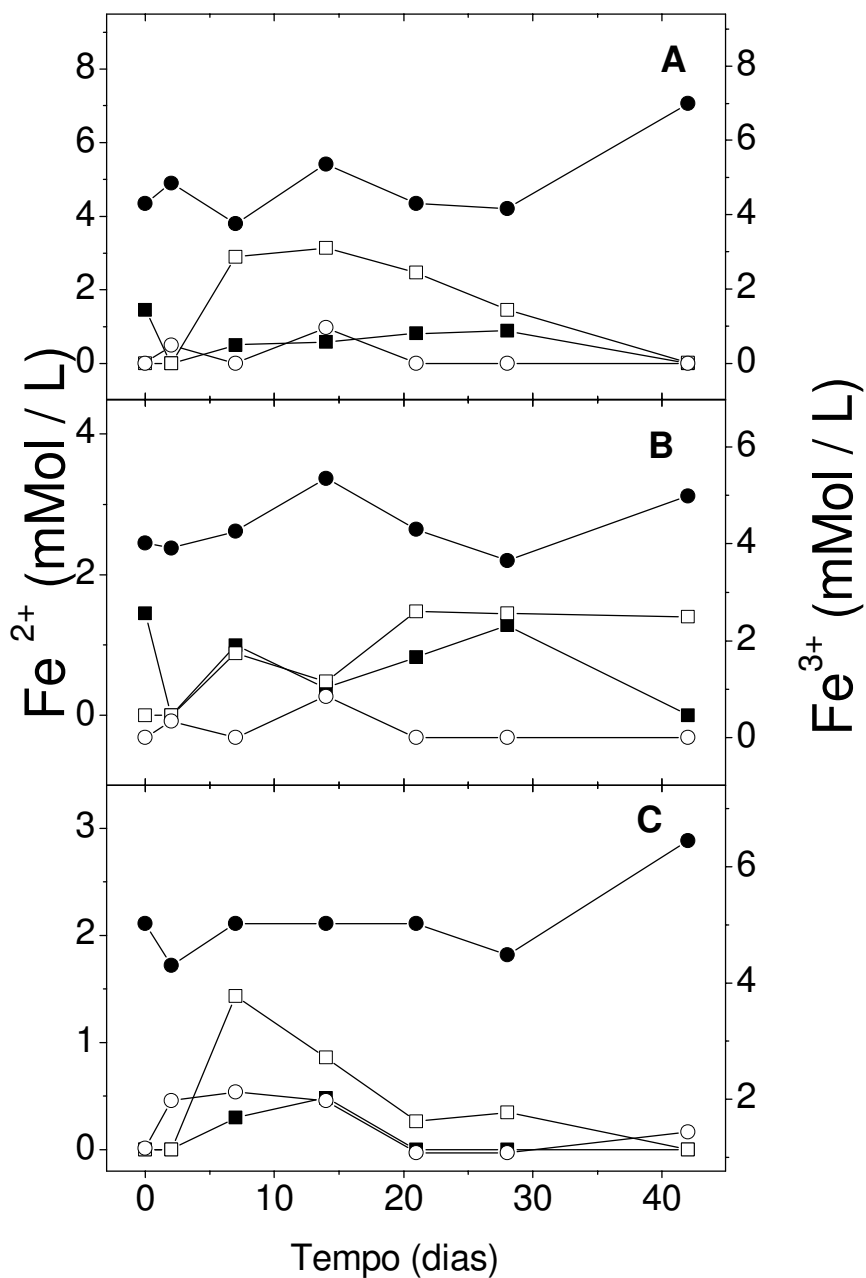


Figura 11: Variação da concentração de Fe^{2+} (■) e Fe^{3+} (●) no experimento de biolixiviação em frascos na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em minério de cobre. (A) solução A do meio T&K, com a adição de 100 mMol L⁻¹ de NaCl; (B) solução A do meio T&K, com a adição de 200 mMol L⁻¹ de NaCl; (C) solução A do meio T&K, com a adição de 400 mMol L⁻¹ de NaCl.

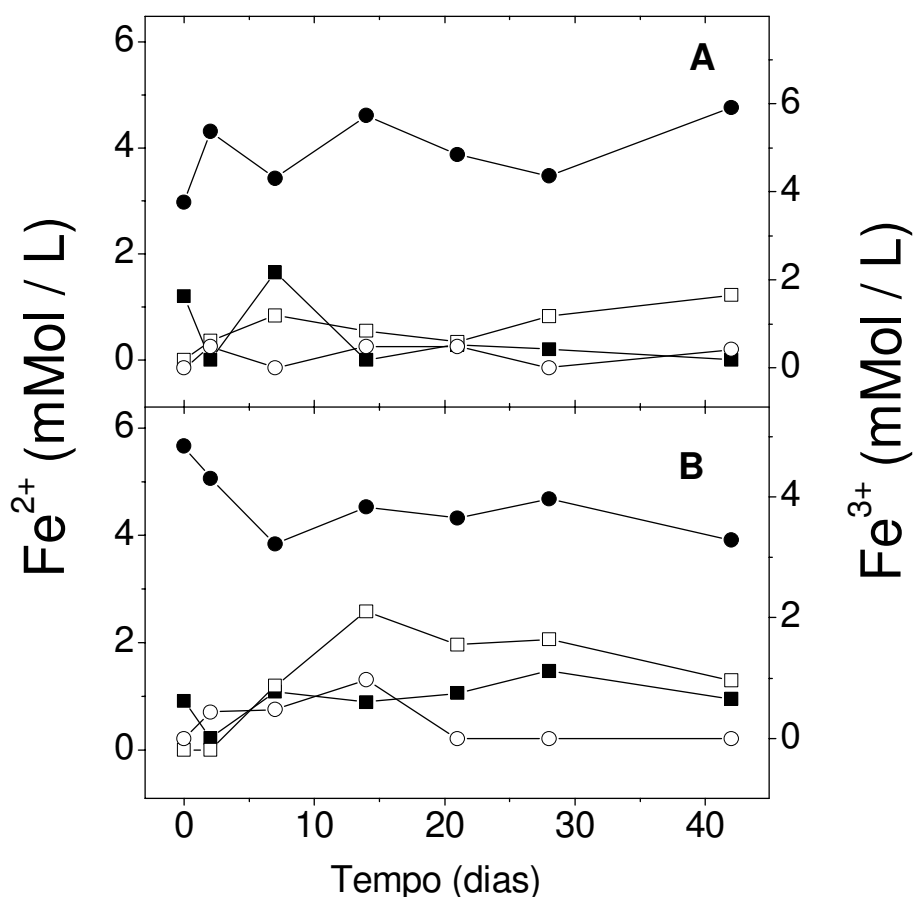


Figura 12: Variação da concentração de Fe^{2+} (■) e Fe^{3+} (●) no experimento de biolixiviação em frascos na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em minério de cobre. (A) solução A do meio T&K, com adição de Tween 80 a 0,005%; (B) solução A do meio T&K, com adição de 0,01 mMol L⁻¹ de Ag_2SO_4 (0,2 mMol L⁻¹ de Ag^+).

Dessa forma, não houve solubilização significativa do ferro no minério utilizado. No meio com adição suplementar de Fe^{2+} (Figura 10-B), a presença da bactéria determinou uma rápida oxidação desse íon e uma elevação significativa na concentração de Fe^{3+} para cerca de 30 mMol L⁻¹, no início do ensaio. Após alguns dias a concentração declinou e se manteve em aproximadamente 20 mMol L⁻¹ devido à precipitação do ferro na forma de jarosita, como se pode ver na Fig. 17-B, fato também demonstrado por outros autores (9, 54). No meio T&K completo, previamente oxidado e contendo a bactéria (Figura 10-C), ocorreu um declínio inicial da concentração do Fe^{3+} e a seguir a sua estabilização ao redor de 75 mMol L⁻¹. Essa diminuição da

concentração inicial (cerca de 100 mMol L^{-1}) está provavelmente associada ao ataque da solução de íon férrico ao minério, e também a alguma precipitação na forma de jarosita, conforme demonstração de Bevilaqua et al (58). Nesse tratamento, a concentração do Fe^{2+} , após uma rápida elevação até cerca de 20 mMol L^{-1} devido à redução do íon férrico no ataque ao minério, decresceu até valores próximos de zero, o que indica uma eficiente atividade bacteriana.

No controle (meio oxidado, porém sem a presença da bactéria), por outro lado, ocorre fenômeno semelhante em relação à queda na concentração do Fe^{3+} e ao aumento da concentração do Fe^{2+} , em comparação com o tratamento inoculado. A concentração desse último manteve-se, no entanto, ao redor de 50 mMol L^{-1} durante todo o ensaio, devido à ausência da bactéria.

Nos testes com adição de NaCl nas concentrações de 100, 200 e 400 mMol L^{-1} (Figuras 11-A, 11-B e 11-C), pode-se observar que as concentrações de íon férrico se mantiveram baixas durante todo o ensaio. Somente os tratamentos inoculados mostraram alguma presença significativa desse íon (cerca de 6 mMol L^{-1}), o que constitui importante parâmetro indicativo de atividade bacteriana. De qualquer forma, a solubilização do ferro (ferroso ou férrico) do minério foi pouco expressiva.

Na presença de Tween 80 e íons Ag^+ (Figuras 12-A e 12-B), tais agentes também tiveram pouca influência na solubilização do ferro do minério. Da mesma forma que na presença de NaCl, os tratamentos inoculados mostraram ligeira diferença em relação aos controles nas concentrações de Fe^{3+} , que também se situaram na faixa de cerca de 6 mMol L^{-1} , enquanto o Fe^{2+} permaneceu sempre em valores inferiores a 2 mMol L^{-1} .

As taxas de solubilização de cobre, obtidas nos vários tratamentos realizados e expressas como porcentagem de extração, são mostradas nas Figuras 13, 14 e 15.

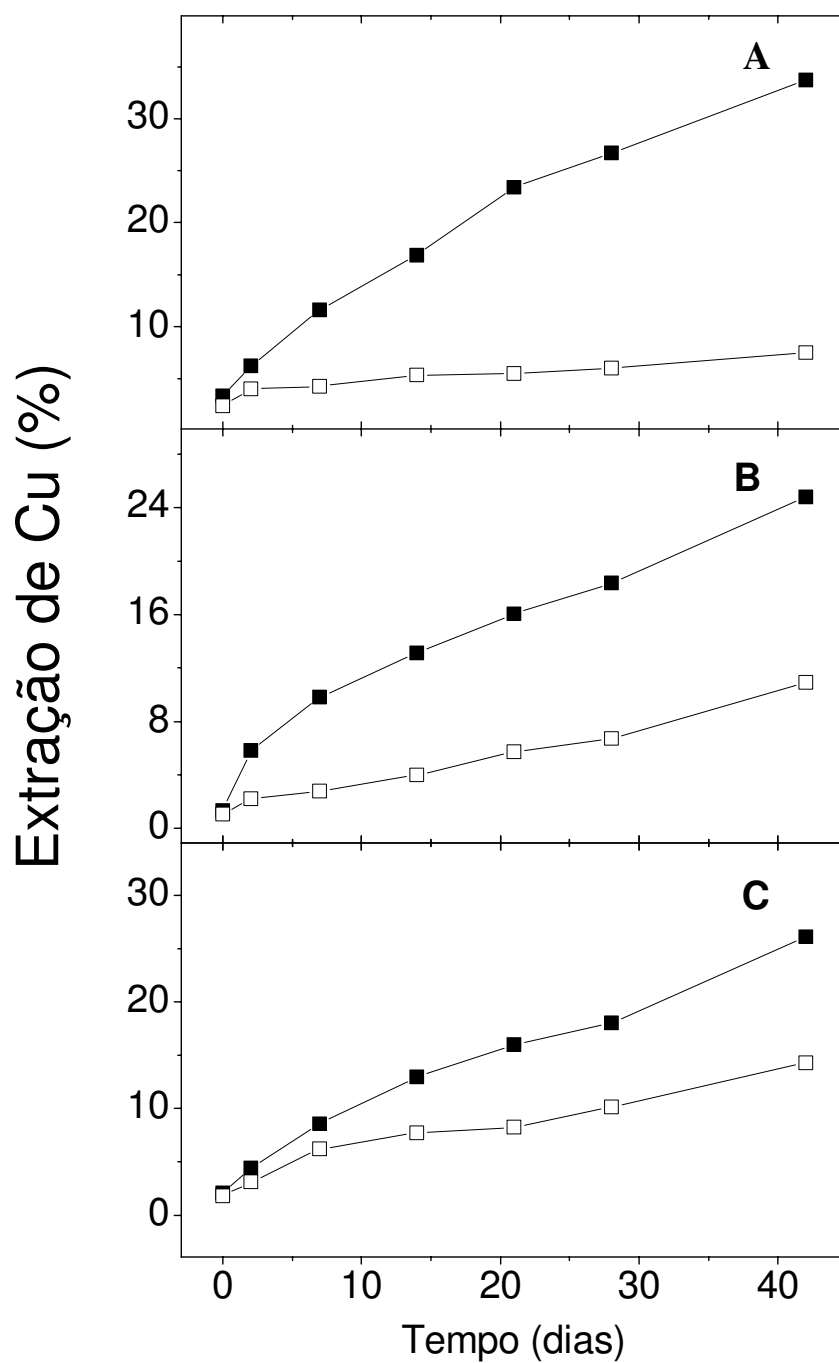


Figura 13: Porcentagem de extração de cobre na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios). (A) solução A do meio T&K; (B) solução A do meio T&K, com adição suplementar de 30 mMol L⁻¹ de Fe²⁺; (C) meio T&K completo, previamente oxidado pela bactéria.

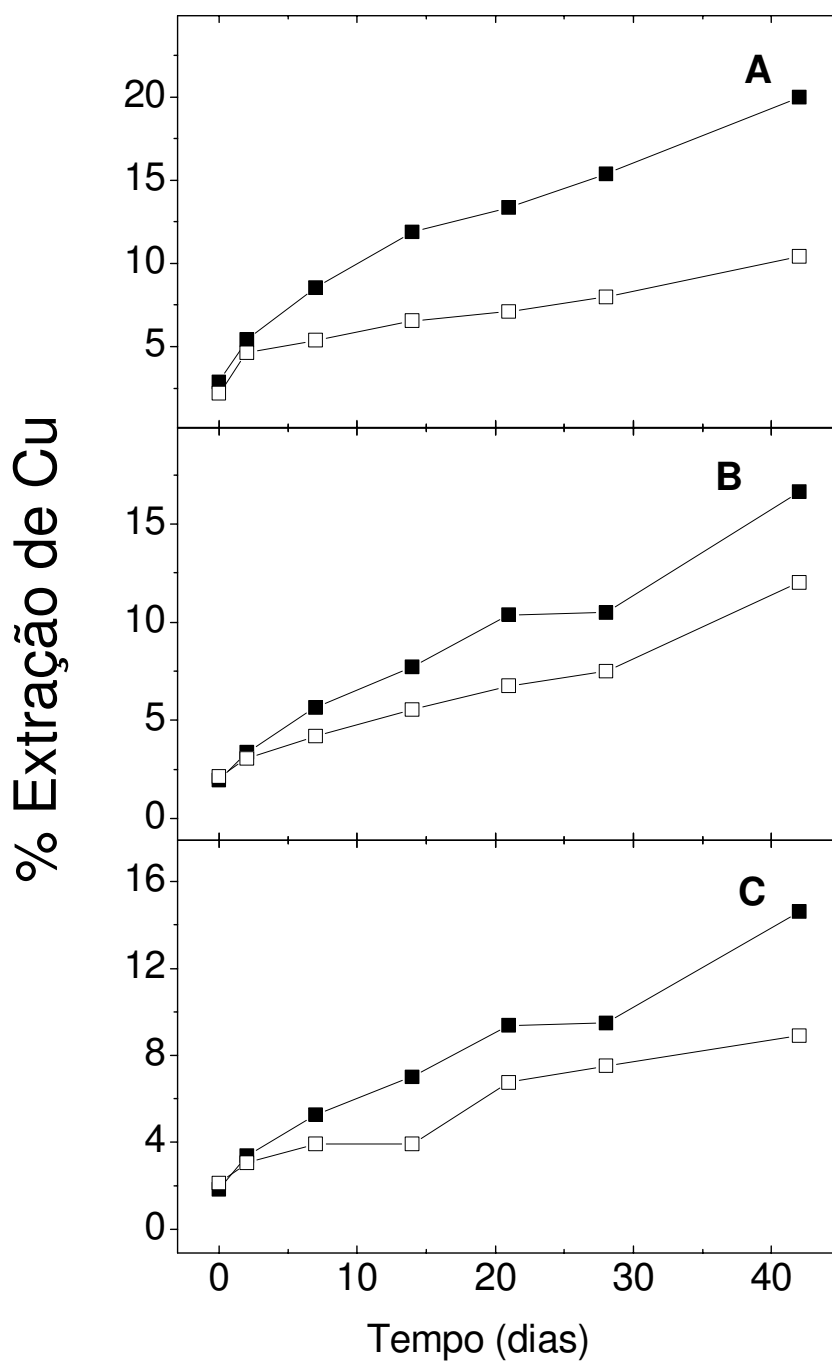


Figura 14: Porcentagem de extração de cobre na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios). (A) solução A do meio T&K, com a adição de 100 mMol L⁻¹ de NaCl; (B) solução A do meio T&K, com a adição de 200 mMol L⁻¹ de NaCl; (C) solução A do meio T&K, com a adição de 400 mMol L⁻¹ de NaCl.

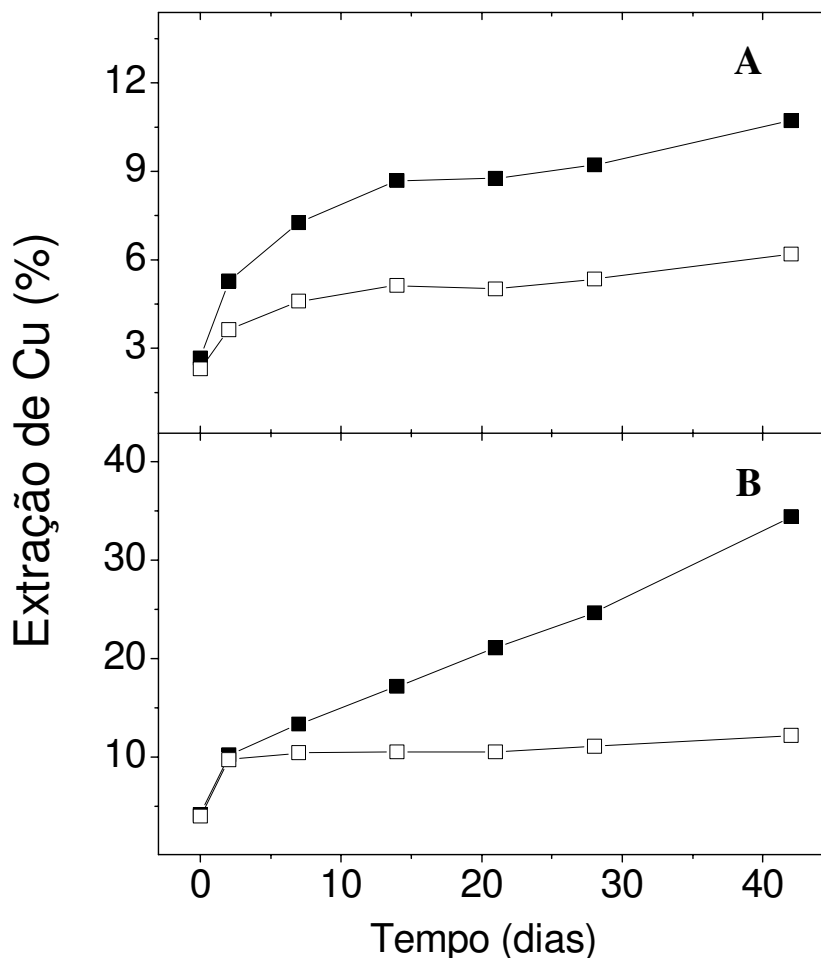


Figura 15: Porcentagem de extração de cobre na presença do *A. ferrooxidans*-LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios). (A) solução A do meio T&K, com adição de Tween 80 a 0,005%; (B) solução A do meio T&K, com adição de 0,01 mMol L⁻¹ de Ag₂SO₄ (0,2 mMol L⁻¹ de Ag⁺).

Nota-se que, em todos os ensaios, a presença do *A. ferrooxidans*-LR determinou taxas e rendimentos finais de extração de cobre sempre superiores àqueles obtidos nos respectivos controles abióticos. Somente nos tratamentos inoculados, sem adição suplementar de íon ferroso (Figura 13-A) ou na presença de 0,01 mMol L⁻¹ de íons prata (Figura 15-B), obteve-se rendimentos de extração de cobre razoáveis: cerca de 35%.

Dessa forma, a adição de fonte de energia suplementar para a bactéria (Fe²⁺), meio previamente crescido (contendo bactérias e íons férricos), íons cloreto ou agente surfactante (Tween 80) não determinaram qualquer elevação na solubilização do cobre.

O íon cloreto promove a extração de cobre somente nos processos de lixiviação em temperaturas acima de 50 °C (3). Shiers et al. (59) mostraram que 7,0 g L⁻¹ de NaCl (aproximadamente 119 mMol L⁻¹) dificulta a adaptação da bactéria ao meio, reduzindo sua duplicação em até 50%. Já a baixa extração de cobre observada nos ensaios na presença de Tween 80 pode estar relacionada à degradação do envoltório celular da bactéria (44).

No presente estudo foi utilizada a técnica de difração de raios x objetivando analisar possíveis alterações nas fases sólidas (resíduos), decorrentes dos tratamentos a que foram submetidas. Apesar de não ser uma técnica quantitativa e elementar, a análise dos resíduos dos ensaios de biolixiviação em comparação com os controles e com o minério original pode auxiliar na interpretação das reações ocorridas durante o processo. Bevilaqua et al. (58) mostraram que durante a biolixiviação do mineral calcopirita (CuFeS₂), na presença de *A. ferrooxidans*, ocorreu a formação de novas fases como a jarosita e a diminuição de outras como a calcopirita, evidenciando a dissolução da mesma. Para a bornita (Cu₅FeS₄), Bevilaqua (9) mostrou que a dissolução ocorreu de forma semelhante, porém, além de fases como a jarosita, formou-se também uma nova fase cristalina secundária identificada como covelita (CuS), que na presença de *A. ferrooxidans* solubilizou-se. Esse conjunto de informações permitiu a elaboração de modelos da dissolução oxidativa desses minerais na presença e ausência dessa espécie bacteriana.

Monteiro (60), estudando a dissolução bacteriana da covelita (CuS) e da calcocita (Cu₂S), verificou a formação de novas fases cristalinas, como jarosita e sulfetos, provenientes da dissolução da covelita e da calcocita, e também o desaparecimento dos picos desses minerais. Assim como Bevilaqua (9), Monteiro propôs modelos para explicar a dissolução oxidativa da calcocita e da covelita.

Diferentemente dos trabalhos acima mencionados, em que foram utilizadas amostras naturais de alto grau de pureza dos minerais, no presente trabalho foi utilizada uma amostra real de minério, obviamente muito mais complexa em relação às fases cristalinas presentes nessa amostra.

Note-se que, na Figura 16, não foram assinalados picos definitivos referentes a algum sulfeto de cobre. Os três picos ($d = 3,3$; $2,8$ e $1,91$) são normalmente creditados à covelita (cv), porém foram marcados com interrogação, pois muito provavelmente não se trata dos mesmos. As concentrações de cobre ($0,31\%$) e enxofre ($0,29\%$), obtidas pela análise química, determinaram baixa concentração desse mineral na amostra do minério em estudo, situando-se dessa forma abaixo do limite de detecção da técnica. Além disso, esses picos (cv) estão presentes também nos resíduos da biolixiviação (Figuras 16-B e 16-C), o que não seria coerente.

Finalmente, os baixos valores de extração de cobre (máximo de 35%) não são compatíveis para esse mineral de cobre. Monteiro (60) obteve valores de extração de cobre acima de 90% em um sistema de biolixiviação semelhante ao utilizado neste trabalho. Dessa forma, o sulfeto de cobre provavelmente presente no minério é a calcopirita, reconhecidamente o mais refratário à dissolução química e bacteriana (9, 57, 58).

Os difratogramas apresentados nas Figuras 16-B e 16-C, referentes aos resíduos do controle abiótico e do inoculado em meio contendo somente a solução A do meio T&K (ausência de Fe^{2+}), não mostraram nenhuma nova fase cristalina, bem como nenhuma redução mais pronunciada dos minerais presentes na amostra original.

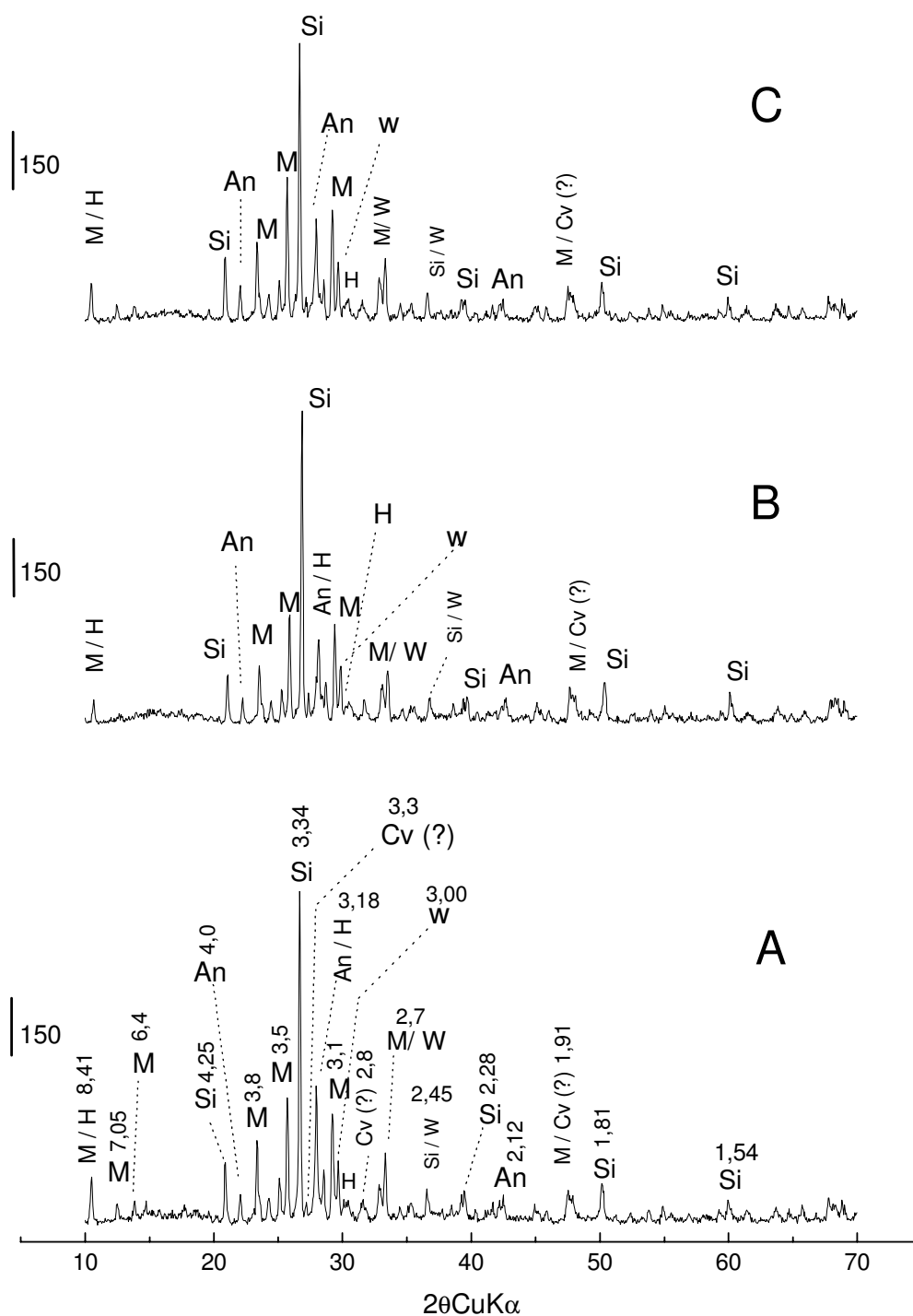


Figura 16: Difratomogramas de raios X dos resíduos dos experimentos de biolixiviação do minério da mina de Sossego com a linhagem *A. ferrooxidans*-LR. (A) minério original utilizado nos experimentos de biolixiviação; (B) resíduo do ensaio controle com somente adição da solução A do meio T&K; (C) resíduo do ensaio com somente adição da solução A do meio T&K com bactéria. Símbolos: Si, quartzo; Cv(?), covelita; M, marialita; H, hastingsita; An, anortita; W, wadalita;. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos indicam a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina.

A Figura 17 mostra os difratogramas dos resíduos sólidos do ensaio de biolixiviação com adição suplementar de 30 mMol L⁻¹ de Fe²⁺, após 42 dias de experimento. Observa-se que no controle abiótico (Fig. 17-A) não houve mudanças significativas (formação ou desaparecimento de picos) em relação aos difratogramas obtidos no ensaio sem adição do Fe²⁺ (Fig. 16-B e C).

No ensaio inoculado (Fig. 17-B), por outro lado, surgiram novos picos, referentes à formação e precipitação de jarosita, mineral expresso pela fórmula: XFe₃(SO₄)₂(OH)₆, onde X pode ser Na⁺, K⁺, NH₄⁺ ou H₃O⁺. A presença do *A. ferrooxidans*-LR provocou a oxidação do Fe²⁺ para Fe³⁺ que, em função do pH do meio (Fig. 7) precipita-se, total ou parcialmente, na forma desse mineral.

A ocorrência de jarosita em sistemas de biolixiviação, independente da adição suplementar de Fe²⁺ como fonte de energia para o *A. ferrooxidans* tem sido demonstrada por alguns autores (9, 58, 60). A presença de jarosita nos resíduos minerais é invariavelmente determinada por fatores como pH e presença do íon Fe³⁺, decorrente de oxidação bacteriana, ou pela adição direta desse íon.

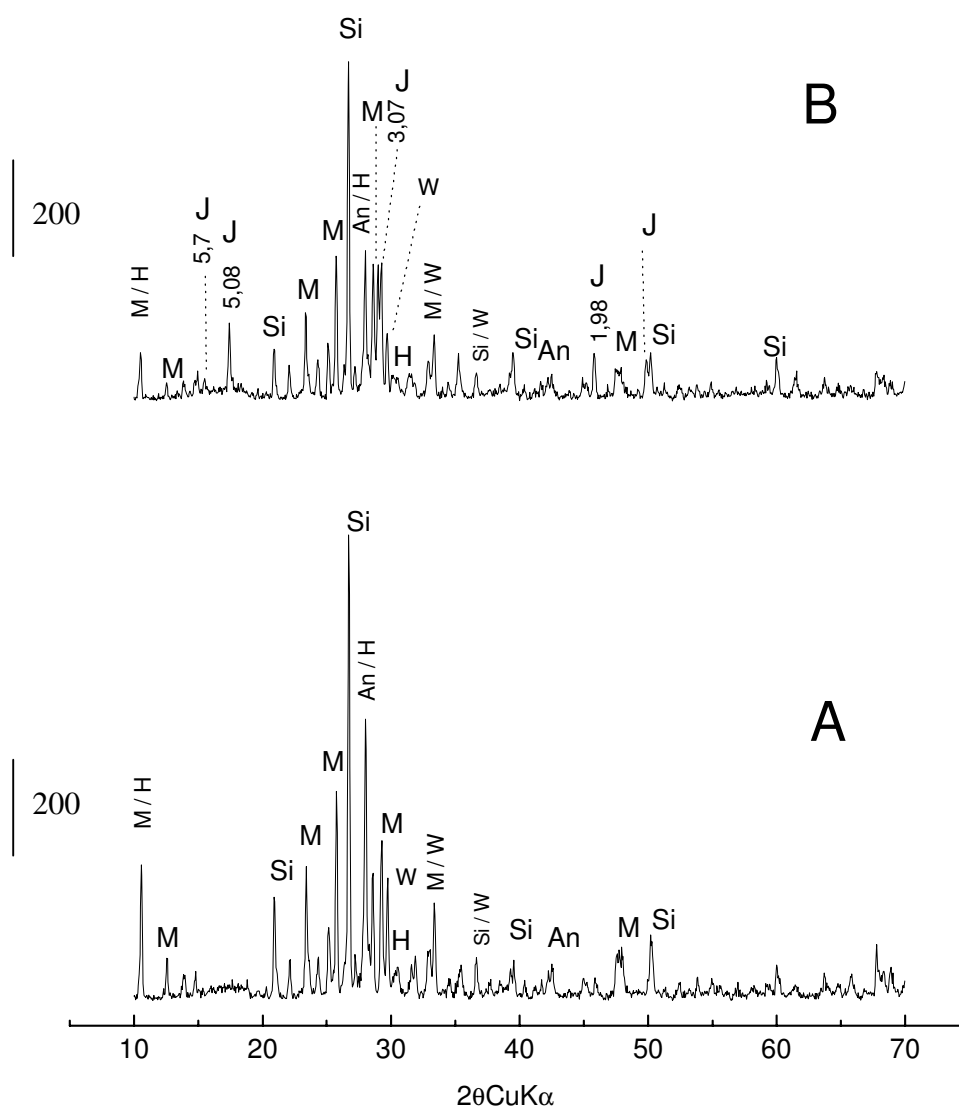


Figura 17: Difratogramas de raios X dos resíduos dos experimentos de biolixiviação do minério da mina de Sossego com a linhagem *A. ferrooxidans*-LR, em solução A do meio T&K com adição suplementar de 30 mMol L^{-1} de Fe^{2+} . (A) controle abiótico; (B) inoculado. Símbolos: Si, quartzo; M, marialita; H, hastingsita; An, anortita; W, wadalita; J, jarosita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos indicam a distância “d” (em Ångströms) característica de cada fase cristalina.

A Figura 18 (A e B) apresenta os difratogramas dos resíduos dos ensaios de biolixiviação, nos quais foi adicionado inicialmente o meio de cultivo T&K (completo) já oxidado, portanto rico em Fe^{3+} ($\sim 120 \text{ mMol L}^{-1}$). Em ambos os resíduos, na presença de bactérias (Fig. 18-B) ou na sua ausência (Fig. 18-A), a formação de jarosita ao final do ensaio (42 dias) é evidente, confirmando uma vez mais que, em sistemas de biolixiviação onde a oxidação do Fe^{2+} pelo

A. ferrooxidans é o fenômeno central do processo, a presença de jarosita é uma constante.

Os resultados das análises de DRX dos demais ensaios de biolixiviação não mostraram nenhuma diferença em termos de mudanças nas fases sólidas, tanto nos tratamentos inoculados como nos não inoculados (controles).

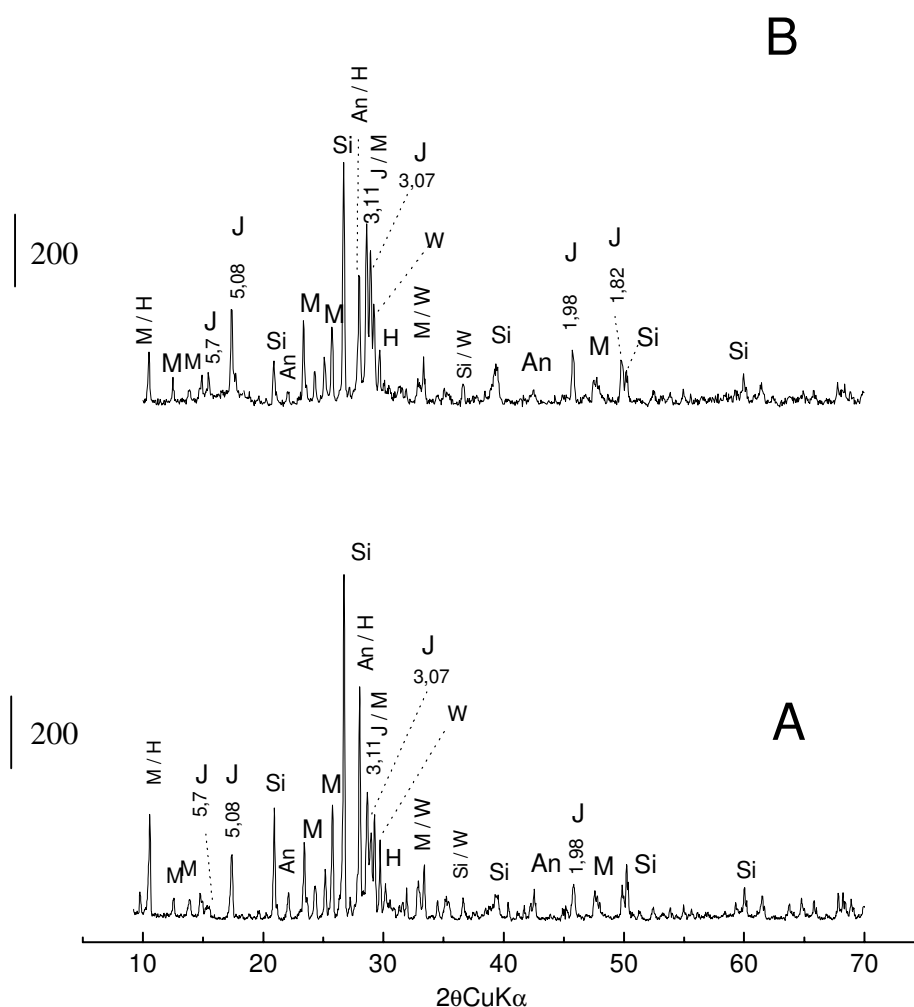


Figura 18: Difratogramas de raios X dos resíduos dos experimentos de biolixiviação do minério da mina de Sossego com a linhagem *A. ferrooxidans*-LR, em meio de cultivo T&K (completo) já oxidado. (A) controle abiótico; (B) inoculado. Símbolos: Si, quartzo; M, marialita; H, hastingsita; An, anortita; W, wadalita; J, jarosita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos indicam a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina.

Os baixos rendimentos de extração de cobre verificados nos ensaios com adição suplementar de Fe^{2+} ou Fe^{3+} (ambos aproximadamente 25%) podem estar associados à formação da jarosita, mesmo considerando a possibilidade de ser calcopirita, sabidamente refratária à dissolução oxidativa bacteriana ou química, o mineral de cobre majoritário desse minério.

Como já destacaram vários autores (9,22,39,60), a presença de jarosita em concentrações elevadas diminui, conseqüentemente, a disponibilidade do íon férrico (principal agente lixiviante) e determina uma baixa difusão do próprio Fe^{3+} solúvel e do H^+ para a superfície do mineral, causando a baixa solubilização do cobre.

Em uma amostra de minério, além dos diferentes tipos de minerais contidos (CuS , CuFeS_2 , FeS_2 , ZnS , etc.), existem também matéria orgânica, silicatos e carbonatos que podem prejudicar o processo de biolixiviação. Desta forma, quando se tem um sistema complexo como o da biolixiviação de um certo minério, a extração pode não ser tão expressiva. Por isso, o estudo de formas alternativas de otimizar o processo de extração de um metal de minérios de baixo teor reveste-se de particular importância.

V – CONCLUSÕES

- As concentrações não inibitórias do NaCl e Tween - 80 na oxidação do Fe^{2+} pela bactéria *A. ferrooxidans*-LR foram 100 e 200mMol L^{-1} para NaCl, e 0,01, 0,005 e 0,001% para o Tween - 80.
- Para o Ag_2SO_4 , a concentração de 0,005 mMol L^{-1} não inibiu, mas prolongou por 100 horas a oxidação do Fe^{2+} pela bactéria.
- A bactéria *A. ferrooxidans*-LR tolera concentrações inibitórias de prata para seu metabolismo quando está em um meio com minério.
- Nos ensaios realizados somente com adição de solução A e com solução A mais Ag_2SO_4 (0,01 mMol L^{-1}) foram obtidos as melhores rendimentos de extração de cobre: 35%.
- Nos ensaios com adição suplementar de Fe^{2+} e meio T&K previamente oxidado por *A. ferrooxidans* a extração foi baixa (25%), devido à precipitação do Fe^{3+} na forma de jarosita (detectada nos raios x).
- O íon cloreto, mesmo em concentrações que não inibiram a oxidação do Fe^{2+} pelo *A. ferrooxidans*-LR, não se mostrou eficaz na extração do cobre (20%) em temperatura de 30 °C.
- O Tween 80, na concentração de 0,005%, determinou a menor extração de cobre (10%) na amostra do minério de cobre estudado.

REFERÊNCIAS

- 1 GARCIA JUNIOR, O. Microorganismos e metais. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1997. p. 11-41.

- 2 COLMER, A. R.; TEMPLE, K. L.; HINCKLE, M. E. An iron-oxidizing bacterium from the acid drainage of some bituminous coal mines. **Journal of Bacteriology**, v. 59, p. 317, 1950.

- 3 WATLING, H. R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides: a review. **Hydrometallurgy**, v. 88, p. 81-108, 2006.

- 4 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.

- 5 O COBRE brasileiro em ascensão no cenário mundial. Disponível em: <<http://www.bndes.gov.br>>. Acesso em: 09 fev. 2007.

- 6 CASTILLO, D.; SMITHSON, P.; BECERRA, E. Metallurgical behaviour of the major ore types to be leached in the escondida sulphide leach plant. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM HYDROMETALLURGICAL ON PROCESSING OF COPPER SULFIDES, 2004, Santiago. **Hydro-sulfides**. Santiago: Universidad de Chile, 2004. p. 135-146.

- 7 BUSTOS, M.; GARCIA, C.; GODOY, R. Leaching of low grade sulphide at los bronces division of anglo American: six years of operation . In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM HYDROMETALLURGICAL ON PROCESSING OF COPPER SULFIDES, 2004, Santiago. **Hydro-sulfides**. Santiago: Universidad de Chile, 2004. p. 147-158.

- 8 LORCA, C. Bioleaching study for low grade primary sulfides at Collahuasi. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM HYDROMETALLURGICAL ON PROCESSING OF COPPER SULFIDES, 2004, Santiago. **Hydro-sulfides**. Santiago: Universidad de Chile, 2004. p. 291-303.

- 9 MASCARIN, D. B. **Solubilização da calcopirita (CuFeS_2) e da bornita (Cu_5FeS_4) por *Thiobacillus ferrooxidans***. 1999. 90 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1999.
- 10 LEDUC, L. G.; FERRONI, G. D. The Chemolithotrophic bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. **FEMS Microbiology Reviews**, v.14, p. 103-120, 1994.
- 11 LUNDGREN, D. G.; SILVER, M. Ore leaching by bacteria. **Annual Review of Microbiology**, v. 34, p. 263-283, 1980.
- 12 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.
- 13 BOSECKER, K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 20, p. 591-604, 1997.
- 14 GARCIA JUNIOR, O.; URENHA, L. C. Lixiviação bacteriana de minérios. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 3, cap. 22, p. 485-512.
- 15 SAND, W.; GERKE, T.; HALLMANN, R.; SCHIPPERS, A. Sulfur chemistry, biofilm, and the (in)direct attack mechanism – a critical evaluation of bacterial leaching. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 43, p. 961-966, 1995.
- 16 KINZLER, K.; GEHRKE, T.; TELEGDI, J.; SAND, W. Bioleaching- a result of interfacial processes caused by extracellular polymeric substances (EPS). **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 83-88, 2003.
- 17 CRUNDWELL, F. K. How do bacteria interact with minerals. In: CIMINELLI, V. S. T.; GARCIA, O. JR. (Ed). **Biohydrometallurgy: fundamental, technology and sustainable development, part A: bioleaching, microbiology and molecular biology**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 149-157.
- 18 FRANCISCO JUNIOR, W. E. **Estudo da oxidação da covelita e molibdenita (MoS_2) por *Acidithiobacillus ferrooxidans***. 2006. 67 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

19 SAND, W.; GERKE, T.; JOSZA, P. G.; SCHIPPERS, A. (Bio)chemistry of bacterial leaching-direct vs. indirect. Bioleaching. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 159-175, 2001.

20 ROHWERDER, T.; SAND, W. Mechanisms and biochemical fundamentals of bacterial metal sulfide oxidation. In: DONATI, E. R.; SAND, W. (Ed.). **Microbial Processing of Metal Sulfide**. Dordrecht: Springer, 2006. cap. 2, p. 35-58.

21 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, 2000.

22 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, 2000.

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

24 LUNDSTRÖM, M.; AROMAA, J.; FORSÉN, O.; HYVÄRINEN, O.; BARKER, M. H. Leachin of chalcopyrite in cupric chloride solution. **Hydrometallurgy**, v. 77, p. 89-95, 2005.

25 STAROSVETSKY, D.; KHASELEV, O.; AUINAT, M.; EIN-ELI, Y. Initiation of copper dissolution in sodium chloride electrolytes. **Electrochimica Acta**, v. 51, p. 5660-5668, 2006.

26 COTO, O.; BALLESTER, A.; BLÁZQUEZ, M. L.; GONZÁLEZ, F. Bioleaching of a cuban copper concentrate in the presence of silver. **Biorecovery**, v. 2, p. 121-140, 1993.

27 COTO, O.; BLÁZQUEZ, M. L.; BALLESTER, A.; GONZÁLEZ, F. Semicontinuous bioleaching of a copper-indium concentrate. **Anales de Química Internacional Edition**, v. 92, p. 31-36, 1996.

- 28 BLANCARTE-ZURITA, M. A.; BRANION, R. M. R.; LAWRENCE, R. W. Microbiological leaching of chalcopyrite concentrates by *Thiobacillus ferrooxidans*. A comparative study of a conventional process and a catalyzed process. In: NORRIS, P. R.; KELLY, D. P. (Ed.). **Biohydrometallurgy**: proceedings of the international symposium. Kew: Science and Technology Letters, 1987. p. 273-285.
- 29 SATO, H.; NAKAZAWA, H.; KUDO, Y. Effect of silver chloride on the bioleaching of chalcopyrite concentrate. **International Journal of Mineral Processing**, v. 59, p. 17-24, 2000.
- 30 YUEHUA, H.; GUANZHOU, Q.; JUN, W.; DIANZUO, W. The effect of silver-bearing catalysts on bioleaching of chalcopyrite. **Hydrometallurgy**, v. 64, p. 81-88, 2002.
- 31 GÓMEZ, C.; FIGUEROA, M.; MUÑOZ, J.; BALLESTER, A.; Blázquez, M. L. A study of bioleached chalcopyrite surfaces in the presence of Ag (I) by voltammetric methods. **Minerals Engineering**, v. 10, p. 111-116, 1997.
- 32 GÓMEZ, C.; ROMÁN, E.; BLÁZQUEZ, M. L.; BALLESTER, A. SEM and AES studies of chalcopyrite bioleaching in the presence of catalytic ions. **Minerals Engineering**, v. 10, p. 825-835, 1997.
- 33 HIROYOSHI, N.; ARAI, M.; MIKI, H.; TSUNEKAWA, M.; HIRAJIMA, T. A new reaction model for the catalytic effect of silver ions on chalcopyrite leaching in sulfuric acid solutions. **Hydrometallurgy**, v. 63, p. 257-267, 2002.
- 34 WANG, M.; ZHANG, Y.; DENG, T.; WANG, K. Kinetic modeling for the bacterial leaching of chalcopyrite catalyzed by silver ions. **Hydrometallurgy**, v. 17, p. 943-947, 2004.
- 35 CARRANZA, F.; PALENCIA, I.; ROMERO, R. Silver catalyzed IBES process: application to a Spanish copper-zinc sulfide concentrate. **Hydrometallurgy**, v. 44, p. 29-42, 1997.
- 36 ROMERO, R.; PALENCIA, I.; CARRANZA, F. Silver catalyzed IBES process: application to a Spanish copper-zinc sulfide concentrate. Part 3. Selection of the operational parameters for a continuous pilot plant. **Hydrometallurgy**, v. 49, p. 75-86, 1998.

- 37 ROMERO, R.; MAZUELOS, A.; PALENCIA, I.; CARRANZA, F. Copper recovery from chalcopyrite concentrates by the BRISA process. **Hydrometallurgy**, v. 77, p. 205-215, 2003.
- 38 PALENCIA, I.; ROMERO, R.; MAZUELOS, A.; CARRANZA, F. Treatment of secondary copper sulfides (Chalcocite and Covellite) by the BRISA process. **Hydrometallurgy**, v. 66, p. 85-93, 2002.
- 39 BALLESTER, A.; BLÁZQUEZ, M. L.; GONZÁLEZ, F.; MUÑOZ, J. A. Catalytic role of silver and other ions on the mechanism of chemical and Biological Leaching. In: DONATI, E. R.; SAND, W. (Ed.). **Microbial processing of metal sulfide**. Dordrecht: Springer, 2006. cap. 4, p. 77-102.
- 40 DE, G. C.; OLIVER, D. J.; PESIC, B. M. Effect of silver on the ferrous iron oxidizing ability of *Thiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 41, p. 211-229, 1996.
- 41 RECOVERY of metals from jarosite-containing materials. Disponível em: <<http://www.freepatentsonline.com/20040118248.html>> Acesso em: 03 mar. 2007.
- 42 CARRANZA, F.; IGLESIAS, N.; MAZUELOS, A.; PALENCIA, I.; ROMERO, R. Treatment of copper concentrates containing chalcopyrite and non-ferrous sulphides by the BRISA process. **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 413-420, 2004.
- 43 DENG, T. L.; LIAO, M. X.; WANG, M. H.; CHEN, Y. W.; BELZILE, N. Investigations of accelerating parameters for the biooxidation of low-grade refractory gold ores. **Minerals Engineering**, v. 13, p. 1543-1553, 2000.
- 44 SEIDEL, H.; ONDRUSCHKA, J.; MORGENSTERN, P.; WENNRICH, R.; HOFFMANN, P. Bioleaching of heavy metal-contaminated sediments by indigenous *Thiobacillus* spp: metal solubilization and sulfur oxidation in the presence of surfactants. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 54, p. 854–857, 2000.
- 45 JOHNSON, R. E. Jr.; DETTRE, R. H. Wetting of low-energy surfaces. In: BERG, J. C. (Ed.). **Wettability**. New York: Marcel Decker, 1993. v. 49, cap. 1, p. 2-73.

46 CHAKRAVARTI, A. K.; CHOWDHURY, S. B.; MUKHERJEE, D. C. Liquid membrane multiple emulsion process of separation of copper(II) from waste waters. **Colloids and Surfaces A**, v. 166, p. 7-25, 2000.

47 VALENZUELA, F.; FONSECA, C.; BASUALTO, C.; CORREA, O.; TAPIA, C.; SAPAG, J. Removal of copper ions from a waste mine water by a liquid emulsion membrane method. **Minerals Engineering**, v. 18, p. 33-40, 2005.

48 SENGUPTA, B.; SENGUPTA, R.; SUBRAHMANYAM, N. Process intensification of copper extraction using emulsion liquid membranes: experimental search for optimal conditions. **Hydrometallurgy**, v. 84, p. 43-53, 2006.

49 ZOUBOULIS, A. I.; MATIS, K. A.; LAZARIDIS, N. K.; GOLYSHIN, P. N. The use of biosurfactants in flotation: application for the removal of metal ions. **Minerals Engineering**, v. 16, p. 1231-1236, 2003.

50 GARCIA, O. Jr. 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.

51 TUOVINEN, O. H.; KELLY, D. P. Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. Use of membrane filters and ferrous iron agar to determine viable numbers and comparison $^{14}\text{CO}_2$ fixation and iron oxidation as measures of growth. **Archives of Microbiology**, v. 88, p. 285-298, 1973.

52 OHLWEILER, O. A. Processo para determinação de ferro em um minério. In: _____. **Química analítica quantitativa**. 4. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1974. p. 542.

53 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.

54 PAIPA, C.; MATEO, M.; GODOY, I.; POBLETE, E.; TORAL, M. I.; VARGAS, T. Comparative study of alternative methods for the simultaneous determination of Fe^{3+} and Fe^{2+} in leaching solutions and acid mine drainages. **Minerals Engineering**, v. 18, p. 1116-1119, 2005.

55 VOGUEL, A. Determinação de cobre em um minério. In: _____. **Análise inorgânica quantitativa**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1981. p. 282.

56 GÓMEZ, C.; BLÁZQUES, M. L.; BALLESTER, A. Influence of various factors in the bioleaching of a bulk concentrate with mesophilic microorganisms in the presence of Ag(I). **Hydrometallurgy**, v. 35, p. 271-287, 1997.

57 BLÁZQUES, M. L.; ÁLVAREZ, A.; BALLESTER, A.; GONZALES, F.; MUÑOZ, J. A. Bioleaching behavior of chalcopyrite in the presence of silver at 35° and 68°C. In: AMILS, A.; BALLESTER, A. **Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21st century, Proceedings of the International Biohydrometallurgy Symposium IBS-99, Part A**. Amsterdam: Elsevier, 1999. cap. 1, p. 137-147.

58 BEVILAQUA, D.; LEITE, A. L. L. C.; GARCIA, O. Jr.; TUOVINEN, O. H. Oxidation of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 587-592, 2002.

59 SHIERS, D. W.; BLINGHT, 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.

60 MONTEIRO, V. F. **Dissolução da calcocita (Cu₂S) e da covelita (CuS₂) por oxidação pelo *Thiobacillus ferrooxidans***. 1998. 82 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1998.

ANEXO

Tabela1 - Principais fases sólidas detectadas por difração de raios x no experimento de biolixiviação do minério de cobre.

mineral	fórmula	Distâncias interplanares “d” ($\lambda = 1,54056 \text{ nm}$)		
		1º pico mais intenso	2º pico mais intenso	3º pico mais intenso
quartzo	SiO_2	3,34	4,25	2,28
jarosita	$\text{XFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$	3,07	3,11	5,08
marialita(syn)	$\text{Na}_4\text{Al}_3\text{Si}_9\text{O}_{24}\text{Cl}$	3,46	3,05	3,90
wadalita	$[\text{Ca}_6(\text{Al},\text{Fe},\text{Mg})_5\text{Si}_2\text{O}_{16}\text{Cl}_3]$	2,68	3,00	2,45
hastingsita	$[(\text{K},\text{Na})\text{Ca}_2(\text{Fe},\text{Mg})_5(\text{Si},\text{Al})_8\text{O}_{22}\text{Cl}_2]$	8,41	3,18	2,59
anortita	$(\text{Ca},\text{Na})(\text{Si},\text{Al})_4\text{O}_8$	3,18	3,90	2,12