

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA DE**  
**ARARAQUARA**

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E QUÍMICA  
ORGÂNICA

**BIOPROCESSOS APLICADOS À**  
**MINERAÇÃO E AO MEIO AMBIENTE**

DENISE BEVILAQUA

ARARAQUARA – SP  
2020

# **BIOPROCESSOS APLICADOS À MINERAÇÃO E AO MEIO AMBIENTE**

Texto apresentado ao Instituto de Química de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – para o concurso de Livre-docência, junto ao Departamento de Bioquímica e Química Orgânica

DENISE BEVILAQUA

## **AGRADECIMENTOS**

*São muitas as pessoas e várias instituições que fizeram parte da minha história. Cada um destes encontros forjou em mim a pessoa e a profissional que me tornei. Minha profunda gratidão a todos que cruzaram o meu caminho, deixando um pouco de si e levando um pouco de mim.*

*Ao Instituto de Química de Araraquara, por mais de 30 anos de histórias.*

*Às agências financiadoras FAPESP, CAPES, CNPq.*

*Ao meu orientador desde sempre Assis Vicente Benedetti. Não poderia ter tido melhor exemplo de professor, orientador e profissional. E hoje tenho o melhor companheiro de trabalho e amigo.*

*À minha filha Rafaela. Você sim é a melhor e mais bem-sucedida realização da minha vida!*

*Aos nobres membros da banca do concurso pela valiosa presença e contribuição.*

*A todos os alunos do Grupo de Bioprocessos aplicados à mineração e ao meio ambiente, este trabalho também é fruto desta convivência e aprendizado.*

*Aos funcionários e docentes do Instituto de Química pela cooperação, disponibilidade e pela cordialidade nos serviços prestados sempre que solicitados.*

*Aos meus pais e minha família sempre tão presente e carinhosa.*

*Aos amigos e companheiros de jornada, o suporte, o apoio e o companheirismo de vocês tornam o caminho mais leve.*

*Dedico*

*A você Oswaldo,*

*Você confiou em mim, me ensinou pelo exemplo diário.*

*Sua simplicidade, generosidade e bom humor me inspiram.*

*Conviver com você foi sem dúvida um dos maiores presentes que ganhei da vida*

*Lembrar do seu olhar carinhoso acalma a alma e me encoraja a seguir em frente*

## SUMÁRIO

<b>I.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....</b>	<b>06</b>
<b>II.</b>	<b>BIOPROCESSOS APLICADOS À MINERAÇÃO.....</b>	<b>08</b>
<b>II.1.</b>	<b>O PROCESSO .....</b>	<b>09</b>
<b>II.2</b>	<b>MICRO-ORGANISMOS DO PROCESSO.....</b>	<b>12</b>
<b>II.3</b>	<b>CALCOPIRITA.....</b>	<b>19</b>
<b>II.4</b>	<b>ELETROQUÍMICA DA CALCOPIRITA.....</b>	<b>22</b>
<b>III.</b>	<b>BIOPROCESSOS APLICADOS AO MEIO AMBIENTE....</b>	<b>29</b>
<b>III.1</b>	<b>DESCONTAMINAÇÃO DE GASES INDUSTRIAIS .....</b>	<b>29</b>
<b>III.2</b>	<b>DESCONTAMINAÇÃO DE REJEITOS INDUSTRIAIS.....</b>	<b>35</b>
<b>III.2.1</b>	<b>Solubilização de terras raras a partir de rocha fosfática utilizando micro-organismos .....</b>	<b>35</b>
<b>III.2.2</b>	<b>Biolixiviação heterotrófica .....</b>	<b>37</b>
<b>III.2.2.1</b>	<b>Processo de biorrecuperação de alumínio a partir de bauxita .....</b>	<b>38</b>
<b>III.2.2.2</b>	<b>Recuperação de cobre por biomassa de fungo <i>Aspergillus nidulans</i> na forma livre e imobilizada em membrana de celulose .....</b>	<b>39</b>
<b>III.2.2.3</b>	<b>Recuperação de metais a partir de drenagem ácida de mina (DAM) .....</b>	<b>41</b>
<b>IV.</b>	<b>EVOLUÇÃO DOS TRABALHOS CIENTIFICOS MAIS RELEVANTES DO GRUPO DE PESQUISA “BIOPROCESSOS APLICADOS À MINERAÇÃO E AO MEIO AMBIENTE” .....</b>	<b>43</b>
<b>IV.1</b>	<b>Bioprocessos aplicados à mineração .....</b>	<b>47</b>
<b>IV.2</b>	<b>Bioprocessos aplicados ao meio ambiente .....</b>	<b>54</b>
<b>V.</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>58</b>

## I. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A vida hoje tal como é pensada e vivida não pode ser sequer imaginada sem a mineração. Temos absoluta dependência dos bens minerais nas mais diversas necessidades pessoais e materiais. E se não podemos viver sem ela, o que temos que fazer para que o impacto desta atividade mineradora no meio ambiente seja menor?

Por si só, o impacto ambiental que qualquer atividade mineradora causa é enorme. Quando se leva em consideração outros fatores como as toneladas de rejeitos que são geradas todos os dias e que têm que ser armazenados em grandes áreas de contenção, a elevada emissão de material particulado, as imensas áreas exploradas e eventualmente devastadas, e o risco ambiental da exploração próximo a centros urbanos, é natural que a sociedade civil tenha restrições quanto a esta atividade. Mas é importante também que esta mesma sociedade assuma a sua parcela de responsabilidade no impacto ambiental desta e de tantas outras atividades industriais que afetam negativamente o meio ambiente. Se estas atividades existem, é porque existe uma demanda elevadíssima por esses bens minerais e industriais.

A mineração não é uma atividade sustentável, uma vez que os recursos são finitos. O consumo de minerais aumenta a cada ano no mundo, e só em 2017, 17 bilhões de toneladas foram consumidas, sendo, portanto, uma média de consumo de 2,2 toneladas por pessoa. Nos Estados Unidos o consumo por pessoa é de 18 toneladas por ano. A produção de rejeitos provenientes destas atividades mineradoras cresce na mesma proporção.

Ao mesmo tempo que o teor dos metais nas ocorrências minerais decresce a cada ano. Algumas empresas produtoras de cobre, como por exemplo a Highland Valley Copper, a maior mina de cobre do Canadá, opera atualmente com *cutoff* de 0,11%, com teor médio de 0,32%. Em pouco tempo, e não muito distante, se considerarmos os resíduos eletrônicos, os rejeitos serão a maior fonte de cobre no mundo.

A reciclagem de metais ainda é muito pouco relevante e nem tudo pode ou está disponível para ser reciclado, o que reforça a necessidade inequívoca de se extrair metais da natureza.

As empresas, especialmente as mineradoras, estão frente a vários desafios atualmente. A busca por processos mais eficientes, com maior produção, menor consumo de energia, menor impacto ambiental e menor geração de resíduos deve estar no foco das empresas, sem esquecer do compromisso social que as empresas têm que estabelecer com as comunidades próximas à operação.

Atualmente existe uma demanda para a implantação de processos biotecnológicos visando a reutilização ou a descontaminação de rejeitos industriais.

O nosso grupo pesquisa procura, por meio de estudos com microrganismos, bactérias, fungos ou arqueias, conhecer as bases químicas e bioquímicas destes processos, visando o desenvolvimento de novas tecnologias de recuperação de metais com menor impacto ambiental ou de descontaminação de resíduos industriais.

Mineração e meio ambiente são palavras recorrentes no noticiário brasileiro ultimamente, infelizmente não no bom sentido. O nosso grupo de pesquisa, localizado no Instituto de Química da UNESP de Araraquara, vem trabalhando neste tema desde minha contratação, dando honrosamente continuidade à linha de pesquisa implementada pelo Prof. Dr. Oswaldo Garcia Jr, "Processos em biohidrometalurgia".

Nossos trabalhos têm diferentes enfoques, biolixiviação de sulfetos minerais, descontaminação de gases industriais e remoção de metais de resíduos industriais. A maioria deles foca em estudos de minerais, sobretudo minerais de cobre, especificamente calcopirita, que é a maior fonte de cobre do mundo. Estes estudos abrangem aspectos físico-químicos e fisiológicos dos microrganismos envolvidos na dissolução destes minerais. Os estudos eletroquímicos dos minerais constituem importante parte deste trabalho, e nossa bem-sucedida parceria com o GEMAT (Grupo de Eletroquímica e Materiais) coordenado pelo professor Assis Vicente Benedetti, nos permitiu avançar em conhecimento e qualidade dos trabalhos com o

passar dos anos. Dois projetos importantes foram apoiados pela FAPESP e pela VALE com esta temática.

Diante do exposto, este texto traz primeiramente os aspectos básicos da biomineração e as diferentes aplicações dos bioprocessos aplicados à mineração. Os aspectos aplicados ao meio ambiente serão abordados na sequência.

Uma análise crítica, buscando evidenciar a originalidade da contribuição da linha de pesquisa e os avanços obtidos até o presente momento nos estudos e os conhecimentos adquiridos nas diferentes aplicações dos bioprocessos aplicados à mineração e ao meio-ambiente, será apresentada revisitando parte das publicações de nosso grupo.

## **II. BIOPROCESSOS APLICADOS À MINERAÇÃO**

Nosso grupo estuda algumas possibilidades de recuperação de metais de interesse econômico a partir de minérios sulfetados, utilizando microrganismos, visando uma recuperação com menor impacto ambiental. As aplicações industriais para tanto podem ser divididas em dois processos: biolixiviação e bio-oxidação. Um termo recente e geral que engloba ambas as técnicas é “biomineração”.

Biomineração é um termo genérico usado para descrever tecnologias que utilizam sistemas biológicos, em sua grande maioria microrganismos procarióticos, para facilitar a extração e recuperação de metais de minérios, rejeitos minerais ou mais recentemente rejeitos eletrônicos, conhecidos como *e-waste* (JOHNSON, 2014).

Biolixiviação ou lixiviação bacteriana pode ser definida como um processo industrialmente explorável que envolve a mobilização de metais a partir de minérios com a mediação de micro-organismos. A bio-oxidação é um processo de pré-tratamento mineral em que os micro-organismos solubilizam minerais. Exemplos são pirita ( $\text{FeS}_2$ ) e arsenopirita ( $\text{FeAsS}_2$ ), que ocluem metais valiosos como ouro e prata, tornando-os acessíveis aos processos de extração e elevando enormemente a recuperação destes metais nas etapas subsequentes do processo (BEVILAQUA, 2019).

Como estimativa tem-se que 15% do cobre, 5% do ouro e pequenas quantidades de outros metais, tais como níquel e zinco, são produzidos mundialmente por biomineração (BRIERLEY; BRIERLEY, 2013). Neste contexto, não se trata mais de uma alternativa promissora, mas uma alternativa bem-sucedida para tratamento mineral. O processamento de minérios de baixo teor ou de alta complexidade (minérios poli-metais polimetálicos), característica cada vez mais comum na realidade das empresas mineradoras, comprovou ser economicamente viável.

Comentamos anteriormente o progressivo esgotamento das reservas minerais e lembramos que num passado não muito distante, um minério de cobre para ser rentável tinha que apresentar teor de aproximadamente 5%. A maior mina de cobre do Canadá opera atualmente com *cutoff* de 0,11%, com teor médio de 0,32%. A eficiência do processo tem que ser suficiente para que a operação seja rentável. Os aumentos dos custos energéticos e da consciência ambiental em torno de uma mineração sustentável têm contribuído significativamente para o aumento do interesse nos processos biohidrometalúrgicos no mundo e mais recentemente no Brasil.

## **II.1. O PROCESSO**

Dentre os processos de extração de metais têm-se principalmente a pirometalurgia e a hidrometalurgia. Os processos pirometalúrgicos são baseados no uso de altas temperaturas para obtenção do metal livre. Este processo demanda alto gasto energético, gerando custos adicionais expressivos ao produto, além do potencial contaminante dos compostos gerados nessa atividade como é o caso da formação de gases poluentes. Além disso, este processo é considerado economicamente viável apenas em situações em que o metal se apresenta em altas concentrações no minério, também chamado de minérios de alto teor, como é o caso dos minérios de alto teor de cobre. Cerca de 80% da produção mundial de cobre ocorre a partir de processos pirometalúrgicos.

Os processos hidrometalúrgicos, são considerados alternativos às técnicas pirometalúrgicas. Tais processos consistem na utilização de soluções ácidas, básicas

ou soluções oxidantes fortes para o tratamento dos minérios e a recuperação dos metais de interesse, sendo necessário um gasto energético muito inferior ao aplicado nas técnicas convencionais. Quando as soluções oxidantes são produzidas pela ação de microrganismos, chamamos este ramo da hidrometalurgia de biohidrometalurgia, ou mais recentemente de biomineração.

Recentemente, o interesse no desenvolvimento de métodos biohidrometalúrgicos para a extração de metais tem aumentado por apresentarem certas vantagens em relação às técnicas pirometalúrgicas tradicionais como: a redução das emissões de gases para a atmosfera, a simplicidade de operação, baixo custo e, principalmente, aplicabilidade em minérios de baixo teor ou em recursos minerais que não podem ser tratados por meio de técnicas de extração convencionais por se demonstrarem inviáveis do ponto de vista econômico ou ambiental.

Os processos envolvendo microrganismos têm que competir com alternativas para processamento mineral, como a pirometalurgia, processo tradicional e que representa a grande parte dos investimentos das companhias mineiras no mundo todo.

Uma comparação entre os diferentes processos para recuperação de metais foi proposta na literatura (PRIYA; HAIT, 2017) (Tabela 1).

A biohidrometalurgia reúne vários pontos que podemos destacar dentre os apresentados na tabela 1. Tem a menor emissão de gases tóxicos, a menor geração de materiais particulados, a maior compatibilidade com o meio ambiente, menor custo de investimento inicial, menor consumo de energia e menor perda de metal durante a recuperação. Como pontos fracos destacamos a menor taxa de recuperação de metal e o tempo de operação maior do que as outras opções de processo.

Destacamos ainda como vantagens da biohidrometalurgia em relação aos outros processos, a capacidade de processar grandes volumes de material, o fato de ser uma tecnologia que pode ser aplicada ao tratamento de materiais que normalmente seriam considerados rejeitos ou seriam passíveis de severas mu

**Tabela 1.** Comparação entre os diferentes processos para recuperação de metais (adaptado de PRIYA; HAIT, 2017).

Critérios/Parâmetros	Processos metalúrgicos		
	Pirometalurgia	Hidrometalurgia	Biohidrometalurgia
Impacto ambiental	Alto	Médio	Baixo
Emissão de gases tóxicos			
Geração de drenagem			
Geração de particulados			
Compatibilidade com meio ambiente			
Investimento			
Mão de obra e conhecimentos necessários			
Consumo de energia			
Tempo necessário			
Perda de metal durante recuperação			
Taxa de recuperação			
Potencial corrosivo			
Toxicidade			
Nível de pesquisa			

Como exemplos destacam-se os minérios de baixos teores ou de alta complexidade mineralógica, minérios contendo arsênio, lixo eletrônico, baterias usadas, rejeitos de processos industriais, tratamento de esgoto etc. Além disso a biohidrometalurgia é uma tecnologia relativamente simples em termos de condições de operação e equipamento, operando em condições ambientais (BEVILAQUA, 2019).

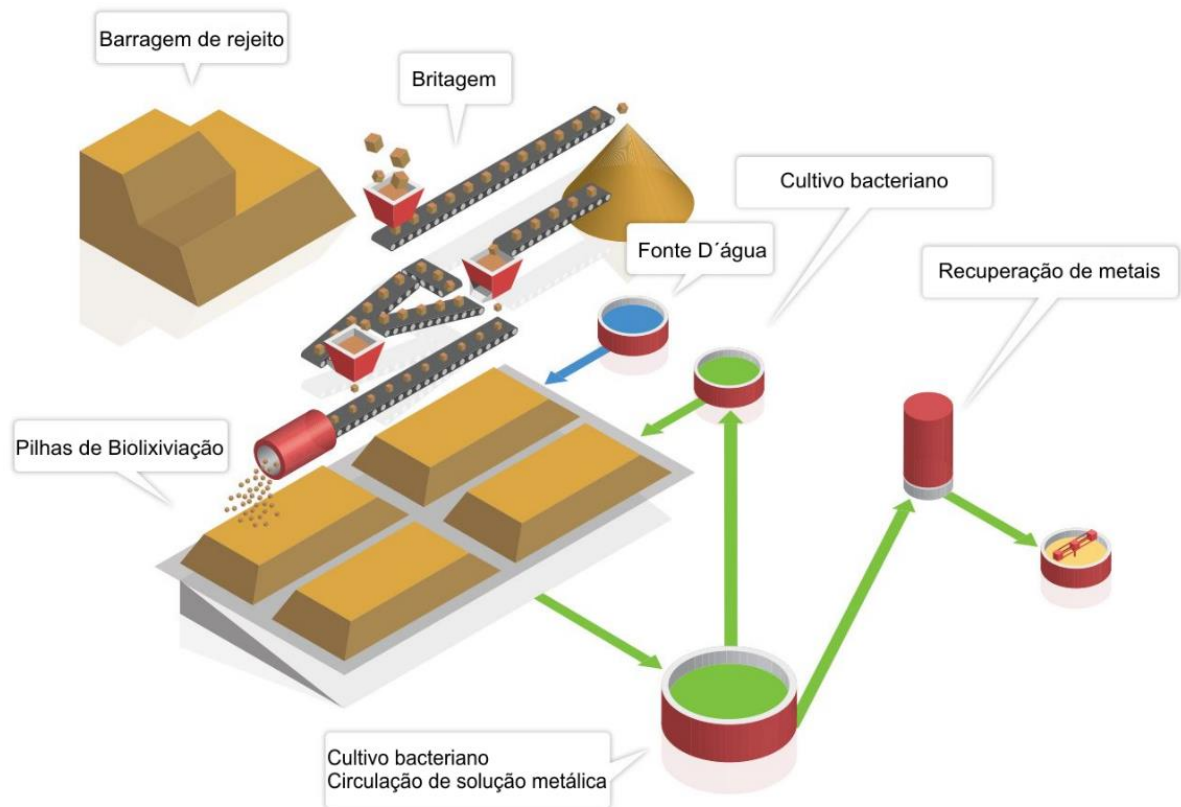
Simplificadamente o processo consiste na deposição de grandes quantidades de minério (milhares de toneladas) sobre uma base impermeabilizada, seguida de uma irrigação com uma solução de ácido sulfúrico (pH ao redor de 2,0) na superfície da pilha. Essa solução, coletada após a percolação pelo minério, é reciclada constantemente pela pilha, ocasionando uma intensificação da atividade bacteriana no substrato mineral sulfetado. Desta ação resulta uma elevação de acidez e do poder oxidante da solução, pela produção biológica de  $H_2SO_4$  e do íon  $Fe^{3+}$ , com a conseqüente solubilização do metal desejado. Após essa etapa, que se constitui a essência do processo de lixiviação bacteriana, o efluente que sai da pilha é chamado de PLS (*pregnant leach solution*) que contém o metal solubilizado. Este metal é extraído da solução por processos convencionais. Um esquema do processo pode ser visto na Figura 1. Dependendo das características do minério e das condições de operação do processo, variações deste esquema geral podem ocorrer, como por exemplo: a pilha pode ser inoculada inicialmente com micro-organismos específicos; ar pode ser injetado através de tubulações instaladas na base da pilha, de maneira a não haver limitações de oxigênio e dióxido de carbono para a atividade bacteriana e outras (BEVILAQUA, 2019).

## **II.2. MICRO-ORGANISMOS DO PROCESSO**

Os homens se beneficiam da presença e ação dos microrganismos para extração de metal bem antes de entendermos microbiologia ou do entendimento da biomineração. Há relatos dos anos 25 – 250 D.C. de notas em textos chineses descrevendo lixiviação de rochas com a formação de compostos de cobre em que este era recuperado por cementação com ferro. Nos anos 20 a oxidação de enxofre

por microrganismos do solo foi demonstrada e *Acidithiobacillus thiooxidans* (anteriormente *Thiobacillus*) foi isolado e descrito (WATLING, 2016).

**Figura 1** – Esquema geral de uma lixiviação bacteriana de uma pilha de minério (BEVILAQUA, 2019).



A primeira operação usando biolixiviação foi em uma mina de cobre em Utah, Estados Unidos (mina Bigham) e foi realizada pela empresa Kennecott nos anos 40 do século passado. Nessa operação os minérios utilizados eram *run of mine* (ROM), ou seja, tirados diretamente da mina, sem qualquer tipo de beneficiamento e continham um teor muito pequeno de cobre. Este material foi empilhado em grandes montes ("dumps") de 50 a 100 m de altura e irrigado com ácido sulfúrico diluído a fim de facilitar o desenvolvimento das bactérias naturalmente presentes no ecossistema (BEVILAQUA, 2019).

Somente na década seguinte o papel dos microrganismos na solubilização dos metais a partir das rochas foi reconhecido. *Acidithiobacillus ferrooxidans* foi isolado de águas ácidas de minas de carvão e seu papel na oxidação de íons ferrosos e compostos reduzidos de enxofre foi descrito (COLMER; HINKLE, 1947).

A descoberta e descrição do *At. ferrooxidans* promoveu um rápido aumento nos estudos microbiológicos relacionados à oxidação de sulfetos minerais. Esta é sem dúvida nenhuma a bactéria mais estudada entre as acidofílicas, com mais de 9000 artigos na Web of Science (WATLING, 2016). Nas últimas décadas muitos acidófilos têm sido isolados e descritos (MASAKI et al., 2018; SCHIPPERS, 2008)

Os micro-organismos que predominam nesse processo são bactérias e archaea extremamente acidofílicas (pH < 3) que são capazes de oxidar compostos inorgânicos de enxofre e/ou íons ferrosos.

Bactérias lixiviantes estão distribuídas entre os filios: Proteobacteria (*Acidithiobacillus*, *Acidiphilium*, *Acidiferrobacter*, *Ferrovum*); Nitrospirae (*Leptospirillum*); Firmicutes (*Alicyclobacillus*, *Sulfobacillus*); e Actinobacteria (*Ferrimicrobium*, *Acidimicrobium*, *Ferrithrix*). Archaea em sua grande maioria pertencem ao filo Sulfolobales, um grupo de termófilas extremas, oxidantes de ferro e enxofre incluindo os gêneros *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Metallosphaera* e *Sulfurisphaera*.

Uma grande diversidade quanto à assimilação de carbono é encontrada nestes micro-organismos. *Acidithiobacillus* spp. e *Leptospirillum* spp. crescem somente quimioautotroficamente. *Acidiphilium acidophilum* e *Acidimicrobium ferrooxidans* são capazes de crescerem autotroficamente com compostos reduzidos de enxofre e íons ferrosos, e heterotroficamente com glicose ou extrato de levedura e ainda, mixotroficamente com todos esses substratos.

Na prática, os micro-organismos acidofílicos quimiolitotróficos de interesse na biotecnologia mineral são categorizados em mesófilos, termófilos moderados e termófilos extremos de acordo com o intervalo de temperatura no qual o crescimento ótimo é observado (Tabela 2).

**Tabela 2** - Bactérias acidófilas e archaea de interesse na biotecnologia mineral (Adaptado de Akcil e Deveci, 2010)

Grupo	Cultura	Características
Mesófilos (20 - 40°C)	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> <i>Leptospirillum ferrooxidans</i> <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> <i>Ferroplasma acidiphilum</i>	autótrofo, oxidante de Fe/S autótrofo, oxidante de Fe autótrofo, oxidante de S autótrofo, oxidante de Fe (archaea)
Termófilos moderados (40 - 55°C)	<i>Sulfobacillus acidophilus</i> <i>S. termosulfidooxidans</i> <i>Acidithiobacillus caldus</i> <i>Acidimicrobium ferrooxidans</i>	autótrofo/mixotrófico, oxidante de Fe/S autótrofo/mixotrófico, oxidante de Fe/S autótrofo/mixotrófico, oxidante de S autótrofo/mixotrófico, oxidante de Fe
Termófilos extremos (archaea) (55 - 85°C)	<i>Sulfolobus</i> -like archaea <i>Sulfolobus metallicus</i> <i>Acidianus brierleyi</i>	autótrofo, oxidante de Fe/S  autótrofo/mixotrófico, oxidante de Fe/S

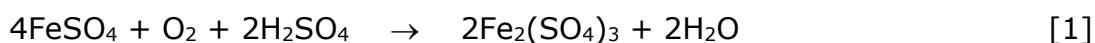
As bactérias do gênero *Acidithiobacillus* são obrigatoriamente acidófilas (pH < 4,0), bastonetes Gram-negativos, não esporulantes, com dimensões médias de 0,3 a 0,8 µm de diâmetro e 0,9 a 2 µm de comprimento. A temperatura ótima de crescimento destes micro-organismos varia entre 20 e 40 °C, dependendo da linhagem em particular e das condições de crescimento. CO<sub>2</sub> é fixado por meio do Ciclo de Calvin. Estes microrganismos são acidófilos estritos e o pH ótimo de crescimento situa-se em torno de 2,0, ocorrendo, porém, crescimento numa faixa

de 1,5 a 4,5. O gênero compreende as seguintes espécies: *At. ferrooxidans*, *At. thiooxidans*, *At. caldus*, *At. albertensis* (Akciil e Deveci, 2010).

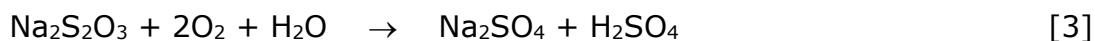
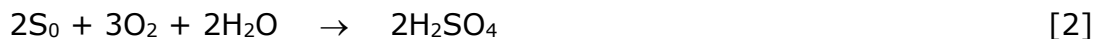
O *At. ferrooxidans* é dotado de uma extraordinária e ampla capacidade metabólica. É um autótrofo obrigatório e obtém sua energia da oxidação de íons ferrosos, vários compostos de enxofre, entre eles, enxofre elementar, tiosulfato, tritionatos e sulfetos, além de hidrogênio molecular, ácido fórmico e outros metais (VERA; SCHIPPERS; SAND, 2013). O organismo pode crescer anaerobicamente com compostos de enxofre ou hidrogênio como doadores de elétrons e íons férricos como acceptor final destes elétrons. A utilização de aceptores finais de elétrons diferentes do oxigênio é consequência da presença de vários componentes transportadores de elétrons. Exemplificando, pelo menos 11 diferentes citocromos do tipo c foram identificados no genoma do *At. ferrooxidans*.

O nosso grupo de pesquisa possui um banco de linhagens de *At. ferrooxidans* e *At. thiooxidans*, cujas linhagens foram em sua maioria isoladas pelo Prof. Dr. Oswaldo Garcia Junior (GARCIA Jr, 1991). A maioria delas foi caracterizada molecularmente (PAULINO et al., 2001).

A estequiometria da reação de oxidação do íon  $Fe^{2+}$  por *At. ferrooxidans* pode ser vista na equação [1].



Além do íon  $Fe^{2+}$ , a espécie oxida ainda formas reduzidas de enxofre para a produção de energia (Eqs. 2 e 3):



Os mecanismos da biolixiviação foram objeto de muita discussão e controvérsia nos anos 90. Naquela época a discussão girava em torno dos defensores dos mecanismos “direto” e “indireto”. O mecanismo “direto” se referia à transferência direta do elétron do sulfeto mineral para a célula aderida na superfície do mineral. O mecanismo “indireto” atribuía aos íons férricos a responsabilidade pela dissolução do mineral, que eram gerados pela atividade bacteriana (reação 1 ou reação 2). Uma vez que a via direta de transferência de elétrons, seja por enzimas, nanoestruturas etc. não havia sido demonstrada, os defensores do mecanismo “indireto” negavam a existência do mecanismo “direto”.

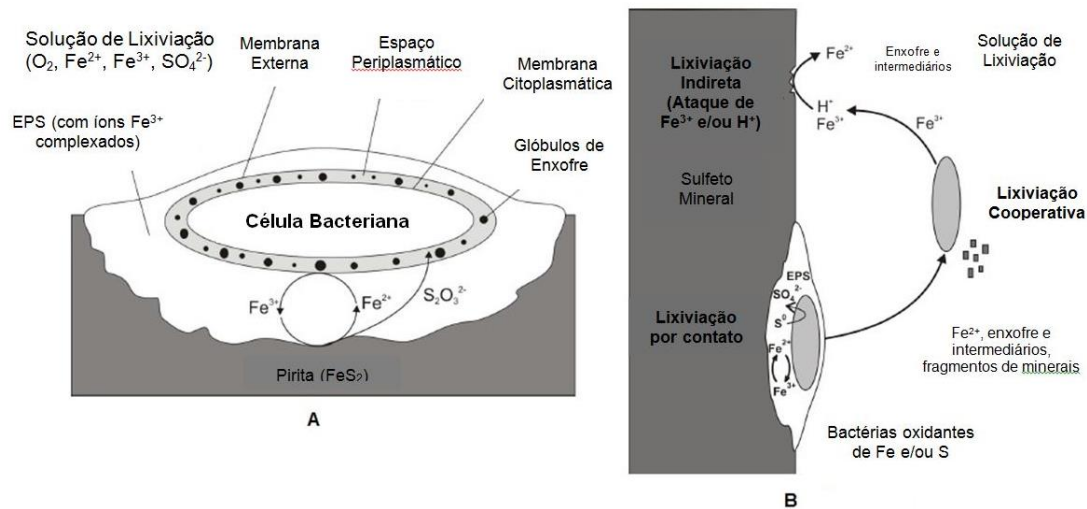
Depois de muita controvérsia na literatura no final dos anos 90 e início dos anos 2000 (SAND et al., 2001; BOON, 2001), hoje é bem aceito que os micro-organismos estão envolvidos na biolixiviação em três mecanismos: contato, indireto e cooperativo (LI et al., 2013). O mecanismo indireto ocorre pela ação das células planctônicas que tornam o  $Fe^{3+}$  disponível em solução para a oxidação dos minerais.

A adesão das células bacterianas é essencial para os mecanismos de contato e cooperativo. A células aderida media a oxidação do ferro e enxofre (Figura 2A). O mecanismo cooperativo é estabelecido entre as células planctônicas e aderidas (Figura 2B).

A adesão das bactérias à superfície do mineral é essencial para os mecanismos de contato e cooperativo. Este contato é fortalecido pela secreção de substâncias exopoliméricas (EPS) pelas bactérias. O EPS é constituído principalmente de proteínas, lipídeos, açúcares e íons  $Fe^{3+}$ . A presença do EPS aumenta a área de ação das bactérias. Atualmente é proposto que o mecanismo de contato aconteça pela oxidação enzimática dos íons ferrosos dentro da matriz polimérica (Figura 2A). Os íons  $Fe^{3+}$  gerados dentro do EPS retirariam elétrons da superfície do mineral, os quais reduziriam o oxigênio molecular através da cadeia transportadora de elétrons presente na membrana da célula bacteriana (LI et al., 2013). O mecanismo cooperativo (Figura 2B) é estabelecido entre as células aderidas ao mineral e as células planctônicas, em que as células aderidas fornecem

íons  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{S}^0$  (ou outros compostos contendo enxofre) como fonte de energia para as células planctônicas.

**Figura 2.** (A) Adesão da bacteriana sobre a superfície do mineral; (B) Esquema do mecanismo cooperativo (Adaptado de (LI et al., 2013)).



Mais recentemente, estudos proteômicos e transcriptômicos vêm sendo conduzidos visando esclarecer e propor mecanismos para o crescimento anaeróbico do *At. ferrooxidans* ((JOHNSON, 2012; JOHNSON; GRAIL; HALLBERG, 2013). O conceito de biolixiviação redutiva ainda é muito novo e no futuro poderá ser aplicado para tratamento de minérios oxidados ou ainda visando a aplicação no tratamento da drenagem ácida de minas.

No final do século 20, a maior ênfase das pesquisas estava focada em duas áreas, em descobrir microrganismos com "superior" capacidade de extrair metais e entender como esses seres se adaptavam e resistiam às condições extremas e muito variáveis do meio ambiente em que atuavam. O número de novas espécies aumentou, particularmente, as espécies termofílicas e halofílicas que são capazes de oxidarem íons ferrosos e enxofre. Atualmente, mais de 50 genomas de

microrganismos acidófilos foram publicados e analisados, levando a um grande avanço no conhecimento de suas capacidades fisiológicas (WATLING, 2016).

### **II.3. CALCOPIRITA**

Se por um lado o conhecimento microbiológico avançou enormemente nos últimos anos, a biomineração de minérios primários de cobre, especialmente calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ), não apresentou o mesmo avanço.

A calcopirita é a principal fonte de cobre no mundo, cerca de 70%, mas é reconhecidamente o sulfeto mineral mais recalcitrante aos tratamentos químicos e biológicos de extração mineral. Existem milhões de toneladas de minério de baixo teor e de rejeitos minerais contendo minério calcopirítico esperando o desenvolvimento de um processo de biolixiviação economicamente eficiente para o tratamento de calcopirita. Ainda a principal rota de processamento de mineral calcopirítico é a concentração por flotação e recuperação por pirometalurgia.

Na Tabela 3 estão citados processos para a lixiviação da calcopirita, bem como suas vantagens e desvantagens.

Nas décadas de 1960 e 1970 vários estudos foram conduzidos de maneira a desenvolver uma tecnologia em larga escala para a biolixiviação. Um deles foi desenvolvido na Austrália de 1964 a 1968. Primeiramente foram realizados estudos em escala de bancada, com minério de 0,5 polegadas e prosseguiu até a montagem de pilhas de 360.000 toneladas, uma para óxidos e outra para sulfetos. Na década de 1970 a primeira importante tentativa de avaliar a tecnologia da biolixiviação de cobre em pilhas em países em desenvolvimento foi a planta piloto implementada em Toromocho, no Peru. Foram montadas e operadas por vários meses pilhas de 10.000 a 36.000 toneladas de minério contendo 0,4% de cobre (ACEVEDO, 2002).

A aplicação comercial da biohidrometalurgia em larga escala começou na década de 1980 para operações em pilhas de biolixiviação de minerais de cobre secundários e oxidados. Algumas destas operações comerciais estão mostradas na Tabela 4.

**Tabela 3.** Descrição de processos selecionados usados para lixiviação da calcopirita

Processo	Temperatura (°C)	Pressão (atm)	Condições de operação	Vantagens/Desvantagens	Referência
Oxidação total sob pressão	210-220	20	Oxida todos os sulfetos minerais a sulfato e ácido sulfúrico em alta temperatura e pressão. Conveniente sempre que o ácido possa ser usado como matéria prima	Requer alto capital e alto custo operacional	(DREISINGER, 2006; WANG, 2005)
CESL	140-150	10-12	Lixiviação sob pressão catalisada por cloreto produzindo precipitados básicos de sulfato de cobre	Requer alto capital e alto custo operacional	(DREISINGER, 2006; WANG, 2005)
Dynatec	150	10-12	Carvão é usado como aditivo	Requer alto capital e alto custo operacional	(DREISINGER, 2006; WANG, 2005)
Hydrocopper™	85-95	1	Método de lixiviação com cloreto, no qual o óxido de Cu(I) é precipitado como óxido cuproso e o lixiviante é regenerado	Baixo consumo de energia e custo operacional menor que a lixiviação sob pressão	(HYVÄRINEN; HÄMÄLÄINEN, 2005)
BIOCOP™	65-80	1	Bioliexiviação com alta temperatura, organismos termofílicos e controle de pH com calcário	Capaz de tratar concentrados com elementos tóxicos, tais como arsênio	(BATTY; RORKE, 2006; DREISINGER, 2006)
Bactech/Mintek	25-55	1	Bactérias mesofílicas ou moderadamente termofílicas, moagem muito fina	Lixiviação em reatores com concentrados	(DREISINGER, 2006; WANG, 2005)
BRISA	>70*	1	Executado em dois diferentes estágios, oxidação biológica do Fe(II) e oxidação do mineral pelo Fe(III) e catalisadores	O uso da prata como catalisador é caro e requer recuperação do metal do efluente	(ROMERO <i>et al.</i> , 2003; WANG, 2005)
GEOCOAT™	70*	1	Bioliexiviação em pilha onde um mineral inerte ou de baixo teor é recoberto com concentrado de calcopirita moído. Prata ou cloreto pode ser usado como catalisador	Tecnologia simples e de menor custo de investimento e de operação	(JOHANSSON <i>et al.</i> , 1999; PETERSEN; DIXON, 2002; PRADHAN <i>et al.</i> , 2008)

**Tabela 4** - Operações comerciais de pilhas de biolixiviação de cobre (BRIERLEY; BRIERLEY, 2013).

Planta e localização / proprietário	Produção de catodo de cobre (t/ano)	Status operacional
Lo Aguirre, Chile/Sociedad Minera Pudahuel	15.000	1980–1996
Mount Gordon (formerly Gunpowder), Australia/Aditya Birla	33,000	1991–2008
Lince II, Chile/Antofagasta plc	27,000	1991–2009
Mt. Leyshon, Australia/(anteriormente Normandy Poseidon)	750	1992–1995
Cerro Colorado, Chile/BHP-Billiton	115,000	1993–presente
Girilambone, Australia/Straits Resources and Nord Pacific	14,000	1993–2003
Ivan-Zar, Chile/Compañía Minera Milpro	10,000–12,000	1994–presente
Punta del Cobre, Chile/Sociedad Punta del Cobre	7,000–8,000	1994–presente
Quebrada Blanca, Chile/Teck Resources	75,000	1994 presente
Andacollo Cobre, Chile/Teck Resources	21,000	1996–presente
Dos Amigos, Chile/CEMIN	10,000	1996–presente
Skouriotissa Copper, Cyprus/Hellenic Copper	8,000	1996–presente
Cerro Verde, Peru/Freeport McMoran	54,200	1997–presente
Zaldivar, Chile/Barrick Gold	150,000	1998–presente
Lomas Bayas, Chile/Xstrata	60,000	1998–presente
Monywa, Myanmar/Myanmar No. 1 Mining Enterprise	40,000	1998–presente
Nifty Copper, Australia/Aditya Birla	16,000	1998–presente (óxidos/sulfetos)
Equatorial Nevada/Tonopah, Inc. Equatorial Nevada/Tonopah, Inc.	25,000 (projected)	2000–2001
Morenci, Arizona/Freeport McMoran	380,000	2001–presente
Zijinshan Copper, China/Zijin Mining Group	20,000	2005–presente
Lisbon Valley Mining Company, Utah	10,000	2006–presente
Jinchuan Copper, China/Zijin Mining Group	10,000	2006–2009
Whim Creek and Mons Cupri, Australia/Straite Resources	17,000	2006–presente
Spence, Chile/BHP Billiton	200,000	2007–presente
Tres Valles, Chile/Vale SA	18,500	2010–presente

Algumas tentativas de operação de pilha de biooxidação com mineral calcopirítico foram realizadas com êxito. Os impedimentos para a aceitação e efetiva implementação de uma rota biolixivante para tratamento de minério calcopirítico não estão necessariamente restritos aos aspectos biológicos. Um processo biológico precisa apresentar uma vantagem superior a 20% sobre os processos convencionais para interessar a indústria mineral (WATLING, 2006).

A relutância em adotar essa nova tecnologia para a calcopirita não se deve a um único fator. A cada um dos seguintes fatores podemos imputar parcialmente essa responsabilidade: um reflexo da relativa refratariedade da calcopirita; competição econômica com as novas tecnologias pirometalúrgicas; risco associado ao uso de uma nova tecnologia de processamento mineral, levando em consideração o perfil extremamente conservador do empresário mineral (BEVILAQUA, 2019).

Existem muitos estudos de otimização dos parâmetros de processo, tais como injeção de oxigênio nas pilhas de lixiviação, adição extra de ácido e/ou oxidantes e catalisadores químicos, diminuição da granulometria do minério, entre outros, mas poucos resultados práticos têm sido obtidos.

O estudo da calcopirita abrangendo estes parâmetros ainda não tornou possível a aplicação em escala comercial de um processo que possa recuperar cobre a partir de minérios calcopiríticos de baixos teores. As pesquisas nesta área visam, portanto, entender e aperfeiçoar o processo no intuito de alcançar um melhor aproveitamento na extração do metal de interesse.

#### **II.4. ELETROQUÍMICA DA CALCOPIRITA**

Em revisões recentes (DEBERNARDI; CARLESI, 2013; LI et al., 2013) a calcopirita é descrita como um bom semicondutor com resistividade variando entre  $10^{-4}$  a  $10^{-1}$  S  $\text{cm}^{-1}$ , com valor médio de  $10^{-3}$  S  $\text{cm}^{-1}$ . O estado de oxidação dos elementos na estrutura da calcopirita é mais bem interpretado como  $\text{Cu}^+\text{Fe}^{3+}(\text{S}^{-2})_2$  ao invés de  $\text{Cu}^{2+}\text{Fe}^{2+}(\text{S}^{-2})_2$ . De fato, a dissolução da calcopirita é um processo muito complexo, uma vez que compostos intermediários como calcocita ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ), covelita ( $\text{Cu}_2\text{S}_2$  ou  $\text{CuS}$ ),

bornita ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ), enxofre ( $\text{S}^0$ ), jarositas ( $[\text{XFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6]$  onde ( $\text{X}^+$ ) pode ser:  $\text{K}^+$  (jarosita),  $\text{NH}_4^+$  (amoniojarosita),  $\text{Na}^+$  (natrojarosita) e  $\text{H}_3\text{O}^+$  (hidronium jarosita)), disulfetos, polisulfetos e ácido sulfúrico foram detectados durante a lixiviação ou biolixiviação deste mineral (BEVILAQUA et al., 2004; BEVILAQUA et al., 2009; GU et al., 2013; HE et al., 2009; HIROYOSHI et al., 2002; KINNUNEN et al., 2006; KLAUBER, 2008; SANDSTRÖM; SHCHUKAREV; PAUL, 2005; SASAKI et al., 2009; XIA et al., 2010; XIAN et al., 2012).

A calcopirita é reconhecidamente um dos minerais de cobre mais refratários à ação química e bacteriana, devido à formação de uma camada, erroneamente denominada passiva, sobre sua superfície. Em geral estes filmes têm espessura de umas poucas camadas atômicas, formam-se espontaneamente ou são produzidos por determinados tratamentos. Além desta “passivação” não ser bem entendida, também não é completamente aceita, uma vez que em alguns casos o processo de lixiviação não é bloqueado ou interrompido (HYVÄRINEN; HÄMÄLÄINEN, 2005; JOHANSSON et al., 1999; KLAUBER, 2008,).

Embora as técnicas eletroquímicas sejam bastante eficientes para a detecção e o estudo das camadas de passivação, os resultados obtidos precisam ser interpretados de forma bastante criteriosa e muito poucos trabalhos podem ser encontrados na literatura sobre essa abordagem.

Os vários trabalhos na literatura investigam principalmente os seguintes pontos: efeito da catálise da prata, efeito do par galvânico, interpretação e integração dos resultados mecanísticos/cinéticos eletroquímicos, como evitar/minimizar a formação da camada “passiva” ou a deposição/formação de produtos que dificultam à dissolução do mineral etc. A eficiência do processo é medida pela porcentagem de cobre que é solubilizada com o tempo.

Considerando as experiências anteriores em processos hidrometalúrgicos para melhoria das taxas de recuperação de metais foram estudadas estratégias que atuassem sobre o processo. Esta ação era no sentido de aumentar o ganho energético do sistema e o potencial de oxidação, evitar a formação de camada “passiva” pela remoção dos agentes apassivadores ou utilizando uma nova superfície e mudando os mecanismos

de dissolução com o auxílio de sistemas de catálise. Exemplos dos tratamentos utilizados são: energia de micro-ondas e indução por radiofrequência, sonicação, uso de ozônio, ativação mecânico-química, alto cisalhamento, ativação por moagem, cossolventes (usualmente solventes orgânicos para remoção de enxofre elementar), lixiviantes amoniacais, detergentes e surfactantes, efeito da prata catalítica, catálise galvânica.

Poucas dessas ideias podem ser aplicadas em uma situação de pilha de lixiviação com baixo custo operacional. Os melhores candidatos são os agentes catalíticos e os ativadores de superfície, ainda que se tenha que considerar o custo envolvido na adição desses componentes em pilhas de minérios de baixo teor.

Do ponto de vista de eliminar a “passivação” do mineral, tanto em processos abióticos como em pilhas de biolixiviação, é necessário identificar quais os possíveis agentes que possam estar envolvidos nesse processo para cada caso e escolher a melhor forma de ação remediadora de baixo custo para minimizar ou eliminar sua formação.

Os principais candidatos responsabilizados por retardar os processos de lixiviação são os sulfetos deficientes em metais, o enxofre elementar, os polissulfetos e as jarositas, sendo que aparentemente o enxofre elementar e as jarositas têm um papel mais relevante na diminuição da taxa de dissolução da calcopirita e não na passivação.

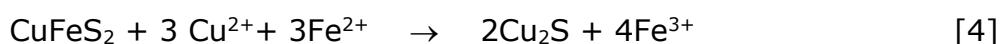
As investigações científicas da eletroquímica destes sistemas continuam desempenhando um papel primordial, principalmente devido ao caráter refratário da calcopirita que impossibilita o alcance de elevadas taxas de recuperação de cobre. Diversos motivos para a baixa recuperação desse metal têm sido discutidos na literatura como já mencionado acima. No entanto, vale destacar a presença de íons  $Fe^{3+}$  que eleva o potencial redox da solução lixiviante e pode provocar a precipitação de jarositas que dificultam a remoção do cobre, e a formação de enxofre elementar que atua como inibidor do processo de dissolução do mineral devido ao bloqueio parcial de sua superfície.

A presença de íons cloreto poderia modificar a camada de enxofre formada durante a oxidação da calcopirita e melhorar o processo de

recuperação de cobre a partir desse sulfeto mineral, conforme discutido por (LUNDSTRÖM; AROMAA; FORSÉN, 2009). Os autores monitoraram um ensaio de biolixiviação no qual foram utilizadas condições experimentais semelhantes às do processo HydroCopper® ([NaCl] = 280 g/L, [Cu<sup>2+</sup>] = 30 g/L and T= 90 °C) por medidas de EIS, SEM/EDXS e XRD. Eles puderam observar que as principais fases formadas durante a oxidação da calcopirita são enxofre elementar e goetita, independentemente do pH. A fase mais resistente é a de enxofre elementar e, apesar dos íons cloreto tornarem essa camada mais porosa, a difusão de solução lixiviante é bem mais rápida quando está presente a goetita. Os autores não comentaram se houve formação de jarosita.

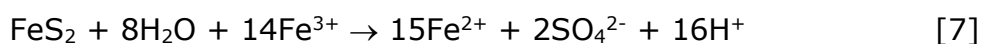
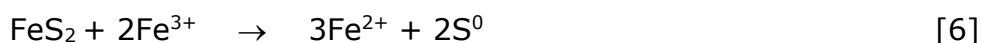
Como alternativa dentro desse contexto, o controle do potencial redox por meio do par Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> pode minimizar a formação de precipitados de jarosita e favorecer a recuperação do metal conforme descrito em estudos com soluções de diferentes concentrações de íons ferrosos, férricos e cúpricos (HIROYOSHI; KITAGAWA; TSUNEKAWA, 2008). Em medidas de polarização anódica os autores verificaram que a presença de determinadas concentrações de íons ferrosos e cúpricos em solução possibilita a manutenção de um potencial ótimo para recuperação do cobre oriundo do sulfeto mineral. Isso foi atribuído à provável formação de intermediários menos refratários que a calcopirita, principalmente calcocita (Cu<sub>2</sub>S).

Mais recentemente foi investigada a participação da calcocita nos processos de oxidação da calcopirita em trabalho utilizando estudos de voltametria cíclica (QIN et al., 2013). Esta técnica permitiu avaliar a influência do potencial redox e do pH na porcentagem de recuperação de cobre a partir desse sulfeto mineral. Os autores concluíram que a manutenção de uma proporção “ótima” de Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup> pode aumentar a taxa de extração por favorecer as reações:



Tais reações ocorrem em um intervalo de potencial restrito (400-430 mV vs. Ag|AgCl|KCl<sub>(sat)</sub>), baixo o suficiente para permitir a formação de calcocita e alto o bastante para permitir sua oxidação. A formação de calcocita mantém a oxidação indireta da calcopirita e concentrações de íons férricos insuficientes para precipitação de jarositas. Esse valor de potencial depende da origem do minério calcopirítico.

Diversas maneiras de controlar o potencial de oxirredução ótimo da calcopirita foram estudadas destacando-se a utilização de calcopirita com uma porcentagem maior de pirita (FeS<sub>2</sub>) (HIROYOSHI et al., 2008). Os autores verificaram que a presença de pirita em meio abiótico parece favorecer a manutenção de um potencial ótimo devido ao consumo dos íons férricos gerados em excesso durante o processo. A ação da pirita está representada pelas equações abaixo:



Ahmadi et al. (2011) mostrou a utilização da eletroquímica com a finalidade de controle do potencial redox num sistema de lixiviação de calcopirita. Os resultados obtidos mostraram que a manutenção de valores de potencial redox entre 400-430 mV/Ag|AgCl|KCl<sub>sat.</sub> favoreceram uma maior recuperação do cobre por evitar a formação de jarositas. Consequentemente houve aumento da concentração bacteriana na superfície e a eletrorredução da calcopirita a sulfetos minerais menos refratários como covelita e calcocita. Os dados assim obtidos foram utilizados por Ahmadi et al. (2012) na realização de uma modelagem cinética da eletrobiolixiviação da calcopirita considerando principalmente fatores como pH, razão Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>, presença de organismos oxidantes de ferro/enxofre, potencial redox e precipitação de jarositas. O modelo aproximou-se muito dos dados obtidos experimentalmente, possibilitando sua utilização para o planejamento e realização de ensaios em maior escala.

O potencial imposto ao meio lixiviante pode ainda exercer influência na composição da camada inibidora do processo de dissolução do cobre formada durante a oxidação da calcopirita. Foi demonstrado por medidas de micro-Raman e difração de raios X de baixo ângulo em *synchrotron* (S-SAXRD) que, de acordo com o intervalo de potenciais, a superfície da calcopirita pode ser recoberta por bornita ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ), covelita ( $\text{Cu}_2\text{S}_2$  ou  $\text{CuS}$ ), enxofre elementar ou compostos não estequiométricos deficientes em metais (tais compostos prejudicam a solubilização da calcopirita por mecanismos muito distintos entre si) (MAJUSTE et al., 2012).

A partir dos exemplos dados acima é possível perceber que os ensaios eletroquímicos apresentam-se como uma alternativa muito adequada para o estudo dos sistemas de biolixiviação, uma vez que podem permitir: o entendimento das principais reações que ocorrem durante a oxidação de sulfetos minerais; a identificação da presença de filmes que possam bloquear a superfície, a avaliação do comportamento dos sistemas de biolixiviação na presença de bactérias e outros agentes e a avaliação da influência do potencial redox em meios que simulam as condições de lixiviação. Esses ensaios apresentam vantagens como rapidez, praticidade, baixo custo relativo, alta sensibilidade, consumo reduzido de energia e utilização de pequenas quantidades de amostra/reagentes. No caso específico da espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) existe a vantagem adicional de ser uma técnica transiente, ou seja, o sinal é aplicado ao sistema em um curto período, evitando qualquer efeito prejudicial aos microrganismos.

A medida de EIS é comumente usada para investigar quase todos os fenômenos que ocorrem em uma interfase eletrodo/solução. O intervalo de frequência de aquisição das medidas de EIS é bastante amplo, o que permite avaliar os mais diversos processos que podem ocorrer na superfície do mineral e na solução. A partir dos dados de EIS pode-se propor etapas para os processos que ocorrem na calcopirita, tais como acúmulo de cargas, transferência de carga, transferência de massa, adsorção/dessorção, difusão etc. Em princípio é possível separar cada um desses processos e investigar os mecanismos das reações e principalmente separar os

processos puramente resistivos dos capacitivos, o que é difícil fazer em outras técnicas eletroquímicas.

Há pouca literatura envolvendo estudos de EIS com calcopirita. O primeiro artigo que utilizou a EIS, calcopirita e bactéria numa mesma publicação foi resultado da minha tese de doutorado (BEVILAQUA et al., 2004). Neste estudo, eletrodos massivos de calcopirita foram colocados em diferentes condições abióticas e inoculadas com *At. ferroxidans* e pela primeira vez na literatura foram propostos circuitos elétricos para modelar esta interação. As diferenças observadas foram correlacionadas com o processo de adesão da bactéria na superfície do mineral.

Hiroyoshi et al. utilizaram EIS para estudar o efeito de íons cúpricos e ferrosos na formação da “camada passiva” na superfície da calcopirita em ácido sulfúrico, cujos resultados indicaram o crescimento de uma camada de alta resistência na superfície da calcopirita na ausência dos íons  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$  em solução. Os autores concluíram que a presença de ambos os íons resultou na formação de intermediário na superfície do mineral que inibiu o crescimento da “camada passiva” durante a dissolução da calcopirita (HIROYOSHI et al., 2004).

Ghahremaninezhad et al. utilizaram EIS para estudar a cinética de lixiviação de calcopirita na presença do par  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  em solução aquosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Os autores observaram um controle por difusão para a dissolução da calcopirita e mostraram que a etapa lenta de dissolução de calcopirita está relacionada com a lenta difusão de íons Fe através de uma camada passiva (GHAHREMANINEZHAD; DIXON; ASSELIN, 2012). Num trabalho recente de nosso grupo com eletrodo de pasta de carbono (EPC) foram realizados ensaios nos modos estático e hidrodinâmico e mostrou que íons  $\text{Fe}^{2+}$  em solução influenciam a resposta de impedância eletroquímica da calcopirita. Para o modo estático ocorreu a diminuição dos arcos capacitivos de Nyquist com adição de maiores concentrações de íons  $\text{Fe}^{2+}$  em comparação ao teste na ausência desse íon. Este comportamento foi relacionado à presença de íons férricos em maior quantidade que tanto dissolvem calcopirita como podem fazer parte da reação catódica e de camadas de óxidos-hidróxidos na superfície do mineral. Nos ensaios hidrodinâmicos, a diminuição dos arcos capacitivos foi mais acentuada e foi relacionada a um transporte de

massa mais eficiente (DELFINO et al., 2017, ARENA et al., 2016). O efeito da adição de íons ferrosos e da condição hidrodinâmica mostraram que a maior concentração de íons ferrosos tende a diminuir a impedância do sistema comparando-se os mesmos tempos de ensaio, porém a impedância aumenta ligeiramente com o tempo, o que também foi observado com o eletrodo a uma rotação de 1500 rpm (ARENA et al., 2016). Esses resultados foram interpretados como consequência da modificação da superfície do eletrodo, que ao perder ferro e cobre se torna um pouco mais resistente e aumenta a impedância. Observa-se, portanto, que esse assunto ainda tem espaço para discussão e mais estudos devem ser realizados.

### **III. BIOPROCESSOS APLICADOS AO MEIO AMBIENTE**

Das várias possibilidades de aplicação de organismos vivos em questões ambientais, excetuando-se os processos minerais já apresentados, o nosso grupo desenvolveu diferentes linhas de trabalho desde a minha contratação na UNESP. Podemos citar: a descontaminação de gases industriais e a remoção de elementos potencialmente tóxicos ou de interesse comercial nos rejeitos industriais.

Atualmente, um dos grandes desafios da humanidade é o desenvolvimento de tecnologias limpas que possibilitem a manutenção do padrão de vida alcançado na sociedade moderna sem danificar o meio ambiente. Neste sentido, é notável a preocupação e procura por tecnologias alternativas para o tratamento de resíduos industriais que gerem o menor impacto possível ao meio ambiente.

#### **III.1. DESCONTAMINAÇÃO DE GASES INDUSTRIAIS**

A poluição atmosférica é um dos maiores problemas ambientais devido a muitos processos industriais gerarem uma variedade de contaminantes gasosos. Atualmente, muitas estações de tratamento de efluentes industriais utilizam processos anaeróbios para a degradação de matéria orgânica, proveniente de alguma etapa do processo, durante o qual ocorre a geração de biogás.

Esse biogás gerado é tipicamente composto de metano ( $\text{CH}_4$ ), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), e traços de sulfeto de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{S}$ ), que frequentemente é queimado. Entretanto, no atual cenário mundial, seu valor comercial tem aumentado devido ao seu alto conteúdo energético. É uma fonte de energia versátil e renovável, porém um fator limitante para seu uso é a grande variedade de contaminantes presentes na sua composição, tais como compostos sulfurados, siloxanos, hidrocarbonetos, e compostos orgânicos halogenados. Dentre todos estes, o  $\text{H}_2\text{S}$  é o mais prejudicial, devido sua toxicidade e caráter corrosivo (TAYAR et al., 2019).

O biogás é gerado em uma série de etapas, nas quais participam vários micro-organismos. A primeira etapa é a hidrólise da matéria orgânica, por bactérias hidrolíticas que atuam enzimaticamente sobre as macromoléculas, obtendo assim compostos mais simples. A etapa seguinte é a acidogênese, na qual as bactérias acidogênicas excretam enzimas que convertem os compostos orgânicos solúveis em ácidos graxos voláteis, álcoois, amônia, hidrogênio e dióxido de carbono. Os ácidos graxos voláteis e álcoois logo são convertidos pelas bactérias acetogênicas a ácido acético, hidrogênio e dióxido de carbono. A última etapa é a metanogênica, na qual as arqueias metanogênicas transformam o ácido acético, hidrogênio e dióxido de carbono a metano e dióxido de carbono.

A produção de biogás representa um fator preponderante no processo de estabilização anaeróbia, na medida em que permite a valorização energética desse subproduto. O biogás apresenta, de um modo geral, boas perspectivas de utilização em equipamentos de conversão energética, sejam os grupos geradores para produção combinada de calor e eletricidade, e as caldeiras para produção de água quente e/ou de vapor.

Todas as utilizações de biogás requerem a sua descontaminação, o enriquecimento do biogás com o objetivo de otimizar a sua conversão em energia térmica e elétrica exige, normalmente, a eliminação de contaminantes. Na maioria dos casos, o único tratamento necessário consiste na remoção de água e sulfeto de hidrogênio (KAPDI et al., 2005).

Neste sentido, o principal composto de enxofre presente no biogás é o  $\text{H}_2\text{S}$ , mas outros compostos reduzidos de enxofre também podem ser encontrados. O  $\text{H}_2\text{S}$  pode ser produzido por micro-organismos anaeróbios como resultado da decomposição de proteínas a aminoácidos e da

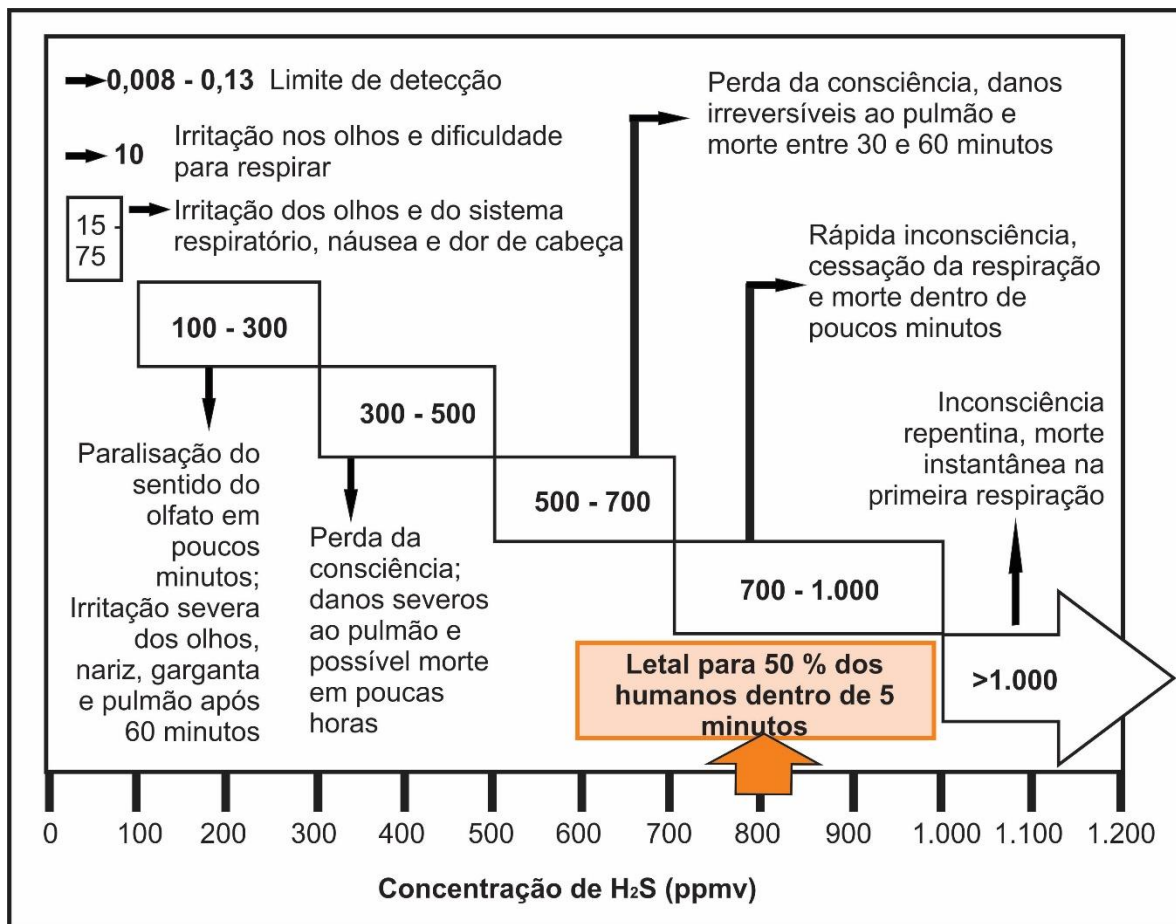
degradação de aminoácidos a sulfetos, ou pela redução direta de sulfato a sulfeto por bactérias sulfato-redutoras.

O controle de H<sub>2</sub>S é realizado por meio de tecnologias físico-químicas, como a adsorção, a absorção e a incineração (KENNES; RENE; VEIGA, 2009). No entanto, esses métodos possuem desvantagens como o alto custo de operação, já que necessitam de reagentes químicos, catalisadores e energia (GABRIEL, DESHUSSES, 2003). Neste contexto, as tecnologias biológicas se destacam como alternativa promissora às tecnologias convencionais. As tecnologias biológicas não necessitam de catalisadores e agentes oxidantes, produzem pequena quantidade de resíduo biológico e possuem baixo consumo energético (GÓMEZ, CANTERO, 2007).

Um conteúdo de 0,05 % de H<sub>2</sub>S na atmosfera produz riscos de envenenamento em meia hora e uma concentração de 0,1 % leva rapidamente à morte. A concentração máxima permitida, em ambientes de trabalho, fixada por muitos países é de 0,002 % (v/v) durante uma exposição de 8 horas (MONCAYO, 2008). A Figura 3 mostra os danos que o H<sub>2</sub>S pode causar à saúde. Por estas razões o aumento populacional e o desenvolvimento industrial têm levado ao aumento das legislações ambientais impostas pelos governos, obrigando as indústrias adotarem processos de tratamento efetivos a fim de cumprir com as regulamentações.

Os valores limites de exposição ao H<sub>2</sub>S, recomendados pela ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) são de 1 ppmv para a TLV-TWA (Threshold limit value – Time weight average), e de 5 ppmv para a TLV-STEL (Threshold limit value – Short time exposure limit). No Brasil, as Normas regulamentadoras de segurança e saúde no trabalho determinam que para jornadas de até 48 h / semana, os trabalhadores podem estar expostos a no máximo 8 ppmv, sendo seu grau de insalubridade considerado como máximo (GUERRERO, 2015).

**Figura 3.** Efeitos toxicológicos à saúde pela exposição ao H<sub>2</sub>S (GUERRERO, 2015).



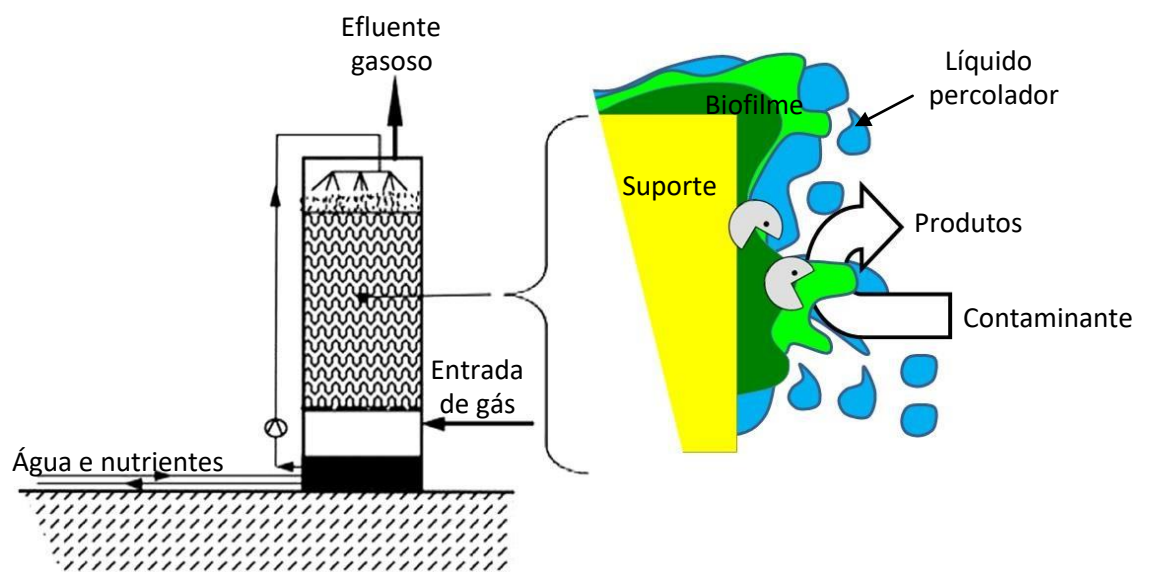
Além de todas as considerações já descritas acima, deve ser lembrado que a emissão de compostos de enxofre como o dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>), resultante da combustão do H<sub>2</sub>S, é responsável por danos importantes à vegetação e às propriedades ao redor da fonte de emissão. Isto porque o SO<sub>2</sub> na atmosfera se transforma em ácido sulfúrico, que logo regressa à superfície com a chuva (chuva ácida) (MONCAYO, 2008).

Os sistemas de tratamento biológicos são baseados na capacidade de micro-organismos degradarem determinados contaminantes da fase gasosa. Os principais tipos de biorreatores utilizados no tratamento de efluentes gasosos são os biofiltros, os biofiltros percoladores e os biolavadores.

Dentre os diferentes tipos de bioreatores, o biofiltro percolador está consolidado como alternativa promissora e eficaz (TAYAR et al., 2019). Este consiste em uma coluna recheada com um material sintético de elevada área de superfície específica, sobre o qual se desenvolve um biofilme, e através do qual flui o efluente gasoso, em fluxo paralelo ou cruzado, com uma fase móvel líquida (Figura 4). Esta fase líquida móvel fornece a umidade e os nutrientes (como nitrogênio, fósforo, potássio e elementos traços) para a manutenção dos micro-organismos, além de ser um meio de controlar alguns parâmetros operacionais (DESHUSSES, 2005).

Ao contrário dos biofiltros que são, normalmente, recheados com material orgânico e operados com o mínimo de água, os biofiltros percoladores são recheados com material inerte (plásticos ou materiais sintéticos), sobre o qual é percolada uma fase líquida continuamente. O recheio fornece a superfície necessária para a imobilização dos micro-organismos e para o contato gás – líquido. Desta forma, os biofiltros percoladores possuem a vantagem de que através dessa fase móvel líquida é possível controlar o pH, a concentração de sais e metabólitos e o suprimento de nutrientes para os micro-organismos (DESHUSSES; GABRIEL, 2005).

**Figura 4.** Esquema de um biofiltro percolador (Adaptado de DESHUSSES, 2005)



Outra vantagem dos biofiltros percoladores em relação aos biofiltros é que eles podem ser mais altos (2 a 3 m de altura) comparados com os biofiltros (1 a 1,5 m de altura), pois o material suporte, normalmente, não sofre compactação. Os biofiltros percoladores são mais recentes do que os biofiltros e, portanto, ainda não foram aplicados nas indústrias na mesma extensão dos biofiltros (DESHUSSES, 2005).

A remoção dos contaminantes é resultado de uma complexa combinação de diferentes fenômenos físicos, químicos e biológicos. Os contaminantes são dissolvidos e difundem-se através da fase líquida ficando à disposição do biofilme, que irá degradá-los. A maior parte dos poluentes é degradada no biofilme, mas parte pode ser removida pelos micro-organismos em suspensão no meio de recirculação (DESHUSSES, 2005).

Na Europa, os sistemas de biofiltração estão presentes em estações de compostagem, em estações de tratamento de águas residuárias, em matadouros industriais, no processamento da madeira, no processamento de peixe, na indústria de tabaco, em plantas de obtenção de azeite vegetal, na manufatura de fungicidas, em lavanderias industriais, no processamento de resinas, na indústria têxtil, em plantas processadoras de cacau, em granjas e em indústria química em geral. No Brasil, a utilização de biofiltros ainda é bastante reduzida.

A empresa "Golder Associates" desenvolveu e adaptou a tecnologia de Biofiltração às condições brasileiras, e implantou esta tecnologia pela primeira vez no Brasil no início de 2001. Este sistema foi instalado em uma planta siderúrgica que vem funcionando desde então com elevada eficiência, tendo sido aprovado pelo órgão ambiental, bem como pela comunidade vizinha, que verificou redução drástica dos odores anteriormente emitidos pela unidade industrial (GUERRERO, 2015). Um sistema de biofiltros que diminui a quantidade de gás metano (CH<sub>4</sub>) lançado na atmosfera também foi testado no Aterro Sanitário de Campinas por pesquisadores da Escola Politécnica (Poli) da Universidade de São Paulo (MALDANER et al., 2012).

### **III.2. DESCONTAMINAÇÃO DE REJEITOS INDUSTRIAIS**

O enfoque de nosso grupo é a utilização de micro-organismos que sejam capazes metabolicamente de interagir com metais, de maneira a descontaminar o resíduo ou ainda recuperá-lo para fins comerciais.

Muitas são as variáveis neste tipo de projeto, o que implica em abordagens distintas e algumas perguntas precisam ser respondidas. Qual o objetivo, descontaminação e descarte, ou descontaminação e reaproveitamento comercial do metal? Qual a natureza do rejeito? Qual a toxicidade do(s) contaminante(s) e a concentração no material? Onde o rejeito está localizado?

Essas são apenas algumas questões a serem avaliadas para que seja elaborado o processo de descontaminação. No caso de nosso grupo de pesquisa, a parceria com a empresa Itatijuca nos proporcionou várias possibilidades de abordagens.

A Itatijuca, por ser uma empresa que prospecta e propõe soluções para diversos problemas ambientais, tem uma demanda de problemas ambientais atuais. E foi assim que surgiu boa parte projetos e trabalhos em bioprocessos aplicados ao meio ambiente.

#### **III.2.1. Solubilização de terras raras a partir de rocha fosfática utilizando micro-organismos**

O primeiro deles buscou uma alternativa para extração de terras raras a partir de fosfogesso. Parte das terras raras brasileiras está presente no fosfogesso, que é o produto secundário da extração de ácido fosfórico de rocha fosfática. A extração de fósforo consiste na reação do minério com ácido sulfúrico, produzindo ácido fosfórico como produto principal e fosfogesso como resíduo (Reação 8). Mas como este processo geralmente não tem etapas de extração de terras raras, estes elementos acabam sendo concentrados no fosfogesso.



O fosfogesso utilizado neste trabalho possuía 0,6% em massa de terras raras, sendo classificado como material de baixo teor, mas como está

presente em milhões de toneladas pelo Brasil, é uma possível fonte viável de terras raras.

Os elementos terra raras são um conjunto de 17 elementos químicos da tabela periódica, sendo os 15 lantanídeos, o escândio (Sc) e o ítrio (Y) e estão classificados como terra raras leves (números atômicos de 57-63) e os pesados (números atômicos e 64-71) (COTTON, 2006; GUPTA & KRISHNAMURTHY, 1992). Estes elementos receberam essa denominação devido a sua ocorrência na forma de óxidos (“terras” em uma nomenclatura arcaica), mas hoje é conhecido que estes elementos não são raros, pois na litosfera apresentam concentração na ordem de  $8.10^{-5}$ g/g e são mais abundantes que alguns metais de valor como ouro, platina e mercúrio (ABRÃO, 1994).

Esses elementos possuem diversas aplicações incluindo as mais modernas tecnologias e pesquisas como, por exemplo, os ímãs de neodímio ( $Nd_2Fe_{14}B$ ) que possuem o maior campo magnético específico que se tem conhecimento. Esses elementos também são utilizados como aditivos de vidros com propriedades específicas, materiais luminescentes, catalisadores automotivos, no craqueamento do petróleo e diversas outras aplicações (MARTINS E ISOLANI, 2005).

Em 2013, o Brasil ganhou grande importância no cenário mundial de terras raras, passando a ser o segundo país com maior reserva desses metais, representando 16,1% das reservas mundiais. Apesar de possuir grande quantidade deste importante recurso, a produção brasileira é de apenas 0,5% da mundial, precisando importar um montante de US\$ 15,31 milhões em compostos químicos e manufaturados de terras raras (NEVES E LIMA, 2014).

Os métodos de extração de terras raras são baseados em duas grandes etapas: primeiramente a etapa de separação física do minério extraído, que é baseada em processos físicos conjugados como eletrostático, magnético e gravimétrico (ABRÃO, 1994). A segunda etapa é de lixiviação dos elementos do concentrado mineral, onde se utiliza grandes quantidades de ácidos fortes (principalmente ácido sulfúrico) e agentes complexantes como o tributilsulfato (DE SOUSA FILHO E SERRA, 2014), o

uso em larga escala destes reagentes químicos encarece o processo e o produto.

A busca por alternativas de produção de terras raras de maneira mais barata motivou o nosso trabalho e outros, como um método de extração por decomposição térmica que obteve 90-99% de extração para minérios concentrados de terras raras (KUMARI, A. et al., 2015).

Rotas biotecnológicas também foram propostas, como por exemplo, a utilização de fungos como *Penicillium tricolor*, que produz ácido cítrico e oxálico, que também realiza extração de terras raras (QU; LIAN, 2013). Há uma tecnologia russa que utiliza micro-organismos produtores de ácido sulfúrico em contato direto com o fosfogesso contendo terras raras (BASHLYKOVA et al., 2010).

Os nossos resultados foram bastante promissores e geraram o depósito de uma patente (TAYAR et al., 2016). Em uma das metodologias utilizadas obteve-se recuperação de 98% para o praseodímio e 60% para os demais elementos terras raras presentes no fosfogesso; o ácido produzido pela bactéria foi tão eficiente na solubilização dos terras raras quanto a solução de ácido sulfúrico comercial, uma vez que a produção de ácido bacteriano acontece em condições ambientais, sem a necessidade do alto gasto energético e do custo de uma planta para geração de ácido sulfúrico convencional.

O processo biotecnológico testado por nosso grupo apresentou eficiência semelhante ao processo químico (considerando as concentrações de ácido) e não produziu nenhum resíduo tóxico ou prejudicial ao meio ambiente além do fosfogesso.

### **III.2.2. Biolixiviação heterotrófica**

O desenvolvimento de sistemas biotecnológicos para recuperação de metais a partir de rejeitos industriais ou materiais secundários como lama vermelha, escórias industriais, cinzas de carvão, resíduos de lâmpadas fluorescente etc., em que não há materiais reduzidos, a biolixiviação por micro-organismos heterotróficos surge como uma abordagem promissora,

uma vez que eles são capazes de tolerar condições de pH bem variáveis, bem como complexar metais em solução (BANIASADI et al., 2019).

Organismos heterotróficos necessitam de fonte de carbono orgânico para suas atividades metabólicas, bem diferente dos oxidantes de ferro e enxofre que fixam o carbono atmosférico, e isso encarece e dificulta a aplicação industrial destes processos.

Em recente revisão (IŞILDAR, 2019) as estratégias biotecnológicas para a recuperação das matérias-primas críticas, do inglês “*critical raw materials – CRMs*” foram discutidas, uma vez que estes elementos são essenciais para o desenvolvimento de novas aplicações tecnológicas, como materiais sustentáveis e tecnologias verdes, incluindo-se energias renováveis, veículos elétricos não emissores de poluentes e energia eficiente para iluminação. A biotecnologia pode encontrar um nicho nesta área pois a geração de resíduos, a emissão de gases tóxicos e a captura de carbono são bem menores que os processos tradicionais de recuperação de metais. Os trabalhos discutidos na sequência atendem essa demanda mundial pela busca de alternativas biotecnológicas heterotróficas para a recuperação de metais, sejam eles “*CRMs*” ou não.

### **III.2.2.1 Processo de biorrecuperação de alumínio a partir de bauxita**

Outro desafio proposto pela Itatijuca foi desenvolver uma rota alternativa ao conhecido processo Bayer de produção de alumina a partir de bauxita. Este processo é a única rota de processamento de bauxita e necessita grande quantidade de energia e insumos.

Trata-se de uma rocha de coloração avermelhada, rica em alumínio, com mais de 40% de alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). A proporção dos óxidos de ferro determina a coloração da rocha. Assim, a bauxita branca contém de 2 a 4% de óxidos de ferro, ao passo que, na bauxita vermelha, essa proporção atinge 25%. A bauxita é a fonte natural de alumínio, o terceiro elemento em abundância na crosta terrestre, depois do oxigênio e do silício. Mesmo com sua elevada abundância, não há notícias acerca da ocorrência de alumínio metálico na natureza. Constata-se sua maior ocorrência na forma

combinada com outros elementos, principalmente, o oxigênio, com o qual forma alumina.

Bauxita é a principal fonte de alumínio no mundo e as maiores jazidas ou reservas se encontram na Jamaica, 51%; Brasil, 23%; Guinéa, 10%; Guiana, 7% (BRAY, 2020). As reservas de alumínio no mundo são estimadas entre 55-75 bilhões de toneladas, sendo na África (32%), Oceania (23%), América do Sul e Caribe (21%) e outros lugares (6%).

Este estudo foi uma tese de doutoramento cujo objetivo foi desenvolver um processo de baixo custo para a biolixiviação de alumínio a partir de bauxita. A biolixiviação foi realizada utilizando ácidos orgânicos produzidos pelos fungos filamentosos, em meio de crescimento suplementado com um substrato de baixo custo e grande disponibilidade no Brasil – o melão. O melão é um subproduto da indústria de açúcar e álcool que contém alta concentração de açúcar fermentável. A professora Sandra Pombeiro Sponchiado foi nossa parceira neste projeto, co-orientando e dando todo o suporte no conhecimento e manipulação dos fungos utilizados, que ela gentilmente nos cedeu. Neste estudo, combinando-se diferentes abordagens de biolixiviação, com diferentes modos de obtenção dos fungos filamentosos *Aspergillus niger* e *Penicillium simplicissimum*, obtivemos uma recuperação de alumínio superior a 90% (SHAH, 2018).

Destacamos que o estudo foi realizado em condições de temperatura e pressão ambientes, sem a geração de resíduos que impactem significativamente o meio ambiente, tornando o processo com menor gasto energético e mais sustentável quando comparado aos convencionais (SHAH, 2019).

#### **III.2.2.2. Recuperação de cobre por biomassa de fungo *Aspergillus nidulans* na forma livre e imobilizada em membrana de celulose**

A cooperação com o grupo da professora Sandra teve sequência mais uma vez com estudo de fungos, desta vez *Aspergillus nidulans* e sua possível aplicação na recuperação de cobre por biomassa desta cepa na forma livre e imobilizada em membrana de celulose. Neste estudo

alcançamos resultados promissores, o que culminou também com uma dissertação de mestrado (TOLEDO, 2018) e um depósito de patente (TOLEDO et al., 2018).

Essa ideia surgiu a partir de uma situação conhecida que é a barragem de rejeitos de Sossego no Pará. Esta barragem possuía em 2011, 90 milhões de toneladas de detritos com um teor de 0,07% de cobre. Barragens desta natureza estão presentes nas operações minerais pelo Brasil e pelo mundo. Se todo o cobre desta barragem fosse recuperado, a Vale poderia ter uma receita bruta de US\$ 1,4 bilhão valor superior aos US\$ 12 bilhões investidos pela companhia entre 1997 e 2004 para colocar a mina em operação (VALE, 2017).

O cobre é um dos metais tóxicos mais frequentes nos efluentes industriais porque pode ser lançado ao meio ambiente por várias fontes, como indústrias de celulose e papel, polimento de metais, mineradoras, petróleo e fertilizantes (BILAL *et al.*, 2013; PERIASAMY; NAMASIVAYAM, 1996). A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda a máxima concentração aceitável de 2 mg L<sup>-1</sup> de cobre dissolvido na água potável (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011) e o Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA estabelece máxima concentração de cobre dissolvido no lançamento de efluentes em corpos de água receptores de 1 mg L<sup>-1</sup> (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE, 2011).

Vários processos para o tratamento e recuperação de metais em efluentes contaminados têm sido desenvolvidos, como filtração de membrana, osmose reversa, adsorção com carvão ativado, flotação, precipitação química, troca iônica e coagulação-floculação (BILAL *et al.*, 2013; GUPTA, *et al.*, 2012).

No presente trabalho optou-se pela aplicação de um processo adsorptivo na remoção de metais presentes em baixas concentrações nos rejeitos. Este processo apresenta uma série de vantagens, destacando-se o baixo custo associado com sua alta eficiência, comparável às resinas comerciais de troca iônica (FU, F.; WANG, Q. 2011; VIJAYARAGHAVAN, K.; YUN, Y. 2008.).

Imobilizou-se o adsorvente em uma membrana semipermeável de

celulose, sob a forma de uma cápsula, que foi preenchida com o adsorvente suspenso em água deionizada, apresentando uma maior eficiência para remover e recuperar íons metálicos em relação ao adsorvente na forma livre. Assim, o adsorvente encapsulado proporcionou um aumento na capacidade de remoção do metal em comparação à forma livre do adsorvente, sendo um procedimento reversível, simples, com alta eficiência e de baixo custo. Isso o torna potencialmente útil para tratamento de efluentes industriais contaminados com metais e/ou na recuperação de íons metálicos com valor comercial, presentes nas águas residuais, como da indústria de mineração.

### **III.2.2.3. Recuperação de metais a partir de drenagem ácida de mina (DAM).**

A drenagem ácida de mina é um rejeito gerado naturalmente em cavas de mineração a partir da exposição do solo/rocha à oxigênio e à umidade. Caracteristicamente, essas águas são ácidas, com valores de pH menores que 3, e contêm elevada concentração de metais de transição solúveis: predominantemente ferro e outros como cobre e zinco, dependendo da natureza geoquímica do corpo mineral da mina, alumínio e metalóides como arsênio. Essas drenagens podem ser a principal fonte de poluição ácida e por metais por centenas de anos após o descomissionamento da operação e abandono da mina, e, portanto, DAM está na categoria de potencial poluente ambiental de longa duração (NANCUCHEO; JOHNSON, 2012). O método mais frequentemente utilizado para tratamento de DAM envolve aeração e adição de álcali (geralmente CaO) para elevar o pH e precipitar os metais como hidróxidos e carbonatos. Esta estratégia gera uma grande quantidade de lodo que deverá ser corretamente disposto (KAKSONEN; PUHAKKA, 2007; SIMATE; NDLOVU, 2014).

Dentre as tecnologias possíveis, a redução de sulfato por bactérias redutoras de sulfato (BRS), seguido da precipitação de metais com o sulfeto biogênico tem se mostrado uma estratégia bastante vantajosa em diversos sentidos. A redução de sulfato gera alcalinidade, reduzindo, portanto, a acidez da DAM, e a precipitação do sulfeto com metais permite que ambos sejam removidos da água (KAKSONEN; PUHAKKA, 2007). Além da

adequação ambiental do rejeito, os metais presentes na DAM têm potencial para serem recuperados e, em seguida, reprocessados. Esta estratégia possibilita aliar a mitigação de impactos a uma atividade economicamente vantajosa. Aqui nos deparamos novamente com mais uma aplicação de um bioprocessos, utilizando-se organismos heterotróficos para a descontaminação de rejeitos industriais, as bactérias sulfato redutoras (BRS). Um processo biotecnológico para precipitar separadamente diferentes metais de uma DAM foi criado em 2012 (NANCUCHEO; JOHNSON, 2012). Este processo utiliza bactérias anaeróbicas neutrofilias para gerar sulfeto (como HS)<sup>-</sup> a partir de enxofre elementar em um reator anaeróbio. O sulfeto é transferido para um segundo reator onde entra em contato com a DAM em um pH adequado para precipitação do metal alvo.

Recentemente, recebemos em nosso grupo a Dra. Rachel Bianchalana Costa e sob minha supervisão estamos desenvolvendo o projeto: Influência de doadores de elétrons para a recuperação de sulfetos metálicos a partir de drenagem ácida de minas (Processo FAPESP 2018/01524-7).

Embora outros trabalhos já tenham estudado o desempenho das bactérias redutoras de sulfato com diferentes compostos orgânicos, não está clara a interferência desses compostos nos mecanismos de remoção de metais. Assim, é importante distinguir os diferentes mecanismos de remoção de metais a fim de otimizar a recuperação dos metais.

A precipitação de metais da DAM a partir de sulfeto biogênico é uma alternativa ambientalmente interessante e potencialmente vantajosa. Contudo, depende da integração de dois processos altamente complexos: a precipitação dos metais e a geração do sulfeto biogênico. Integrar os dois processos demanda que se compreenda em profundidade como se dá cada um deles e quais as interferências de outros processos concorrentes.

A hipótese central do trabalho que vem sendo desenvolvido é que diferentes fontes de doadores de elétrons influenciam não apenas as rotas de redução de sulfato, mas também os mecanismos de remoção de metais. Para isso foi estudado o impacto de diferentes fontes de carbono sobre a redução de sulfato em tratamento de drenagem ácida de minas, com foco na otimização da recuperação de sulfetos metálicos. A redução de sulfato tende a se estabelecer mais eficientemente quando é utilizada matriz

orgânica mista como fonte de doador de elétrons. No entanto, desconhece-se o impacto da utilização de matriz orgânica mista no tratamento de drenagem ácida de minas e nos mecanismos de remoção de metais.

#### **IV. EVOLUÇÃO DOS TRABALHOS CIENTÍFICOS MAIS RELEVANTES DO GRUPO DE PESQUISA “BIOPROCESSOS APLICADOS À MINERAÇÃO E AO MEIO AMBIENTE”**

Como salientado nas considerações iniciais, o texto seguinte apresentará uma análise crítica, buscando evidenciar a originalidade da contribuição da linha de pesquisa e os avanços obtidos até o presente momento nos estudos bem como os conhecimentos adquiridos nas diferentes aplicações dos bioprocessos à mineração e ao meio-ambiente.

Todos os nossos projetos têm como foco questões ambientais, sejam pelo estudo do desenvolvimento de processos para exploração comercial de metais de maneira menos impactante para o meio ambiente, seja para a recuperação de metais de resíduos industriais visando a descontaminação ou a comercialização e ainda descontaminação de gases industriais. Didaticamente optamos por separar em duas partes as publicações. A primeira parte serão descritos os artigos envolvendo os estudos com sulfetos minerais de cobre, que chamamos de Bioprocessos aplicados à mineração, e a segunda parte descreve-se os demais trabalhos que não estão relacionados com sulfetos minerais, que chamamos de Bioprocessos aplicados ao meio ambiente. As referências estão listadas em ordem cronológica nos Anexos I e II, e a relação dos mesmos pode ser vista a seguir .

### **Bioprocessos aplicados à mineração**

BEVILAQUA, D. et al. Oxidation of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 4, p. 587–592, 2002.

BEVILAQUA, D. et al. Characterization of bornite ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) electrodes in the presence of the bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 4, p. 637–644, 2003.

BEVILAQUA, D. et al. Oxidative dissolution of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* analyzed by electrochemical impedance spectroscopy and atomic force microscopy. **Bioelectrochemistry**, v. 64, n. 1, p. 79–84, 2004.

BEVILAQUA, D.; GARCIA Jr, O. Oxidación de sulfuros de cobre por *Acidithiobacillus ferrooxidans*: análisis de los productos de las fases líquidas y sólidas. F. Acevedo, J. C. Gentina, (Eds.) Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras - Valparaíso, Chile, p. 63-77. Ediciones Universitarias de Valparaíso, ISBN: 9561703734, 2005.

BEVILAQUA, D. et al. Electrochemical noise analysis of bioleaching of bornite ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 83, n. 1–4, p. 50–54, 2006.

BEVILAQUA, D.; ACCIARI, H. A.; BENEDETTI, A. V.; GARCIA JÚNIOR, O. Electrochemical techniques used to study bacterial-metal sulphides interactions. In: E. Donati; W. Sand, (Eds.) Microbial processing of metal sulphides – Dordrecht, Netherlands, p. 59-76. Editorial Springer-Verlag, 2007.

BEVILAQUA, D.; GARCIA Jr. O. Microrganismos, minerais e metais. I. S. de Melo, J. L. de Azevedo, (Eds.) Microbiologia Ambiental – Jaguariúna, Brasil, p. 50-81. 2ª edição ISBN: 9788585771447, 2008.

BEVILAQUA, D. et al. Utilization of electrochemical impedance spectroscopy for monitoring bornite ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans* **Minerals Engineering**, v. 22, p. 254-262, 2009.

HORTA, D. G. et al. Optimization of the use of carbon paste electrodes (cpe) for electrochemical study of the chalcopyrite. **Quimica Nova**, v. 32, n. 7, p. 1734–1738, 2009a.

HORTA, D. G. et al. The effect of chloride ions and *Acidithiobacillus ferrooxidans* on the oxidative dissolution of the chalcopyrite evaluated by electrochemical noise analysis (ENA). **Advanced Materials Research**, v. 71–73, p. 397–400, 2009b.

BEVILAQUA, D.; GARCIA, O.; TUOVINEN, O. H. Oxidative dissolution of bornite by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 1, p. 101–106, 2010.

BEVILAQUA, D.; SUEGAMA, P.H.; GARCIA JÚNIOR, O.; BENEDETTI, A. V. Electrochemical studies of sulphide minerals in the presence and absence of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. In: Biohydrometallurgy processes: a practical approach, p. 133-157 ed. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2011.

BEVILAQUA, D. et al. Effect of Na-chloride on the bioleaching of a chalcopyrite concentrate in shake flasks and stirred tank bioreactors. **Hydrometallurgy**, v. 138, p. 1–13, 2013.

BEVILAQUA, D. et al. Bacterial and chemical leaching of chalcopyrite concentrates as affected by the redox potential and ferric/ferrous iron ratio at 22 °c. **International Journal of Mineral Processing**, v. 132, p. 1–7, 2014.

ARENA, F. A.; SUEGAMA, P. H.; BEVILAQUA, D.; SANTOS, A. L. A.; FUGIVARA, C. S.; BENEDETTI, A. V. Simulating the main stages of chalcopyrite leaching and bioleaching in ferrous ions solution: An electrochemical impedance study with a modified carbon paste electrode. **Minerals Engineering**, v. 92, p. 229–241, 2016.

SANTOS, A. L. A. et al. Effect of redox potential on chalcopyrite dissolution imposed by addition of ferrous ions. **Ecletica Química**, v. 42, n. 1, p. 40–50, 2017.

COSTA, M. A.; CANEVESI, R. L. S.; Palmieri, M.C.; SILVA, E. A.; BEVILAQUA, D., UV-Irradiated strain of improved copper bioleaching in

chalcopirite. **Journal of Environmental Engineering**, v.144, p.04018064, 2018.

DELFINO, F. A. A. et al. EIS studies of chalcopirite involving iron(II) ions. **Solid State Phenomena**, v. 262, p. 496-500, 2017.

BEVILAQUA, D. Biomineração. In: Lima, U. A.(ed.) **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Blucher, 2019. v. 3, cap. 17, p. 547-572.

### ***Bioprocessos aplicados ao meio ambiente***

SOLCIA, R. B. et al. Hydrogen sulphide removal from air by biotrickling filter using open-pore polyurethane foam as a carrier. **Biochemical Engineering Journal**, v. 84, p. 1-8, 2014.

GUERRERO, R. B. S.; BEVILAQUA, D. Biotrickling Filtration of Biogas Produced from the Wastewater Treatment Plant of a Brewery. **Journal of Environmental Engineering**, v. 141, n. 8, p. 04015010, ago. 2015.

TAYAR, S.P., PALMIERI, M.C., BEVILAQUA, D. Método de processamento de terras raras mediante bioextração indireta. In: INPI, (Ed.) UNESP, Brasil BR1020160117712. Depósito 24 maio 2016.

HIDALGO, L. F. et al. Evaluation of substrate consumption kinetics in different support material for biotrickling filters aiming biogas desulfurization. **Solid State Phenomena**, v. 262, p. 682-686, 2017.

TOLEDO, A.G.R.; SPONCHIADO, S.R.P.; PALMIERI, M.C.; BEVILAQUA, D.; ANDRADE, J.C.R. 2019. Adsorvente encapsulado e método de remoção e recuperação de íons metálicos em efluentes utilizando referido adsorvente. In: INPI, (Ed.) UNESP, Brasil BR 10 2018 071260 8. Depósito 16 out 2018.

SHAH, S. S; BEVILAQUA, D.; SPONCHIADO, S.R.P.; Palmieri, M.C. Processo de biorrecuperação de alumínio a partir de bauxita. In: INPI, (Ed.) UNESP, Brasil BR 10 2019 003102 6, Depósito 15 fev 2019,

TAYAR, S. et al. Evaluation of Biogas Biodesulfurization Using Different Packing Materials. **ChemEngineering**, v. 3, n. 1, p. 27, 2019.

#### **IV.1. Bioprocessos aplicados à mineração**

Nossos primeiros trabalhos em biolixiviação de minerais foram voltados para os aspectos básicos do processo, buscando a solubilização de cobre a partir de ensaios em escala de laboratório e utilizando cepas puras isoladas (GARCIA JR, 1991) e disponíveis no banco de linhagens de nosso laboratório.

O foco era avaliar a capacidade de nossas linhagens, *At. ferrooxidans*-LR e *At. thiooxidans*-FG01, em utilizar sulfetos de cobre, calcopirita e bornita, como fonte de energia e acompanhar por ensaios respirométricos e em frascos sob agitação os parâmetros que influenciavam os processos mediante análises na fase líquida (pH, Eh,  $Cu_{total}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  e  $Fe_{total}$ ) e sólida (Difração de raios X e microscopia eletrônica de varredura). Com esses dados propusemos modelos de dissolução química e bacteriana para ambos sulfetos (BEVILAQUA et al., 2002; BEVILAQUA; GARCIA; TUOVINEN, 2010).

Nos capítulos publicados em 2005 e 2008, os conceitos básicos e aplicados à biolixiviação estão apresentados e discutidos (BEVILAQUA; GARCIA, 2005; BEVILAQUA; GARCIA, 2008).

No início dos anos 2000 a discussão sobre os mecanismos de ação bacteriana gerou muita controvérsia na literatura (SAND et al., 2001; BOON, 2001) e nossa ideia foi estudar profundamente como acontecia essa interação bactéria-substrato. Algumas questões inquietavam e por meio da colaboração com o Prof. Dr. Assis Vicente Benedetti e sua estreita ligação com o Prof. Dr. Fausto Sanz da Universidade de Barcelona tivemos um avanço no entendimento deste sistema com a técnica de microscopia de forças atômicas (Atomic force microscopy - AFM).

Se havia transferência de elétrons entre a bactéria e o substrato mineral, seria possível usar os minerais como eletrodos e pela adesão ou não da bactéria detectar essa transferência de elétrons? O que mediava essa adesão?

Havia poucos dados na literatura sobre essa abordagem e nenhum deles envolvia bactérias acidofílicas e minerais no mesmo trabalho. Esse

pioneirismo foi possível pela dedicação e vontade de aprender de todos os envolvidos. Como havia feito minha iniciação científica em materiais e eletroquímica sob a orientação do Prof. Assis do Departamento de Físico-Química e o mestrado em biolixiviação sob a orientação do Prof. Oswaldo do Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química, fui a ponte entre esses dois mundos tão distantes a princípio e que se mostrou tão fascinante à época e que nos desafia até hoje.

Os desafios foram muitos, mas fomos descobrindo os caminhos das pedras. Como seria a célula eletroquímica? Como seriam os eletrodos? Como seria o contato elétrico no eletrodo de trabalho? Quais técnicas eletroquímicas seriam adequadas e este tipo de estudo? Quanto de células bacterianas seriam suficientes para a resposta do sistema? Como manter este número de células constante nos ensaios? E a esterilização do sistema? Aos poucos fomos respondendo e propondo alternativas a cada um destes desafios. Algumas destas respostas foram estudadas e publicadas (BEVILAQUA et al., 2003; BEVILAQUA et al., 2004; BEVILAQUA et al., 2009). Estas foram as primeiras publicações na literatura a utilizarem a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) em estudos com minerais e com bactérias.

Complementando esses estudos introduzimos também de maneira inédita e pioneira a técnica de ruído eletroquímico (electrochemical noise analysis, ENA) (BEVILAQUA et al., 2006) no estudo de minerais. Os princípios destas técnicas eletroquímicas e suas aplicações nos estudos das interações bactéria-mineral estão descritos e discutidos em nossos capítulos de livros (BEVILAQUA et al., 2007; BEVILAQUA et al., 2011).

Até então trabalhávamos com eletrodos minerais massivos, e passamos a investigar a possibilidade de utilizarmos outros tipos de eletrodos. O grupo do Prof. I. González passou a sugerir o uso de eletrodos de pasta de carbono (carbono paste electrode – CPE) por apresentar excelente repetibilidade nos ensaios eletroquímicos devido à ausência de problemas associados com polimento, fratura e falta de homogeneidade apresentados pelos eletrodos de minerais maciços (LÁZARO et al., 1995; HORTA et al., 2009a).

Passamos a investigar outros parâmetros na biolixiviação da

calcopirita, e que pareceu mais promissor foi a adição de íons cloreto (HORTA et al., 2009b). Com o convite do Prof. Tuovinen fomos à Tampere University of Technology (TUT) na Finlândia e levamos nossa cepa de *Acidithiobacillus ferrooxidans* que havia sido adaptada a crescer nessas condições e nossa amostra de calcopirita, fornecida pela Vale, dentro do nosso convenio de cooperação científica. Durante este período co-orientamos a aluna Heidi Lahti em dois trabalhos com diferentes abordagens.

O primeiro avaliando o efeito do cloreto na solubilização de cobre a partir da calcopirita em ensaios com frascos sob agitação e em reatores agitados (BEVILAQUA et al., 2013). Desta vez, os estudos da fase sólida não se restringiram às medidas de DRX e SEM. Os resíduos da biolixiviação foram utilizados para a preparação de eletrodos CPE, que foram obtidos nas diferentes amostragens. Mais uma vez inovamos nos estudos eletroquímicos de minerais, uma vez que este foi o primeiro artigo publicado utilizando resíduos de ensaios de biolixiviação para confecção de eletrodos CPE.

O segundo trabalho desenvolvido abordou um tema que recém havia sido introduzido na literatura. O controle de potencial de solução como alternativa para a biolixiviação da calcopirita (BEVILAQUA et al., 2014).

De volta ao Brasil e após a minha contratação, seguimos com os estudos eletroquímicos e fisiológicos focando no controle do potencial, e obtivemos resultados promissores, com 100% de solubilização da calcopirita na presença de íons ferrosos (SANTOS et al., 2017). Neste artigo propusemos que o potencial era sim importante, desde que juntamente com uma concentração adequada de íons ferrosos.

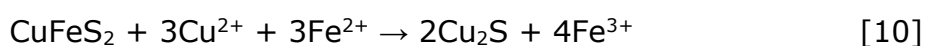
Diante das dificuldades no controle do potencial redox em meios biológicos, surge a possibilidade de aplicar essa estratégia nos meios de lixiviação química. Tal perspectiva é mais abrangente, pois permite a utilização tanto de agentes químicos como de técnicas eletroquímicas para o controle do potencial. E foi justamente usando técnicas eletroquímicas que se chegou à conclusão que controlar o potencial nos meios lixiviantes significa muito mais do que minimizar a formação de camadas superficiais, principalmente de jarositas. Como salientado anteriormente, potenciais dentro de um intervalo ótimo que varia de 380 a 430 mV (vs.

Ag|AgCl|KCl3M) minimizam a formação dessas camadas porque a calcopirita tende a se reduzir, permitindo a extração do ferro presente na estrutura cristalina e a formação de sulfetos de cobre menos refratários, levando à dissolução quase completa da calcopirita (PETERSEN; DIXON, 2006; THIRD; CORD-RUWISCH; WATLING, 2000; THIRD; CORD-RUWISCH; WATLING, 2002; VILCÁEZ; SUTO; INOUE, 2008). A explicação mais aceita é que em baixos potenciais redox de solução a calcopirita é reduzida em várias etapas até formar  $\text{Cu}_2\text{S}$ , que é facilmente dissolvido, assim, resultando em uma maior cinética de dissolução (GU et al., 2013; HIROYOSHI et al., 2000; HUANG et al., 2017; LIU; XIA; NIE, 2015; ZHAO et al., 2015).

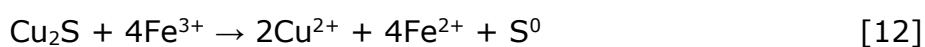
Hiro Yoshi et al. (2000) propuseram um modelo de transformação da calcopirita em duas etapas, a primeira redutiva e a segunda oxidante como descrito a seguir:



Na primeira etapa a calcopirita é reduzida à calcocita ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ) por íons  $\text{Fe}^{2+}$  na presença de íons  $\text{Cu}^{2+}$ :

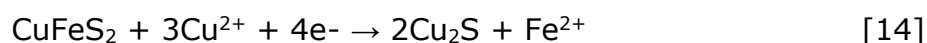


Na segunda etapa ocorre a oxidação da calcocita a íons  $\text{Cu}^{2+}$  e enxofre elementar por íons  $\text{Fe}^{3+}$  e/ou pelo oxigênio dissolvido:



Para possibilitar a dissolução da calcopirita é indispensável que o

potencial da solução, proveniente da sua reação de óxido-redução (Equação 13), esteja em um intervalo entre a reação de redução da calcopirita (Equação 14) e da reação de oxidação da calcocita (Equação 15), as quais ocorrem concomitantemente e estão descritas a seguir:



É possível perceber que os trabalhos citados interpretam os íons ferrosos como agentes responsáveis simplesmente pela manutenção de um potencial que seja adequado à redução da calcopirita para a formação de intermediários menos refratários. Entretanto, estudos realizados por Bryson et al. (2016) apresentam uma visão um pouco mais abrangente desse controle por relacionarem o potencial do meio com as propriedades semicondutoras da calcopirita que seriam, na verdade, as reais causadoras da refratariedade desse sulfeto mineral. De forma resumida, o potencial dentro do intervalo acima discutido proporcionaria uma deformação nas bandas de condução e valência da calcopirita e facilitaria o transporte eletrônico. Nessa mesma linha de estudos relacionados aos íons ferrosos, um trabalho recente realizado por Zhao et al. (2017), utilizando ensaios de lixiviação química, XPS e técnicas eletroquímicas, afirma que tais íons não são capazes de interagir diretamente com a calcopirita sendo que, mesmo nos meios com potenciais controlados, uma parcela desses íons se oxida a íons férricos e ataca a superfície da calcopirita. Como essa superfície está imersa em uma solução cujo potencial está dentro da faixa ótima, o processo de solubilização alcança taxas de extração consideráveis sem a geração de um excesso de íons férricos que poderiam precipitar na forma de jarositas.

O tema é bastante complexo e ainda são necessários estudos mais

aprofundados para elucidar exatamente como os íons ferrosos, o potencial de oxirredução e as características semicondutoras atuam sobre a refratariedade da calcopirita. Seguimos evoluindo neste entendimento e contribuindo com a literatura (ARENA et al., 2016; DELFINO, BEVILAQUA, BENEDETTI, 2017; PERES et al. submetido à Hydrometallurgy, 2020).

Ainda seguindo na busca por alternativas mais eficientes de biolixiviar a calcopirita propusemos o uso de genética clássica para induzir mutações em uma das linhagens de nossa coleção, a *At. ferrooxidans*-LR (COSTA et al., 2018). A manipulação genética é uma ferramenta moderna, mas de difícil aplicação para os organismos acidófilos oxidantes de ferro e enxofre. O primeiro trabalho que relatou a transformação direta foi realizado dentro do convenio Vale/UNESP, coordenado pelo Prof. Oswaldo (CHRIST et al., 2011)

Alguns autores mostraram que mutantes de bactérias acidófilas, inclusive o *At. ferrooxidans*, selecionadas por radiação ultravioleta, micro-ondas, sulfato dietílico (DES), nitrosoguanidina e nitrito de sódio (NaNO<sub>2</sub>) influenciaram positivamente os processos de biolixiviação (CHI et al., 2009)

A pressão seletiva realizada pela radiação UV resultou em mutantes que apresentaram respostas diferenciadas perante a cinética de consumo de suas fontes energéticas em comparação à linhagem selvagem LR. Os resultados indicaram que houve uma contribuição favorável quanto à capacidade de biolixiviação pelas bactérias quando submetidas à radiação UV, incentivando o uso de ferramentas da genética clássica como instrumento para o estudo e aprimoramento de micro-organismos biolixiviantes.

Retomando um antigo projeto do grupo, investigamos a biodessulfurização do carvão contendo enxofre pirítico em escala de bancada. Este trabalho fez parte de um convenio com a Carbonífera Cambui. O processo de biolixiviação aplicado na amostra de carvão foi capaz de reduzir quase que totalmente o enxofre em sua forma pirítica presente no mineral, utilizando-se os micro-organismos nativos. A biolixiviação para a remoção de enxofre pirítico demonstrou ser uma rota alternativa de tratamento ao carvão mineral ambientalmente mais adequada (PEREIRA, 2016).

A convite do Dr. Ivan Nancuqueo, na época investigador do Instituto Tecnológico da Vale – Desenvolvimento Sustentável (ITV-DS) em Belém do Pará estabelecemos um convenio entre a UNESP e o ITV e iniciamos um estudo da dissolução redutiva de minérios por *At. ferrooxidans*. Esta é uma abordagem completamente oposta àquela que sempre foi o objeto de nosso grupo. Ao invés de estudarmos os processos oxidativos gerados na presença da bactéria, passamos a investigar os processos redutivos.

As bactérias acidófilas catalisam a redução dissimilatória dos íons férricos como consequência do seu uso como receptor de elétrons em ambientes limitados de oxigênio ou anoxigênicos em pH baixo. Os microrganismos acidófilos incluem uma diversidade considerável quanto à assimilação de carbono e outros compostos (JOHNSON; HALLBERG, 2009).

O processo de recuperação de metais por meio de processo bio-redutivo usando microrganismos acidófilos é um tema de investigação científica recente que tomou relevância na aplicação em lateritas de níquel no grupo de pesquisa de Barrie Johnson na Universidade de Bangor no Reino Unido em conjunto com outros pesquisadores como Kevin Hallberg, Chris Du Plessis. Trata-se de uma linha de pesquisa praticamente inexplorada no Brasil, sendo, portanto, de grande relevância para a indústria de mineração na aplicação do processo em materiais de tipo recalcitrante e que não podem ser processados por aquecimento como a pirometalurgia. Iniciamos essa parceria com o ITV-DS estudando o processo redutivo anaeróbico em uma dissertação de mestrado (CASTELBLANCO, 2016) com recuperação de alguns metais associados, fosfatos e terras raras, mas o processo dependia do número de células presentes no processo, o qual foi reduzido drasticamente nos primeiros dez dias de operação, sendo necessário fornecer uma fonte de CO<sub>2</sub> para o crescimento anaeróbico do microrganismo para melhorar as condições de operação. Assim, a disponibilidade de CO<sub>2</sub> é essencial para o desenvolvimento das condições ótimas para o crescimento do microrganismo, redução dos íons férricos e a consequente solubilização de metais associados.

Alguns estudos têm demonstrado o potencial do microrganismo *At. ferrooxidans* para a dissolução redutiva de minerais oxidados de ferro, tipicamente goethita, pois facilita a recuperação de metais associados como

níquel, cobre e manganês em uma proporção maior do que possa ser alcançado por processos oxidativos. Como destacado anteriormente, *At. ferrooxidans* é uma bactéria acidófila, autotrófica obrigatória que pode crescer com uma variedade de compostos inorgânicos de enxofre, íons ferrosos, hidrogênio molecular ou ácido fórmico. Este microrganismo sempre foi considerado como sendo um organismo obrigatoriamente aeróbio, no entanto, sob condições anaeróbias, os íons férricos podem substituir o oxigênio como aceptor de elétrons para a oxidação de enxofre elementar (DU PLESSIS et al., 2011; HALLBERG et al., 2011).

Este estudo está tendo continuidade com a tese de doutorado de Milena Nova Castelblanco (mesma estudante que desenvolveu o mestrado no tema), que estuda o efeito da concentração de bicarbonato de sódio como fonte de CO<sub>2</sub> no crescimento anaeróbio da mesma cultura pura de *At. ferrooxidans*, usando enxofre como fonte de energia de maneira a avaliar sua capacidade para reduzir íons férricos de um minério de ferro, visando sua otimização na recuperação de metais de interesse associados.

Os artigos e temas de pesquisa apresentados neste texto tiveram o propósito de demonstrar a diversificação do tema nas várias frentes de trabalho com diferentes focos que são abrangidos por nossas pesquisas durante minha carreira.

O recente capítulo de livro, intitulado Biomineração, que faz parte da nova edição da coleção de Biotecnologia Industrial (BEVILAQUA, 2019) traz os aspectos básicos do processo, além das aplicações recentes nas várias possibilidades da biomineração.

## **IV.2. Bioprocessos aplicados ao meio ambiente**

O primeiro projeto que foi aprovado para meu grupo de pesquisa após a minha contratação foi para estudar o tratamento de odores e compostos orgânicos voláteis utilizando biofiltro percoladores (PROPE – Pró-reitoria de pesquisa). Este projeto pretendeu dar continuidade à cooperação científica com a Universidade de Cádiz, com o grupo do Prof. Domingo Cantero e onde a aluna Renata de Belo Solcia havia feito a parte experimental de seu projeto de mestrado por um ano dentro do projeto

Alfa-BIOPROAM. Neste primeiro trabalho foi utilizado uma cultura pura inicialmente de *Thiobacillus denitrificans* em um biofiltro de bancada preenchido com espuma de poliuretano (open pore poliurethane -OPP). O biogás era gerado em um sistema auxiliar ao lado do biofiltro. Os resultados foram muito promissores com a publicação de um artigo no Biochemical Engineering Journal (SOLCIA et al., 2014).

O estudo teve continuidade apoiado pela aprovação de um edital Universal do CNPq. Primeiramente com a colaboração de uma empresa cervejeira de Araraquara, onde foi instalado o biofiltro percolador. O biogás gerado no processo de digestão anaeróbia da estação de tratamento de efluentes da cervejaria alimentava o biofiltro percolador em escala de laboratório, em condições anóxicas. Um consórcio de micro-organismos nitrato-redutores e sulfeto-oxidantes obtido a partir do lodo anaeróbio do mesmo reator anaeróbio foi imobilizado sobre espuma de poro aberto de poliuretano. Os avanços deste trabalho foram: (a) utilizar como alimentação do biofiltro um sistema real, produzido a partir da estação de tratamento anaeróbio da empresa, contendo muitas impurezas e flutuações de diferentes naturezas como temperatura e carga de entrada e concentração de sulfeto no gás; (b) operar o reator em condições anóxicas e utilizar consórcio microbiano obtido a partir do lodo anaeróbio do reator UASB da empresa para desenvolver a comunidade microbiana oxidante de enxofre. E com todas essas novas variáveis em relação ao projeto anterior, ainda obter uma porcentagem de remoção de 98% (GUERRERO; BEVILAQUA, 2015).

Seguimos evoluindo nos estudos, desta vez com o suporte de um auxílio individual à pesquisa, FAPESP em 2015. Novos suportes foram testados para serem uma alternativa à espuma aberta de poliuretano, que apesar de apresentar resultados muito satisfatórios em todas as condições utilizadas nos estudos anteriores e em trabalhos de outros grupos de pesquisa, é importada e com um custo muito elevado para uma aplicação comercial do biofiltro percolador. Foram testados diferentes suportes (PVC, PET, Teflon® e OPP para comparação). Os suportes de PVC e PET apresentaram eficiência de remoção similar ao OPP, embora essa última apresentasse maior área superficial e biomassa imobilizada do que os outros suportes testados (HIDALGO et al., 2017).

Um biofiltro de bancada, nas mesmas dimensões do equipamento montado na cervejaria, desta vez preenchido com tiras de PVC, mostrou-se capaz de realizar o tratamento do biogás da estação de tratamento de esgotos de Matão (CSM). Alcançou com tempo de residência de 1,6 min, porcentagem de eliminação de H<sub>2</sub>S de aproximadamente 90%. As medidas de biogás nas alturas do biorreator mostraram que quase toda remoção de contaminante acontece no início do reator, indicando que ele tem potencial para tratar cargas muito maiores de contaminante. Uma comparação entre os sistemas testados por nosso grupo até aqui foram publicados recentemente (TAYAR et al., 2019).

A parceria com a Itatijuca e com o Dr. Mauricio Cesar Palmieri nos deu a oportunidade de sermos colocados diante de situações reais vivenciadas pelas empresas, que buscavam alternativas para alguns de seus problemas ambientais. Desta cooperação três patentes foram depositadas como resultados de três trabalhos acadêmicos. A primeira patente, depositada em 2016, foi resultado do trabalho de iniciação científica do aluno do curso de bacharelado em Química, Samir Prioto Tayar, intitulada “Método de processamento de terras raras mediante bioextração indireta” propôs uma sequência de etapas para a produção de ácido biogênico para solubilização de terras raras em fosfogesso, no qual obteve-se uma recuperação de 98% para o praseodímio e 60% para os demais elementos terras raras presentes no fosfogesso. A produção bacteriana do ácido é alcançada em condições amenas, sem a necessidade do alto gasto energético e do custo de uma planta para geração de ácido sulfúrico convencional (TAYAR et al., 2016).

O segundo depósito de patente foi resultado da dissertação de mestrado co-orientada por mim no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e desenvolvida pelo aluno Ailton Guilherme Rossoni de Toledo em 2018. O trabalho intitulado “Adsorventes encapsulados e método de remoção e recuperação de íons metálicos de efluentes”, utilizando tal adsorvente foi desenvolvido como patente. Esta patente propõe um adsorvente encapsulado, com eficiência e baixo custo, potencialmente útil para tratamento de efluentes industriais, contaminado com metais, como os produzidos pela indústria de mineração (TOLEDO et al., 2018).

A tese de doutorado orientada por mim no programa de Pós-graduação em Química, desenvolvida pelo aluno Sikandar Syed Shah dentro do programa TWAS do CNPq propiciou o depósito da nossa terceira patente intitulada “Processo de biorrecuperação de alumínio a partir de bauxita”. Neste trabalho descrevemos um processo de biorrecuperação de alumínio a partir de bauxita como uma alternativa ao tradicional processo Bayer. Em temperatura e pressão ambientes, sem a geração de resíduos que impactem significativamente o meio ambiente, e, portanto, mais sustentável que o processo tradicional (SHAH et al., 2019).

Nosso mais recente trabalho na temática ambiental fez parte do pós-doutoramento da Dra. Rachel Bianchalana Costa, que desenvolveu o projeto intitulado “Influência de doadores de elétrons para a recuperação de sulfetos metálicos a partir de drenagem ácida de minas” (Processos FAPESP 2016/13603 -3 e 2018/01524-7). Como fruto desse trabalho foram submetidos artigos com os resultados, incluindo o seu período com bolsa BEPE na Irlanda junto ao grupo do Prof. Piet Lens.

## V. REFERÊNCIAS

- ABRÃO, A. Química e Tecnologia das Terras-Raras. Rio de Janeiro: CETEM/CNPq, 1994.
- ACEVEDO, F. Present and future of bioleaching in developing countries. **Electronic Journal of Biotechnology**. v. 5, n. 2, p. 196–199, 2002.
- ARENA, F. A.; SUEGAMA, P. H.; BEVILAQUA, D.; SANTOS, A. L. A.; FUGIVARA, C. S.; BENEDETTI, A. V. Simulating the main stages of chalcopyrite leaching and bioleaching in ferrous ions solution: An electrochemical impedance study with a modified carbon paste electrode. **Minerals Engineering**. v. 92, p. 229–241, 2016.
- AHMADI, A.; SCHAFFIE, M.; PETERSEN, J.; SCHIPPERS, A.; RANJBAR, M. Conventional and electrochemical bioleaching of chalcopyrite concentrates by moderately thermophilic bacteria at high pulp density. **Hydrometallurgy**. v. 106, p. 84-92, 2011.
- AHMADI, A.; RANJBAR, M.; SCHAFFIE, M.; PETERSEN, J. Kinetic modeling of bioleaching of copper sulfide concentrates in conventional and electrochemically controlled systems. **Hydrometallurgy**, v. 127, p. 16-23, 2012.
- AKCIL, A.; DEVECI, H. Mineral Biotechnology of Sulphides. In: Jain, S.K.; Khan, A.A.; Rai, M.K. (Ed.) **Geomicrobiology**. New York: CRC Press, Cap. 4, p. 101-137, 2010.
- BANIASADI, M. et al. Advances in bioleaching as a sustainable method for metal recovery from e-waste: A review. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 76, p. 75-90, 2019
- BASHLYKOVA, T. V. et al. Method of processing phosphogypsum with extraction of rare-earth elements and phosphorus: RU2457267-C2; RU2010143835-, Depósito: 26 Out. 2010
- BATTY, J. D.; RORKE, G. V. Development and commercial demonstration of the BioCOP™ thermophile process. **Hydrometallurgy**, v. 83, n. 1–4, p. 83–89, 2006.
- BRAY, E. Bauxite and Alumina. Mineral Commodity Summaries; Reston, VA, 2020, p.33.
- BEVILAQUA, D. et al. Oxidation of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 4, p. 587–592, 2002.
- BEVILAQUA, D. et al. Characterization of bornite (Cu<sub>5</sub>FeS<sub>4</sub>) electrodes in the presence of the bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 14, n. 4, p. 637–644, 2003.
- BEVILAQUA, D. et al. Oxidative dissolution of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* analyzed by electrochemical impedance

spectroscopy and atomic force microscopy. **Bioelectrochemistry**, v. 64, n. 1, p. 79–84, 2004.

BEVILAQUA, D.; GARCIA Jr, O. Oxidación de sulfuros de cobre por *Acidithiobacillus ferrooxidans*: análisis de los productos de las fases líquidas y sólidas. F. Acevedo, J. C. Gentina, (Eds.) Fundamentos y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras - Valparaíso, Chile, p. 63-77. Ediciones Universitarias de Valparaíso, ISBN: 9561703734, 2005.

BEVILAQUA, D. et al. Electrochemical noise analysis of bioleaching of bornite ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 83, n. 1–4, p. 50–54, 2006.

BEVILAQUA, D.; ACCIARI, H. A.; BENEDETTI, A. V.; GARCIA JÚNIOR, O. Electrochemical techniques used to study bacterial-metal sulphides interactions. In: E. Donati; W. Sand, (Eds.) Microbial processing of metal sulphides – Dordrecht, Netherlands, p. 59-76. Editorial Springer-Verlag, 2007.

BEVILAQUA, D.; GARCIA Jr. O. Microrganismos, minerais e metais. I. S. de Melo, J. L. de Azevedo, (Eds.) Microbiologia Ambiental – Jaguariúna, Brasil, p. 50-81. 2ª edição ISBN: 9788585771447, 2008.

BEVILAQUA, D. et al. Utilization of electrochemical impedance spectroscopy for monitoring bornite ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Minerals Engineering**, v. 22, p. 254-262, 2009.

BEVILAQUA, D.; GARCIA, O.; TUOVINEN, O. H. Oxidative dissolution of bornite by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 1, p. 101–106, 2010.

BEVILAQUA, D.; SUEGAMA, P.H.; GARCIA JÚNIOR, O.; BENEDETTI, A. V. Electrochemical studies of sulphide minerals in the presence and absence of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. In: Biohydrometallurgy processes: a practical approach, p. 133-157 ed. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2011.

BEVILAQUA, D. et al. Effect of Na-chloride on the bioleaching of a chalcopyrite concentrate in shake flasks and stirred tank bioreactors. **Hydrometallurgy**, v. 138, p. 1–13, 2013.

BEVILAQUA, D. et al. Bacterial and chemical leaching of chalcopyrite concentrates as affected by the redox potential and ferric/ferrous iron ratio at 22 °C. **International Journal of Mineral Processing**, v. 132, p. 1–7, 2014.

BEVILAQUA, D. Biomineração. In: Lima, U. A.(ed.) **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Blucher, 2019. v. 3, cap. 17, p. 547-572.

BILAL, M.; SHAH, J.A.; ASHFAQ, T.; GARDAZI, S. M. H.; TAHIR, A. A.; PERVEZ, A.; HAROON, H.; MAHMOOD, Q. Waste biomass adsorbents for copper removal from industrial wastewater—a review. **Journal of**

**Hazardous Materials**, v. 263, p. 322-333, 2013.

BOON, M. The mechanism of 'direct' and 'indirect' bacterial oxidation of sulphide minerals. **Hydrometallurgy**, v. 62, p. 67-70, 2001.

BRIERLEY, C. L.; BRIERLEY, J. A. Progress in bioleaching: Part B: Applications of microbial processes by the minerals industries. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 17, p. 7543–7552, 2013.

BRYSON, L. J.; ASWEGEN, A. V.; KNIGHTS, B.; CRUNDWELL, F. K. Investigation of the Mechanism of Dissolution of Chalcopyrite using Photo-Effects. **Hydrometallurgy Conference 2016: Sustainable Hydrometallurgical Extraction of Metals**; Cape Town, 1–3 August 2016; Southern African Institute of Mining and Metallurgy.

CASTELBLANCO, M. N. Dissolução redutiva de minério de ferro por *Acidithiobacillus ferrooxidans* para a recuperação de metais de interesse, 2016, 121f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química, 2016.

CHI, R.; HUANG, X.; XIAO, C.; WU, Y.; ZHANG, W. Bioleaching of soluble phosphorus from rock phosphate containing pyrite with DES-induced *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Journal of Central South University of Technology**, v. 16, n. 5, p. 758-762, 2009.

CHRIST, A. P. G.; ALEXANDRINO, F.; OTTOBONI, L. M. M.; GARCIA JR, O. Processo de modificação genética de bactérias acidófilas e construção de um vetor de transformação.VALE S. A.; UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA; UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS (Brasil BRPI 1100418-5, 18 fev. 2011, 21 maio 2013.

COLMER, A.R., HINKLE, M. E.The role of microorganisms in acid mine drainage. **Science**, v. 106, n. 2751, pp. 253-256, 1947.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução Nº 430, de 13 de maio de 2011: dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a resolução Nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 de maio de 2011, n. 92, p. 89.

COSTA, M. A.; CANEVESI, R. L. S.; Palmieri, M.C.; SILVA, E. A.; BEVILAQUA, D., UV-Irradiated Strain of Improved Copper Bioleaching in Chalcopyrite. **Journal of Environmental Engineering**, v.144, p.04018064, 2018.

COTTON, S. **Lanthanide and Actinide Chemistry**. Chippenham: John Wiley & Sons, 2006.

DE SOUSA FILHO, P. C.; SERRA, O. A. Rare earths in brazil: historical aspects, production, and perspectives. **Quimica Nova**, v. 37, n. 4, p. 753-U251, 2014.

- DEBERNARDI, G.; CARLESI, C. Chemical-electrochemical approaches to the study passivation of chalcopyrite. **Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review**, v. 34, n. 1, p. 10–41, 2013.
- DELFINO, F. A. A. et al. EIS studies of chalcopyrite involving iron(II) ions. **Solid State Phenomena**, v. 262, p. 496-500, 2017.
- DESHUSSES, M. A. Application of immobilized cells for air pollution control. **Cleaning air Naturally**, v. 8B, n. 5, p. 507-526, 2005.
- DESHUSSES, M. A.; GABRIEL, D. Biotrickling filter technology. *In*: SHAREEFDEEN, Z.; SINGH, A. S. **Biotechnology for odor and air pollution control**. Berlin: Springer, Cap. 7, p. 146-167, 2005.
- DREISINGER, D. Copper leaching from primary sulfides: Options for biological and chemical extraction of copper. **Hydrometallurgy**, v. 83, n. 1–4, p. 10–20, 2006.
- DU PLESSIS, C. A. et al. Ferredox: a biohydrometallurgical processing concept for limonitic nickel laterites. **Hydrometallurgy**, v. 109, n. 3, p. 221-229, 2011.
- FU, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 3, p. 407-418, 2011.
- GABRIEL, D., AND DESHUSSES, M. A. Retrofitting existing chemical scrubbers to biotrickling filters for H<sub>2</sub>S emission control. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 100, 6308–6312, 2003.
- GARCIA JUNIOR, O. Isolation and purification of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans* from some coal and uranium mines of Brazil. **Revista de Microbiologia**, v. 22, n. 1, p. 1-6, 1991.
- GHAHREMANINEZHAD, A.; DIXON, D. G.; ASSELIN, E. Kinetics of the ferric-ferrous couple on anodically passivated chalcopyrite (CuFeS<sub>2</sub>) electrodes. **Hydrometallurgy**, v. 125–126, p. 42–49, 2012.
- GÓMEZ, J. M., CANTERO, D. Hydrogen sulfide removal from gaseous effluents. **Microbial Processing of Metal Sulfides**, p. 287-309, 2007.
- GU, G. et al. The stepwise dissolution of chalcopyrite bioleached by *Leptospirillum ferriphilum*. **Electrochimica Acta**, v. 103, p. 50–57, 2013.
- GUERRERO, R. B. S.; BEVILAQUA, D. Biotrickling Filtration of Biogas Produced from the Wastewater Treatment Plant of a Brewery. **Journal of Environmental Engineering**, v. 141, n. 8, p. 04015010, ago. 2015.
- GUPTA, C.K., KRISHNAMURTHY, N. Extractive metallurgy of rare-earths. **International Materials Reviews**, v. 37, p. 197-248, 1992.
- GUPTA, V. K.; ALI, I.; SALEH, T. A.; NAYAK, A.; AGARWAL, S. Chemical treatment technologies for waste-water recycling—an overview. **RSC**

**Advances**, v. 2, n. 16, p. 6380-6388, 2012.

GUERRERO, Renata de Bello Solcia. Biodessulfurização do biogás gerado no processo de digestão anaeróbia da estação de tratamento de efluentes de uma indústria cervejeira. 2015. 102 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química, 2015.

HALLBERG, K. B. et al. Reductive dissolution of ferric iron minerals: a new approach for bio-processing nickel laterites. **Minerals Engineering**, v. 24, n. 7, p. 620-624, 2011.

HE, H. et al. Sulfur speciation on the surface of chalcopyrite leached by *Acidianus manzaensis*. **Hydrometallurgy**, v. 99, n. 1-2, p. 45-50, 2009.

HIDALGO, L. F. et al. Evaluation of substrate consumption kinetics in different support material for biotrickling filters aiming biogas desulfurization. **Solid State Phenomena**, v. 262, p. 682-686, 2017.

HIROYOSHI, N.; MIKI, H.; HIRAJIMA, T.; TSUNEKAWA, M. A model for ferrous promoted chalcopyrite leaching. **Hydrometallurgy**, v. 57, n. 1, p. 31-38, 2000.

HIROYOSHI, N. et al. A new reaction model for the catalytic effect of silver ions on chalcopyrite leaching in sulfuric acid solutions. **Hydrometallurgy**, v. 63, n. 3, p. 257-267, 2002.

HIROYOSHI, N.; KUROIWA, S.; MIKI, H.; TSUNEKAWA, M.; HIRAJIMA, T. Synergistic effect of cupric and ferrous ions on active-passive behavior in anodic dissolution of chalcopyrite in sulfuric acid solutions. **Hydrometallurgy**, v. 74, n. 1-2, p. 103-116, 2004.

HIROYOSHI, N. et al. Improved chalcopyrite leaching through optimization of redox potential. **Canadian Metallurgical Quarterly**, v. 47, n. 3, p. 253-256, 2008.

HIROYOSHI, N.; KITAGAWA, H.; TSUNEKAWA, M. Effect of solution composition on the optimum redox potential for chalcopyrite leaching in sulfuric acid solutions. **Hydrometallurgy**, v. 91, n. 1-4, p. 144-149, 2008.

HORTA, D. G. et al. Optimization of the use of carbon paste electrodes (CPE) for electrochemical study of the chalcopyrite. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1734-1738, 2009a.

HORTA, D. G. et al. The effect of chloride ions and *Acidithiobacillus ferrooxidans* on the oxidative dissolution of the chalcopyrite evaluated by electrochemical noise analysis (ENA). **Advanced Materials Research**, v. 71-73, p. 397-400, 2009b.

HYVÄRINEN, O.; HÄMÄLÄINEN, M. HydroCopper™ - A new technology

producing copper directly from concentrate. **Hydrometallurgy**, v. 77, n. 1–2, p. 61–65, 2005.

HUANG, Y.; ZHANG, Y.; ZHAO, H.; ZHANG, Y.; XIONG, Y.; ZHANG, L.; ZHOU, J.; WANG, J.; QIN, W.; QIU, G. Bioleaching of chalcopyrite-bornite and chalcopyrite-pyrite mixed ores in the presence of moderately thermophilic microorganisms. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 12, n. 11, p. 10493-10510, 2017.

IŞILDAR, A. et al. Biotechnological strategies for the recovery of valuable and critical raw materials from waste electrical and electronic equipment (WEEE) – A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 362, p. 467–481, 2019.

JOHANSSON, C., SHRADER, V., SUISSA, J., ADUTWUM, K., KOHR, W. Use of the GEOCOAT™ process for the recovery of copper from chalcopyrite. **Process Metallurgy**; p. 569-576, 1999.

JOHNSON, D. B.; HALLBERG, K. B. Carbon, iron and sulfur metabolism in acidophilic microorganisms. **Advances in Microbial Physiology**, v. 54, p. 201-255, 2009.

JOHNSON, D. B. Reductive dissolution of minerals and selective recovery of metals using acidophilic iron- and sulfate-reducing acidophiles. **Hydrometallurgy**, v. 127–128, p. 172–177, 2012.

JOHNSON, D. B. Biomining-biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 30, p. 24–31, 2014.

JOHNSON, D. B.; GRAIL, B. M.; HALLBERG, K. B. A new direction for biomining: Extraction of metals by reductive dissolution of oxidized ores. **Minerals**, v. 3, n. 1, p. 49–58, 2013.

KAKSONEN, A. H.; PUHAKKA, J. A. Sulfate reduction based bioprocesses for the treatment of acid mine drainage and the recovery of metals. **Engineering in Life Sciences**, v. 7, n. 6, p. 541–564, 2007.

KAPDI, S. S.; VIJAY, V.K.; RAJESH, S. K.; PRASAD, R. Biogas scrubbing, copression and storage. **Renew energy**, v. 30, p. 1195-1202, 2005.

KENNES, C.; RENE, E. R.; VEIGA, M. C. Bioprocesses for air pollution control. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 84, n. 10, p. 1419–1436, 2009.

KINNUNEN, P. H. M. et al. Chalcopyrite concentrate leaching with biologically produced ferric sulphate. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 14, p. 1727–1734, 2006.

KLAUBER, C. A critical review of the surface chemistry of acidic ferric sulphate dissolution of chalcopyrite with regards to hindered dissolution. **International Journal of Mineral Processing**, v. 86, n. 1–4, p. 1–17,

2008.

KUMARI, A. et al. Process development to recover rare earth metals from monazite mineral: A review. **Minerals Engineering**, v. 79, p. 102-115, 2015.

LÁZARO, I.; MEDINA, N. M.; RODRÍGUES, I.; ARCE, E.; GONZÁLES, I. The use of carbon paste electrodes with non-conducting binder for the study of minerals: chalcopyrite. **Hydrometallurgy**, v. 38, p. 277-2878, 1995.

LI, Y. et al. A review of the structure, and fundamental mechanisms and kinetics of the leaching of chalcopyrite. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 197-198, p. 1-32, 2013.

LIU, H. C.; XIA, J. L.; NIE, Z. Y. Relatedness of Cu and Fe speciation to chalcopyrite bioleaching by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 156, p. 40-46, 2015.

LUNDSTRÖM, M.; AROMAA, J.; FORSÉN, O. Improved chalcopyrite leaching through optimization of redox potential. **Canadian Metallurgical Quarterly**. v. 48, p. 253-258, 2009.

MAJUSTE, D.; CIMINELLI, V.S.T.; OSSEO-ASARE, K.; DANTAS, M.S.S.; MAGALHÃES-PANIAGO, R. Electrochemical dissolution of chalcopyrite: Detection of bornite by synchrotron small angle X-ray diffraction and its correlation with the hindered dissolution process. **Hydrometallurgy**. v.111, p. 114-123, 2012.

MALDANER, L. S.; MARINHO, F. A. M. Field Methodology for Quantifying Methane Oxidation in a Landfill Cover. *In: The ISWA World Solid Waste Congress*, Florence. The ISWA World Solid Waste Congress. p. 1-10, 2012.

MARTINS, T. S.; ISOLANI, P. C. Rare earths: Industrial and biological applications. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 111-117, 2005.

MASAKI, Y. et al. Microbiological Redox Potential Control to Improve the Efficiency of Chalcopyrite Bioleaching. **Geomicrobiology Journal**, v. 35, n. 8, p. 648-656, 2018.

MONCAYO, G. Dimensioning, design and construction of biodigesters and biogas plant. **Practical handbook of design**, Aqualimpia Beratende Ingenieure, Germany, 763, 2008.

NANCUCHEO, I.; JOHNSON, D. B. Selective removal of transition metals from acidic mine waters by novel consortia of acidophilic sulfidogenic bacteria. **Microbial Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 34-44, 2012.

NEVES, C. A. R.; LIMA, T. M. Sumario Mineral. **MINERAL**, D. N. D. P. Brasília: DNPM: 141 p. 2014.

PERES, R. N. et al. Chalcopyrite dissolution process: electrochemical and

surface characterisation. Submetido a Hydrometallurgy, 2020.

PAULINO, L. C. et al. Molecular characterization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *A. thiooxidans* strains isolated from mine wastes in Brazil. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 80, n. 1, p. 65–75, 2001.

PEREIRA, L. F. Dessulfurização microbiana de carvão contendo enxofre pirítico em escala de bancada, 2016. 91F. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química, 2016.

PERIASAMY, K.; NAMASIVAYAM, C. Removal of copper (II) by adsorption onto peanut hull carbon from water and copper plating industry wastewater. **Chemosphere**, v. 32, n. 4, p. 769-789, 1996.

PETERSEN, J.; DIXON, D. G. Thermophilic heap leaching of a chalcopyrite concentrate. **Minerals Engineering**, v. 15, n. 11, p. 777–785, 2002.

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

PRADHAN, N. et al. Heap bioleaching of chalcopyrite: A review. **Minerals Engineering**, v. 21, n. 5, p. 355–365, 2008.

PRIYA, A.; HAIT, S. Comparative assessment of metallurgical recovery of metals from electronic waste with special emphasis on bioleaching. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 8, p. 6989–7008, 2017.

QIN, W.; YANG, C.; LAI, S.; WANG, J.; LIU, K.; ZHANG, B. Bioleaching of chalcopyrite by moderately thermophilic microorganisms. **Bioresource Technology**. v. 129, p. 200-208, 2013.

QU, Y.; LIAN, B. Bioleaching of rare earth and radioactive elements from red mud using *Penicillium tricolor* RM-10. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 16-23, 2013

ROMERO, R. et al. Copper recovery from chalcopyrite concentrates by the BRISA process. **Hydrometallurgy**, v. 70, n. 1–3, p. 205–215, 2003.

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

SANDSTRÖM, Å.; SHCHUKAREV, A.; PAUL, J. XPS characterisation of chalcopyrite chemically and bio-leached at high and low redox potential. **Minerals Engineering**, v. 18, p. 505-515, 2005.

SANTOS, A. L. A. et al. Effect of redox potential on chalcopyrite dissolution imposed by addition of ferrous ions. **Ecletica Química**, v. 42, n. 1, p. 40–50, 2017.

SASAKI, K. et al. Raman characterization of secondary minerals formed during chalcopyrite leaching with *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 95, n. 1–2, p. 153–158, 2009.

SCHIPPERS, A. Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification. In: Donati, E.R.; Sand, W. (Eds). **Microbial Processing of Metal Sulfides**, Netherlands, Springer, Section I, p.3–34, 2008.

SHAH, SYED SIKANDAR. Bioleaching of low grade bauxite using a variety of fungal strains and low-cost glucose as energy source, 2018. 98f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química, 2018.

SHAH, S. S; BEVILAQUA, D.; SPONCHIADO, S.R.P.; Palmieri, M.C. Processo de biorrecuperação de alumínio a partir de bauxita. In: INPI, (Ed.) UNESP, Brasil BR 10 2019 003102 6, Depósito 15 fev 2019,

SIMATE, G. S.; NDLOVU, S. Acid mine drainage: Challenges and opportunities. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 3, p. 1785–1803, 2014.

SOLCIA, R. B. et al. Hydrogen sulphide removal from air by biotrickling filter using open-pore polyurethane foam as a carrier. **Biochemical Engineering Journal**, v. 84, p. 1–8, 2014.

TAYAR, S.P., PALMIERI, M.C., BEVILAQUA, D. Método de processamento de terras raras mediante bioextração indireta. In: INPI, (Ed.) UNESP, Brasil BR1020160117712. Depósito 24 maio 2016.

TAYAR, S. et al. Evaluation of Biogas Biodesulfurization Using Different Packing Materials. **ChemEngineering**, v. 3, n. 1, p. 27, 2019.

TOLEDO, A. G. R. Biossorção de Cu(II) por biomassa de fungo *Aspergillus nidulans* na forma livre e encapsulada em membrana de celulose, 2018. 89f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química, 2018.

TOLEDO, A.G.R.; SPONCHIADO, S.R.P.; PALMIERI, M.C.; BEVILAQUA, D.; ANDRADE, J.C.R. 2019. Adsorvente encapsulado e método de remoção e recuperação de íons metálicos em efluentes utilizando referido adsorvente. In: INPI, (Ed.) UNESP, Brasil BR 10 2018 071260 8. Depósito 16 out 2018.

VALE. A bactéria que vale bilhões. Disponível em: <<http://www.vale.com/brasil/PT/initiatives/innovation/copper-eating-bacteria/Paginas/default.aspx>>. Acesso em: 20 dez. 2017.

THIRD, K. A.; CORD-RUWISCH, R.; WATLING, H. R. The role of iron-oxidizing bacteria in stimulation or inhibition of chalcopyrite bioleaching. **Hydrometallurgy**, v. 57, n. 3, p. 225–233, 2000.

- THIRD, K. A.; CORD-RUWISCH, R.; WATLING, H. R. Control of the redox potential by oxygen limitation improves bacterial leaching of chalcopyrite. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 78, n. 4, p. 433-441, 2002.
- VERA, M.; SCHIPPERS, A.; SAND, W. Progress in bioleaching: Fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation-part A **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 7529-7541, 2013.
- VIJAYARAGHAVAN, K.; YUN, Y. Bacterial biosorbents and biosorption. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 3, p. 266-291, 2008.
- VILCÁEZ J.; SUTO K.; INOUE, C. Bioleaching of chalcopyrite with thermophiles: temperature pH-ORP dependence. **International Journal of Mineral Processing**, v. 88, n. 1/2, p. 37-44, 2008.
- WANG, S. Copper leaching from chalcopyrite concentrates. **Jom**, v. 57, n. 7, p. 48–51, 2005.
- WATLING, H. R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides - A review. **Hydrometallurgy**, v. 84, n. 1–2, p. 81–108, 2006.
- WATLING, H. Microbiological advances in biohydrometallurgy. **Minerals**, v. 6, n. 2, 2016.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for drinking-water quality. 4th ed. Geneva, 2011. 541 p.
- XIA, J. LAN et al. Investigation of the sulfur speciation during chalcopyrite leaching by moderate thermophile *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. **International Journal of Mineral Processing**, v. 94, n. 1–2, p. 52–57, 2010.
- XIAN, Y. J. et al. Leaching chalcopyrite with sodium chlorate in hydrochloric acid solution. **Canadian Metallurgical Quarterly**, v. 51, n. 2, p. 133–140, 2012.
- ZHAO, H.; WANG, J; YANG, C.; HU, M.; GAN, X.; TAO, L.; QIN, W.; QIU, G. Effect of redox potential on bioleaching of chalcopyrite by moderately thermophilic bacteria: an emphasis on solution compositions. **Hydrometallurgy**, v. 151, p. 141-150, 2015.
- ZHAO, H.; WANG, J.; TAO, L.; CAO, P.; YANG, C.; QIN, W.; QIU G. Roles of oxidants and reductants in bioleaching system of chalcopyrite at normal atmospheric pressure and 45 °C. **International Journal of Mineral Processing**, v. 162, p. 81–91, 2017.