

SAMIR PRIOTO TAYAR

Produção biológica de ácido sulfúrico e seu emprego na extração de terras raras de fosfogesso

Tese apresentada ao Instituto de Química,  
Universidade Estadual Paulista, como parte  
dos requisitos para obtenção do título de  
Doutor em Química

Orientadora: Profa. Dra. Denise Bevilaqua

Araraquara

2022

T236p      Tayar, Samir Prioto  
Produção biológica de ácido sulfúrico e seu emprego  
na extração de terras raras de fosfogesso / Samir Prioto  
Tayar. -- Araraquara, 2022  
109 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista  
(Unesp), Instituto de Química, Araraquara  
Orientadora: Denise Bevilaqua

1. Biorreatores. 2. Ácido sulfúrico. 3. Tecnologia de  
bioprocessos. 4. Lixiviação bacteriana. 5. Terras raras. I.  
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca  
do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA TESE: "Produção biológica de ácido sulfúrico e seu emprego na extração de terras raras de fosfogesso"

**AUTOR: SAMIR PRIOTO TAYAR**

**ORIENTADORA: DENISE BEVILAQUA**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. DENISE BEVILAQUA (Participação Virtual)  
Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. MONICA CRISTINA TEIXEIRA (Participação Virtual)  
Departamento de Farmácia / Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP - Ouro Preto

Profa. Dra. RACHEL BIANCALANA COSTA (Participação Virtual)  
Departamento de Hidráulica e Ambiental / Universidade de São Paulo - USP - São Paulo

Prof. Dr. MARCEL OTÁVIO CERRI (Participação Virtual)  
Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. ELIAS PAIVA FERREIRA NETO (Participação Virtual)  
Instituto de Química - USP - São Carlos

Araraquara, 07 de dezembro de 2022

## DADOS CURRICULARES

### IDENTIFICAÇÃO

Nome: Samir Prioto Tayar

Nascimento: 05/11/1993

Filiação: Semi Tayar Neto e Nelcy Aparecida Prioto

Estado civil: Casado

Email: samir.ptayar@gmail.com

Profissão: Policial Penal do Estado de Santa Catarina

Nome em citações bibliográficas: TAYAR, S. P.

### FORMAÇÃO ACADÊMICA

Bacharel em Química pela Universidade Estadual Paulista Julho de Mesquita Filho, concluído em Dezembro de 2015.

Mestre em Biotecnologia pela Universidade Estadual Paulista Julho de Mesquita Filho, concluído em 2018.

### PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

#### Artigos completos publicados em periódicos:

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. BEVILAQUA, D.. Sulfuric acid bioproduction and its application in rare earth extraction from phosphogypsum. **MINERALS ENGINEERING**, v. 185, p. 107662, 2022.

TOLEDO, A. G. R.; TAYAR, S. P.; ARENA, F. A.; BENEDETTI, A. V.; BEVILAQUA, D. New insights into oxidative-reductive leaching of chalcopyrite concentrate using a central composite factorial design. **MINERALS ENGINEERING**, v. 180, p. 107467, 2022.

TAYAR, S. P.; YESTE, M. P.; RAMÍREZ, M.; CABRERA, G.; BEVILAQUA, D.; GATICA, J. M.; VIDAL, H.; CAUQUI, M. A.; CANTERO, D. Nickel recycling through bioleaching of a Ni/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> commercial catalyst. **HYDROMETALLURGY**, v. 195, p. 105350, 2020.

TAYAR, S. P.; GUERRERO, R.; HIDALGO, L.; BEVILAQUA, D. Evaluation of Biogas Biodesulfurization Using Different Packing Materials. **ChemEngineering**, v. 3, p. 27, 2019.

HIDALGO, L. F. et al. Evaluation of Substrate Consumption Kinetics in Different Support Materials for Biotrickling Filters Aiming Biogas Desulfurization. **Solid State Phenomena**, v. 262, p. 682-686, 2017.

**Trabalhos publicados em anais de congressos científicos:**

HIDALGO, L. F.; SANTOS, J. L.; TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C.; BEVILAQUA, D. Avaliação do consumo de tiosulfato em diferentes suportes para biofiltros percoladores visando a biodessulfurização de biogás. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 2017, São Carlos. Blucher Chemical Engineering Proceedings, 2016. v. 1. p. 1915-1920.

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . Método Alternativo para extração de terras raras a partir de fosfogesso utilizando micro-organismos acidófilos. In: XXVI Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 2015, Poços de Caldas. Encontro Nacional de tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa. São Paulo: Associação Brasileira de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 2015. v. 1. p. 301-308.

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C.; BEVILAQUA, D. Método Alternativo para extração de terras raras a partir de fosfogesso utilizando micro-organismos acidófilos. In: XXVI Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 2015, Poços de Caldas. Livro de Resumos. São Paulo: Associação Brasileira de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 2015. v. 1. p. 64-64.

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . Bioextração de terras raras a partir de fosfogesso por *Acidithiobacillus thiooxidans*. In: 2ª Fase - XXVII Congresso de Iniciação Científica, 2015, Atibaia. Melhores Trabalhos do XXVII CIC, 2015.

**Apresentações de trabalhos/palestras:**

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C.; SARTI, A. ; GUERRERO, R. B. S. ; BEVILAQUA, D. Hydrogen sulfide removal from biogas using biotrickling filter packed with an alternative support material. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; SARTI, A. ; BEVILAQUA, D. . Study of sulfate reduction with low retention time in an anaerobic horizontal fixed-bed bioreactor packed with mineral coal. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . Biossolubilização de terras raras a partir de fosfogesso utilizando *Acidithiobacillus thiooxidans*. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . Método Alternativo para extração de terras raras a partir de fosfogesso utilizando micro-organismos acidófilos. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . Bioextração de terras raras a partir de fosfogesso por *Acidithiobacillus thiooxidans*. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . 2ª Fase Bioextração de terras raras a partir de fosfogesso por *Acidithiobacillus thiooxidans*. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

**Patentes:**

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . MÉTODO DE PROCESSAMENTO DE TERRAS RARAS MEDIANTE BIOEXTRAÇÃO INDIRETA. 2016, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10201601177, título: "MÉTODO DE PROCESSAMENTO DE TERRAS RARAS MEDIANTE BIOEXTRAÇÃO INDIRETA" , Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Depositante (s): Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Depósito: 24/05/2016Instituição(ões) financiadora(s): FAPESP.

*Dedico esta tese à minha família!*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela oportunidade de expressar nesta tese todo o trabalho que foi desenvolvido durante os quatro anos e meio de doutorado. Além disso, sou eternamente grato ao apoio e dedicação de minha esposa Karol Sipoli Tayar, que nos maiores e mais difíceis momentos esteve ao meu lado, suportando e incentivando meu trabalho e minhas conquistas, eu te amo. Aos meus filhos Bryan, Aaron, Sol e Flora, agradeço por serem estes filhos maravilhosos que tanto amo –quando estiverem mais velhos lendo este trecho, saibam que tudo o que fiz foi movido pelo amor que sinto por vocês – e que plantaram no meu coração uma forma de amor que nunca imaginei que existisse, o amor de pai. Agradeço à minha família, pai, mãe, irmãs e avós, pelo incentivo que sempre deram e pela educação que me proporcionaram. Como minha mãe na ciência, agradeço a minha orientadora e amiga, Denise Bevilaqua, que sempre esteve disposta a me ensinar e nunca mediu esforços para proporcionar a melhor formação possível, não só minha, mas como de todos seus alunos. Agradeço a CAPES e ao CNPQ (Processo 41025/2018-2) pelo apoio financeiro que tornou possível o desenvolvimento desta tese. Agradeço ao Instituto de Química e a UNESP pela estrutura fornecida e pela acolhida em minha formação desde a graduação até o doutorado.

## RESUMO

O Brasil é um dos países com maiores reservas de terras raras (TR) do mundo, mas não produz estes elementos por falta de tecnologia e impedimentos legais. Uma alternativa com potencial de alteração deste cenário é a extração a partir de resíduos urbanos ou industriais, como por exemplo o fosfogesso, material obtido do processamento da rocha fosfórica para obtenção de fósforo para produção de fertilizantes. Este é um resíduo abundante, que em muitos casos está associado a elementos terras raras, tório e urânio. Considerando que as TR estão presentes no fosfogesso predominantemente na forma de seus respectivos fosfatos, o emprego de ácido sulfúrico é uma forma efetiva de realizar a extração destes elementos. Entretanto, como há necessidade de utilizar grandes quantidades deste reagente, o custo do produto final se torna elevado, o que traz a necessidade de formas alternativas de extração. Neste aspecto, a presente tese apresenta o estudo da produção de ácido sulfúrico por micro-organismos acidofílicos visando a aplicação do ácido produzido na extração de terras raras.

Para isso foi realizada coleta de amostras de drenagem ácida de mina, que foram submetidas a condições de crescimento de micro-organismos acidofílicos a 30 e 65 °C. Posteriormente foram empregados em ensaios de produção de ácido sulfúrico nas duas condições de temperatura e comparados com a produção da *Acidithiobacillus thiooxidans*. Neste experimento foi possível determinar que as três cepas utilizadas produziram 0,17; 0,10 e 0,04 mol H<sup>+</sup> L<sup>-1</sup> em 45 dias. Entretanto, nenhuma das cepas foi capaz de produzir mais do que a *At. thiooxidans*, que alcançou 0,25 mol H<sup>+</sup> L<sup>-1</sup> no mesmo tempo de experimento. Por esse motivo apenas esta bactéria foi utilizada para estudos em reator, no qual foram estudadas dois impelidores na presença e ausência de elementos traço. Neste experimento foi possível determinar que a adição de elementos traço não faz com que seja produzido mais ácido ao final, mas acelera a produção inicial e reduz a fase lag de crescimento. O emprego do impelidor do tipo hélice naval resultou na maior produção de ácido sulfúrico ao final do experimento.

O ácido produzido foi empregado na extração de terras raras do fosfogesso que na condição de biolixiviação *two-step* apresentou rendimento de 98% para neodímio e ≈ 60% para demais elementos TR. As formas de controle desta condição mostraram que o consumo ácido do fosfogesso eleva o pH do meio e prejudica o metabolismo da bactéria, o que resulta na menor produção de ácido da biolixiviação *one-step*. Após

lixiviados, os elementos TR foram submetidos a precipitação com ácido oxálico concentrado, resultando na recuperação de 60% do total de TR presentes em 300 g de fosfogesso, mas concentrados em 0,92 g de oxalatos de terras raras, provando a eficácia do processo apresentado.

**Palavras-chave:** Bioprodução de ácido, ácido sulfúrico, bioprocessos, biolixiviação, terras raras, fosfogesso, biorreatores.

## ABSTRACT

Brazil is one of the countries with the largest rare earth (TR) reserves in the world, but does not produce these elements due to lack of technology and legal impediments. An alternative with the potential to change this scenario is the extraction from urban or industrial waste, such as phosphogypsum, material obtained from the processing of phosphoric rock to obtain phosphorus for the production of fertilizers. This is an abundant residue, which in many cases is associated with rare earth elements, thorium and uranium. Considering that REE are predominantly present in phosphogypsum in the form of their respective phosphates, the use of sulfuric acid is an effective way to extract these elements. However, as there is a need to use large amounts of this reagent, the cost of the final product becomes high, which brings the need for alternative forms of extraction. In this aspect, this thesis presents the study of the production of sulfuric acid by acidophilic microorganisms aiming at the application of the acid produced in the extraction of rare earths.

For this, acid mine drainage samples were collected, which were subjected to growth conditions for acidophilic microorganisms at 30 and 65 °C. Subsequently, they were used in tests of sulfuric acid production under the two temperature conditions and compared with the production of *Acidithiobacillus thiooxidans*. In this experiment it was possible to determine that the three strains used produced 0,17; 0,10 and 0,04 mol H<sup>+</sup> L<sup>-1</sup> in 45 days. However, none of the strains was able to produce more than *At. thiooxidans*, which reached 0.25 mol H<sup>+</sup> L<sup>-1</sup> in the same experiment time. For this reason, only this bacterium was used for reactor studies, in which two impellers were studied in the presence and absence of trace elements. In this experiment it was possible to determine that the addition of trace elements does not produce more acid at the end, but accelerates the initial production and reduces the lag phase of growth. The use of a naval propeller type impeller resulted in the highest production of sulfuric acid at the end of the experiment.

The acid produced was used in the extraction of rare earths from phosphogypsum, which in the two-step bioleaching condition showed a yield of 98% for neodymium and ≈ 60% for other RE elements. The ways of controlling this condition showed that the acidic consumption of phosphogypsum raises the pH of the medium and impairs the metabolism of the bacteria, which results in less acid production in the one-step bioleaching. After leaching, the TR elements were subjected to precipitation with

concentrated oxalic acid, resulting in the recovery of 60 % of the total REE present in 300 g of phosphogypsum, but concentrated in 0,92 g of rare earth oxalates, proving the effectiveness of the process proposed.

**Keywords:** Acid bioproduction, sulfuric acid, bioprocess, bioleaching, rare earth, phosphogypsum, bioreactors.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismos de reações aeróbicas e anaeróbicas da <i>At. ferrooxidans</i> . ...	21
Figura 2 - Valores de pH durante os experimentos de biolixiviação modo <i>single-step</i> e <i>two-step</i> e seus respectivos controles.....	30
Figura 3 - Aplicação dos metais terras raras em diversos setores da tecnologia, no ano de 2001. ....	36
Figura 4 - Aplicação dos metais terras raras em diversos setores da tecnologia, no ano de 2011. ....	37
Figura 5 - Aplicação dos metais terras raras em diversos setores da tecnologia, no ano de 2021. ....	38
Figura 6 - Produção, em toneladas, de terras raras por cada país. ....	39
Figura 7 - Reservas, em toneladas, de terras raras por cada país.....	40
Figura 8 - Modelo de economia linear. ....	41
Figura 9 - Modelo de economia circular. ....	42
Figura 10 - Diferentes maneiras de fechar o ciclo da economia circular aplicada à mineração.....	43
Figura 11 - Esquema de processamento da rocha fosfática para produção de ácido fosfórico e fertilizantes.....	45
Figura 12 - Pilha de descarte de fosfogesso na Rússia com mais de 80 metros de altura e 100 hectares de área coberta, em 2014.....	46
Figura 13 – Representação ilustrativa dos experimentos realizados durante o período do doutorado. ....	53
Figura 14 - Ilustração representativa do reator de tanque continuamente agitado e seus componentes. ....	61
Figura 15 - Ilustração representativa dos ensaios de biolixiviação em frasco. ....	64
Figura 16 - Difratograma de Raios-X do fosfogesso (amostra original).....	67
Figura 17 - Valores de pH durante o primeiro enriquecimento em condições mesofílicas, sem adição (A) e com adição de elementos traço (B). ....	72
Figura 18 - Valores de pH durante o primeiro enriquecimento em condições termofílicas, sem adição (A) e com adição de elementos traço (B).....	74
Figura 19 - Valores de pH e concentração de íons H <sup>+</sup> obtidos pela MdS-D1, MdS-Ds, MdS-F3 e <i>At. thiooxidans</i> sob condições mesofílicas durante 42 dias de experimento em escala de frasco.....	76

Figura 20 - Valores de pH e concentração de íons H <sup>+</sup> obtidos pela MdS-D1, MdS-Ds, MdS-F3 e <i>At. thiooxidans</i> sob condições termofílicas durante 26 dias de experimento em escala de frasco.....	79
Figura 21 - Valores de pH durante o experimento de produção de ácido sulfúrico por diferentes lâminas agitadoras na presença e ausência de elementos traço. ....	83
Figura 22 - Valores de pH durante o experimento de biolixiviação de terras raras nos modos <i>one-step</i> , <i>two-step</i> , <i>spent medium</i> e seus respectivos controles. As setas pretas representam adições de ácido sulfúrico comercial. ....	86
Figura 23 - Concentração total de terras raras dissolvidas nos experimentos de biolixiviação <i>one-step</i> , <i>two-step</i> , <i>spent medium</i> e seus respectivos controles. O dia zero das variações <i>two-step</i> indicam a adição do fosfogesso à solução ácida. ....	88
Figura 24 - Concentrações individuais dos elementos terras raras solubilizados, determinadas por ICP-OES, no experimentos de biolixiviação <i>one-step</i> , <i>two-step</i> , <i>spent medium</i> e seus respectivos controles.....	92
Figura 25 - Influência da densidade de polpa na extração de terras raras de fosfogesso, no processo de biolixiviação <i>two-step</i> a pH igual a 0,6.....	94

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de operações com bio-oxidação em tanque continuamente agitado. ....	28
Tabela 2 - Raios iônicos dos elementos terras raras no estado de oxidação 3+. ....	33
Tabela 3 - Composição do meio 9K. ....	57
Tabela 4 - Composição da solução de elementos traço e concentração final após diluição no meio de cultura. ....	58
Tabela 5 – Descrição dos experimentos de produção de ácido sulfúrico em reator de tanque agitado. ....	62
Tabela 6 – Descrição dos experimentos de biolixiviação de terras raras realizados em frascos Erlenmeyers. ....	65
Tabela 7 - Resultado da análise de composição química do fosfogesso por ICP-OES. ....	69
Tabela 8 - Concentração de elementos terras raras presentes no fosfogesso determinada por ICP-MS. ....	70
Tabela 9 - Consumo ácido do fosfogesso a pH igual a 2,0. ....	71
Tabela 10 - Resumo dos dados de extração de terras raras, pH inicial e pH final em cada uma das condições testadas em frascos Erlenmeyers. ....	90
Tabela 11 - Análise quantitativa de fases cristalinas realizada por método de Rietveld. ....	96

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	17
2. Revisão Bibliográfica.....	19
2.1. Biomineração.....	19
2.1.1. Biolixiviação .....	19
2.1.2. Bio-oxidação .....	25
2.1.3. Bioprodução de ácidos.....	28
2.2. Terras raras .....	31
2.2.1. Aplicações dos elementos terras raras .....	33
2.2.2. Mercado e reservas mundiais de terras raras .....	38
2.3. Economia circular e Mineração urbana .....	40
2.4. Fosfogesso .....	44
2.5. Biolixiviação de terras raras .....	46
2.5.1. Por fungos.....	47
2.5.2. Por bactérias .....	48
2.6. Influência de impelidores no cultivo bacteriano .....	50
3. Objetivos gerais .....	52
3.1. Objetivos específicos.....	52
4. Materiais e métodos.....	53
4.1. Caracterização do fosfogesso .....	53
4.1.1. Difração de Raios-X (DRX) .....	54
4.1.2. Composição química.....	54
4.1.3. Consumo ácido .....	54
4.2. Metodologia analítica aplicada aos experimentos de biolixiviação .....	55
4.2.1. Medidas de pH e concentração de H <sup>+</sup> em solução .....	55
4.2.2. Quantificação de terras raras totais.....	55
4.2.3. Quantificação de terras raras por ICP-OES .....	56
4.3. Cultivo e manutenção dos micro-organismos.....	56
4.3.1. Meio de cultura 9K .....	56
4.3.2. Meio 9K suplementado com elementos traço .....	57
4.4. Micro-organismos utilizados .....	58
4.5. Enriquecimento dos consórcios coletados em Canaã dos Carajás.....	59
4.5.1. Cultura mesofílica para produção de ácido sulfúrico.....	59

4.5.2.	Cultura termofílica para produção de ácido sulfúrico .....	60
4.6.	Produção de ácido sulfúrico em escala de frasco .....	60
4.7.	Produção de ácido sulfúrico em reator batelada .....	60
4.8.	Biolixiviação de terras raras em escala de frasco.....	62
4.9.	Influência da densidade de polpa na biolixiviação de terras raras.....	65
4.10.	Lixiviação de terras raras em escala de reator e precipitação dos elementos lixiviados.....	66
5.	Resultados e Discussão.....	67
5.1.	Caracterização do fosfogesso .....	67
5.1.1.	Difração de Raios-X.....	67
5.1.2.	Composição química.....	68
5.1.3.	Consumo ácido .....	70
5.2.	Enriquecimento dos consórcios coletados em Canaã dos Carajás .....	71
5.2.1.	Condição mesofílica para produção de ácido sulfúrico .....	71
5.3.	Determinação da capacidade de produção de ácido sulfúrico .....	76
5.5.	Produção de ácido sulfúrico em reator de tanque agitado .....	83
5.6.	Biolixiviação de terras raras .....	85
5.7.	Influência da densidade de polpa na extração de terras raras .....	94
5.8.	Lixiviação, precipitação de terras raras e análise de Rietveld .....	95
6.	Conclusões .....	98
7.	Perspectivas futuras.....	100
	REFERÊNCIAS.....	101

## 1. Introdução

O crescimento populacional e o desenvolvimento de novas tecnologias, que muitas vezes são rapidamente substituídas ou descartadas, promovem o aumento do consumo de matérias primas. Até a década de 80 toda extração era feita de fontes não renováveis, entretanto, em 1990 os economistas-ambientalistas britânicos David W. Pearce e R. Kerry Turner propuseram a “economia circular” (Pearce & Turner, 1990).

Este modelo propõe que as fontes naturais sejam convertidas inicialmente em matérias primas para produção de bens de consumo. Entretanto, após o uso, estes bens podem ser convertidos novamente em matérias primas, reduzindo a necessidade de se extrair mais fontes naturais. Como uma forma de reciclagem de latas de alumínio, papel e plástico, esta proposta também pode ser aplicada à resíduos eletrônicos, os chamados *e-wastes*.

Dentre os resíduos eletrônicos mais comuns estão os aparelhos celulares, televisores e computadores, que possuem em sua composição, uma proporção de metais muito superior ao encontrado na natureza. Estes bens de consumo possuem grandes quantidades de ouro, platina, cobre, cobalto, ferro, alumínio e elementos terras raras. Outro resíduo que ganhou destaque na última década é o fosfogesso, um resíduo da extração de fósforo da rocha fosfática, que em muitos casos está associado a elementos como urânio, tório e terras raras (TR). O Brasil é um país com uma das maiores reservas de TR do mundo, mas não produz estes elementos porque grande partes das reservas se encontram em áreas protegidas pela legislação federal, o que reforça o interesse por fontes alternativas.

Entretanto, a extração destes metais de resíduos requer estudos específicos para serem aplicados a cada caso. Especificamente a extração de terras raras do fosfogesso requer o emprego de ácidos e/ou agentes complexantes. Isso ocorre porque, no fosfogesso, as terras raras se apresentam na forma de seus respectivos fosfatos, de forma semelhante ao mineral monazita, e a solubilização destes elementos ocorre necessariamente na presença de ácidos e é potencializada se houver também agentes complexantes no sistema (Rasoulnia *et al*, 2020).

O emprego de ácido sulfúrico comercial para extração de terras raras de fosfogesso é efetivo, entretanto não é economicamente viável, visto que encarece muito o preço do produto final. Por esse motivo, este ácido só é empregado na extração de TR de fontes de alto teor como os concentrados monazíticos. Desta

forma, para poder se extrair estes metais de resíduos como fosfogesso, faz-se necessário o emprego de técnicas menos onerosas como a biolixiviação. Esta consiste no uso de micro-organismos capazes de produzir ácido sulfúrico, agentes oxidantes ou ácidos orgânicos para a extração de metais de interesse de diversas fontes, como minérios ou resíduos.

Estudos com estes micro-organismos focam, em sua maioria, no objetivo final de extração de metais. Entretanto, poucos estudos foram publicados com objetivo de otimizar a produção de ácido sulfúrico. Desta forma, a presente tese abordou a bioprodução de ácido sulfúrico por micro-organismos, visando uma forma alternativa e menos onerosa de produção deste consumível. O ácido produzido também foi empregado em estudos de viabilidade para comprovar a possibilidade de extração destes metais presentes no resíduo chamado fosfogesso.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Biomineração

O termo “biomineração” tem significado amplo que compreende todas as formas de processamento mineral que utilizam micro-organismos no processo todo ou em parte dele. Assim, é um bioprocesso aplicado à mineração - seja na extração dos metais presentes em minérios ou até mesmo em resíduos como lixos eletrônicos. Por ser um termo abrangente, foi destrinchado em seus principais componentes que são: bio-oxidação, biolixiviação e bioprodução de metabólitos aplicáveis à mineração, como o ácido sulfúrico, que segundo Brierley (2008), compõe o bioprocesso genérico chamado de biomineração.

Por ser um termo abrangente, a literatura aborda o termo biomineração de forma ampla que pode ser separada em duas partes: biolixiviação e bio-oxidação (Bosecker, 1997; Rawlings 1997; Ehrlich 2009; Olson *et al.* 2003; Vera *et al.*, 2013). Sendo que a primeira refere-se a processos de extração mineral nos quais o micro-organismo atua extraindo diretamente o metal de interesse do minério. Enquanto na segunda, o micro-organismo atua como oxidante de sulfetos que impedem a extração do metal de interesse por outros processos, como é o caso do minério de ouro em ocorrências associadas a sulfetos metálicos (Brierley, 2008).

#### 2.1.1. Biolixiviação

Um dos conceitos mais modernos de biolixiviação preconiza que ela é a mobilização de cátions metálicos presentes em minérios insolúveis em água, através do emprego de micro-organismos capazes de oxidar e/ou complexar tais elementos (Vera, *et al.*, 2013). Este processo foi amplamente estudado nas últimas duas décadas e seu emprego na indústria da mineração já é realidade. Entretanto, considerando que cada minério ou fonte mineral tem características muito específicas, estudos devem ser realizados para otimizar os parâmetros operacionais para cada situação.

O mecanismo pelo qual a biolixiviação ocorre foi intensamente discutido desde a década de 1990, na qual duas propostas prevaleciam: biolixiviação direta e biolixiviação indireta, discutidas e comparadas por Rossi (1990). O mecanismo da biolixiviação direta propõe que ocorre uma transferência direta de elétrons do sulfeto metálico para a célula aderida à superfície do mineral. Enquanto o mecanismo de biolixiviação indireta propõe que a transferência ocorre através de um agente oxidante de sulfeto metálico ( $\text{Fe}^{3+}$  por exemplo), que é originado pelo metabolismo bacteriano.

Como o mecanismo direto nunca foi demonstrado, pois requer provar a existência de enzimas que atuam como “nano-fios” condutores de elétrons, este mecanismo caiu em desuso. Por outro lado, pesquisas sobre exopolissacarídeos (EPS) mostraram que algumas espécies são capazes de se aderir à superfície celular e otimizar o processo de biolixiviação indireta com íons  $\text{Fe}^{3+}$ . Por esse motivo, a literatura passou a abordar os mecanismos de “biolixiviação de contato”, na qual há a formação de EPS na superfície do mineral, e “biolixiviação sem contato” na qual as bactérias/arqueas/fungos não formam EPS, mas ficam em suspensão no meio de cultura (Sand *et al*, 1995; 2001).

Outra terminologia utilizada em processos de biolixiviação é respectiva ao tipo de bioprocessado adotado, podendo ser em uma ou duas etapas. A biolixiviação em uma etapa, chamada de “*one-step bioleaching*”, consiste em adicionar o micro-organismo ao meio de cultura contendo minério. Enquanto no processo em duas etapas, chamado de “*two-step bioleaching*”, o micro-organismo é submetido a condições ótimas de cultivo para crescimento e produção de metabólitos, e após entrar na fase estacionária, o minério contendo metais de interesse é adicionado à solução. Uma variação deste segundo processo, chamada de “*spent medium bioleaching*”, consiste em crescer o micro-organismo em suas condições ótimas e ao entrar na fase estacionária de crescimento, filtrar a solução (removendo as células e sólidos suspensos), deixando a solução apenas com os metabólitos produzidos, e a esta solução, o minério contendo metais de interesse é adicionado (Qu & Lian, 2013; Tayar *et al*, 2022).

Como é de se esperar, micro-organismos têm papel importante na biolixiviação, e alguns deles se destacam por serem utilizados em grande número de trabalhos científicos e operações industriais. A bactéria acidofílica mesofílica *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*At. ferrooxidans*) foi a mais estudada desde o início e até a data de apresentação desta tese, tem papel de destaque em bioprocessos aplicados à mineração e ao meio ambiente. Ela é um micro-organismos autotrófico obrigatório do tipo quimiolitotrófico, ou seja, retira energia através de reações químicas com minerais. Além disso, ela utiliza como fonte de carbono o dióxido de carbônico atmosférico, é gram-negativa e não esporula. Apesar de ser amplamente empregada em processos aeróbicos, ela também possui a capacidade de crescer em anaerobiose. As duas variações de metabolismo estão representadas na Figura 1. Neste caso, com a ausência do oxigênio, a *At. ferrooxidans* utiliza  $\text{Fe}^{3+}$  como aceptor

final de elétrons para oxidação de enxofre elementar, como apresentado na Equação 1.

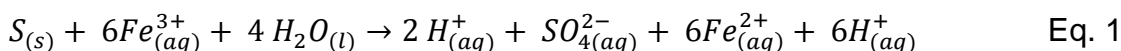
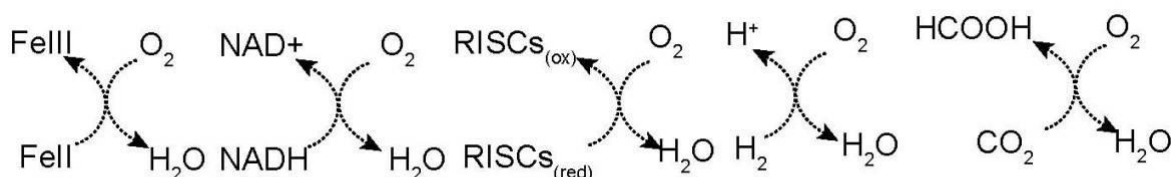
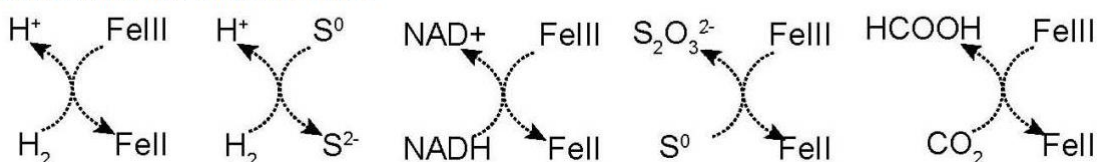


Figura 1 - Mecanismos de reações aeróbicas e anaeróbicas da *At. ferrooxidans*.

### Metabolismo aeróbico



### Metabolismo anaeróbico



Fonte: Valdés *et al*, 2008.

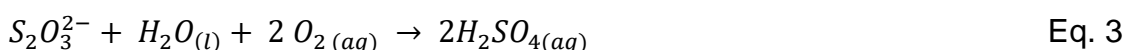
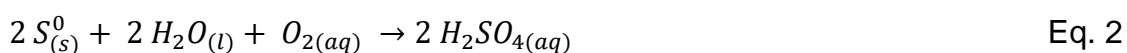
Além dos processos de bio-oxidação em pilha e reator (apresentados na Seção 2.1.2), a *At. ferrooxidans* foi utilizada na biolixiviação de concentrado calcopirítico, na qual foi possível lixiviar 40% do cobre presente com a adição de 300 mmol L<sup>-1</sup> Fe<sup>2+</sup>, e 2,5 % (m/m) de densidade de polpa de uma determinada amostra. Também foi possível extrair até 50% de cobre da segunda fonte de cobre utilizada, com 0,33% (m/m) de densidade de polpa (Bevilaqua, D. *et al*, 2014). Após a oxidação total do ferro a extração de cobre foi interrompida, característica clássica da biolixiviação de concentrado calcopirítico que até hoje é estudada para se obter maiores rendimentos de extração.

Este micro-organismos passou a ser, recentemente, utilizado para biolixiviação de lixo eletrônico, “e-waste” e lixo urbano. Como exemplo desta aplicação, foi o uso para produção de *spent medium* utilizado para lixiviar cobalto e níquel de baterias. Neste caso, o micro-organismo foi crescido em meio basal 9K com adição de sulfato ferroso como fonte de energia. A solução biogênica produzida foi retirada no décimo sexto dia, filtrada e centrifugada a 10.000 rpm por 15 minutos, para aplicação no ensaio de lixiviação. Foi possível extrair até 10 % do cobalto e 27 % do níquel presente na bateria (Nozuri *et al*, 2022).

Até mesmo resíduos industriais podem ser processados pela biolixiviação com o objetivo de se obter metais de fontes não naturais, o que reduz a necessidade de exploração dos recursos não renováveis. Neste aspecto, foi proposto o uso da *At. ferrooxidans* e *At thiooxidans* para lixiviação de níquel de catalizadores de reforma de metano. Após pré-processamento térmico do catalizador e ensaios de biolixiviação do tipo *two-step*, foi possível extrair mais de 94 % de níquel a uma densidade de polpa de 5 % (m/m), que posteriormente foi precipitado na forma de sulfeto de níquel. Este composto foi utilizado como fonte de Ni para confecção de novos catalizadores, que mostraram ser capazes de converter metano a um rendimento de 99%, provando que a reciclagem de resíduos industriais é possível tecnicamente. Entretanto, no momento, é economicamente inviável segundo os autores (Tayar *et al*, 2020).

De forma complementar, é importante mencionar que a *At. ferrooxidans* foi empregada na biolixiviação de outros metais como por exemplo zinco (Wang *et al*, 2006; Rouchalova *et al*, 2020), elementos terras raras (Tian *et al*, 2022), manganês (Wang *et al*, 2022) e chumbo (Rouchalova *et al*, 2020). Devido ao crescimento emprego desta bactéria e ao enorme número de citações de trabalhos científicos nos quais ela foi utilizada, no ano de 2019 foi eleita como “*Microbe of the month*” pela *Trends in Microbiology* (Quatrini & Johnson, 2019).

Outro micro-organismo de extrema importância na biolixiviação é a *Acidithiobacillus thiooxidans*, uma bactéria gram-negativa, autotrófica obrigatória do tipo quimiolitotrófica, usa compostos reduzidos de enxofre (enxofre elementar e tiosulfato) como fonte de energia, como demonstrado pelas Equações 2 e 3 (Kempner, 1966). Além disso, ela utiliza como fonte de carbono o dióxido de carbônico atmosférico e não esporula. Por não ser capaz de oxidar sulfetos metálicos, suas aplicações estão relacionadas principalmente a minerais lixiviáveis com ácido sulfúrico.



Como exemplos de aplicações recentes desta bactéria está a extração de cobalto e níquel através do bioprocesso de produção de ácido sulfúrico chamado de *spent medium bioleaching*. Neste caso, após 22 dias de experimento o pH do meio alcançou valores próximos a 0,7 e então a fonte de metais foi adicionada ao meio de

cultura filtrado. A extração de cobalto alcançou valores próximos a 42 % e de níquel 50% (Noruzi *et al*, 2022).

Um experimento de descontaminação de solo contendo urânio foi realizado utilizando *At. thiooxidans*. Nele, em frascos Erlenmeyers com 150 mL de meio de cultura e 10% (m/v) de densidade de polpa, meio basal 9K com enxofre elementar como fonte de energia, foi possível extrair 45 % do urânio em 150 horas de experimento (Zhuanming *et al*, 2021).

Outra aplicação deste micro-organismos, em conjunto com a *At. ferrooxidans* (proporção 1:1 em volume, após crescimento em frasco) foi a descontaminação de carvão mineral, visando remoção de ferro, manganês e cromo. Neste experimento, as culturas foram crescidas em frascos Erlenmeyers e inoculadas em uma coluna preenchida com carvão mineral. A temperatura da coluna foi controlada por camisa térmica a 30 °C. A solução contendo micro-organismos era fornecida pela parte superior e coletada, por gravidade, pela parte inferior. Após coletada, era bombeada para reator de tanque agitado no qual os parâmetros (pH, Eh, concentrações de metais) eram analisados. Apesar de não determinar a porcentagem de remoção dos elementos estudados, foi possível determinar a concentração destes em solução:  $Fe_{total} \approx 200 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $Cr_{total} \approx 140 \text{ mg L}^{-1}$  e  $Mn_{total} \approx 100 \text{ mg L}^{-1}$  (Chem *et al*, 2021).

Além de bactérias mesofílicas, outra classe que vem sendo cada vez mais estudada dentro da biolixiviação é a das arqueas termofílicas. Os trabalhos que as utilizam argumentam que em operações em maiores escalas – pilhas de biolixiviação e biorreatores – o processo de oxidação de sulfetos metálicos gera energia térmica suficiente para aumentar a temperatura para mais de 60 °C, o que requer sistemas de resfriamento para favorecer o crescimento de mesofílicas, ou então, não resfriar e favorecer o crescimento de termofílicas, reduzindo o custo de operação (Donati *et al*, 2016). Além disso, as arqueas termofílicas têm papel importante no cenário atual de estudos eletroquímicos sobre a existência (ou não) de camada passivadora na biolixiviação, visto que este tipo de micro-organismo não eleva os valores de potencial de oxirredução como as mesofílicas, o que evita a precipitação de jarositas durante o processo de biolixiviação.

Por esse motivo, há crescente interesse pelo estudo de arqueas termofílicas que otimizem a biolixiviação de calcopirita. Castro & Donati (2016) estudaram a adesão celular da arquea *Acidianus copahuensis* na calcopirita, visando otimizar a extração de cobre da refratária calcopirita, e obtiveram quase 100% de extração em

ensaios em frascos Erlenmeyers agitados em incubadora a 65 °C e pH = 2,0. Os autores atribuem o resultado obtido a capacidade deste tipo de micro-organismos em manter baixo o valor do potencial de oxido redução, Eh.

De forma semelhante, as archeas *Acidianus brierleyi* e *Sulfolobus metallicus*, obtidas da *German Collection of Microorganisms and Cell Cultures* (DSMZ), foram aplicadas na biolixiviação de concentrado calcopirítico em frascos Erlenmeyers agitados a 65 °C. Neste estudo foi possível extrair 92 e 75 % do cobre presente, em 12 dias de experimento, dos concentrados de Atacama e Hanaoka, respectivamente, sem a adição de íons férricos ao meio de cultura. Enquanto com a adição de íons férricos ao meio de cultura foi possível lixiviar 100 e 80 % do cobre presente nos concentrados de Atacama e Hanaoka, respectivamente, em 7 dias de experimento (Vilcáez *et al*, 2009).

Além de bactérias e archeas, fungos também podem ser aplicados na biolixiviação de diversos elementos. Por exemplo o *Penicillium tricolor* já foi aplicado na biolixiviação de terras raras presentes em resíduo da extração da bauxita (chamado de *red mud*). Neste estudo, o fungo foi empregado na biolixiviação do tipo *one-step*, *two-step* e *spent medium*, em frascos Erlenmeyers de 250 mL com diferentes densidades de polpa. Dentre os diversos resultados apresentados pelos autores, destaca-se a lixiviação do ítrio na biolixiviação *one-step* com 2% de densidade de polpa, que alcançou aproximadamente 80%, enquanto para este mesmo elemento foi possível extrair 60-65 % para os ensaios de biolixiviação *two-step* e *spent medium* (Qu & Lian, 2013).

Em comparação ao resultado obtido com 10% de densidade de polpa, foi possível observar que o modo *one-step* lixiviou 70% do Ítrio presente, enquanto o *two-step* lixiviou apenas 30%. Isso mostra que para este fungo em específico, a presença do micro-organismo tem papel importante na biolixiviação. Os autores atribuíram isso à produção de metabólitos secundários produzidos em decorrência do crescimento na presença de elementos terras raras, que possivelmente causaram estresse no micro-organismo (Qu & Lian, 2013).

Outro exemplo de biolixiviação com fungos é o trabalho publicado de Shah *et al* (2020), que utilizou *Aspergillus niger* e *Penicillium simplicissium* para biolixiviar alumínio de bauxita de baixo teor. Os fungos foram submetidos a crescimentos sucessivos com aumento do teor de bauxita, visando adaptar os micro-organismos à condição adversa da presença de metais. Após os ensaios de adaptação, foram

inoculados em frascos Erlenmeyer para os ensaios de biolixiviação do tipo *one-step* e *two-step*, nos quais foi possível recuperar 97,47% do Al em 5 dias do ensaio *one-step* e 97,00 % no primeiro dia após incubação no ensaio *two-step*, ambos resultados para o *A. niger*. Para o *P. simplicissimum* foi possível lixiviar 98,35 % do Al no quinto dia de operação no modo *one-step*, e 98,04 % no segundo dia para o modo de biolixiviação *two-step*.

Desta forma, conclui-se que a biolixiviação pode ser realizada tanto por bactérias quanto por arqueas e fungos, e cada micro-organismo apresenta vantagens e desvantagens perante cada modo de operação e cada fonte de metal a ser extraído. Fato esse que reforça a necessidade de se realizar um estudo prévio para cada minério que se pretende processar através da biolixiviação, visando otimizar os resultados e obter parâmetros que auxiliam na ampliação de escala.

### **2.1.2. Bio-oxidação**

Como acima mencionado, o processo de bio-oxidação visa a preparação do minério de interesse para extração, geralmente de metais preciosos, via processos metalúrgicos tradicionais. Esta preparação do minério de interesse é de extrema importância visto que se fora submetido diretamente aos processos tradicionais, o rendimento seria muito reduzido. Segundo Ciminelli (2007), um minério de ouro é considerado refratário quando apresenta uma dissolução abaixo de 80 % no processo de cianetação. Isso ocorre, principalmente, pela presença dos sulfetos metálicos (pirita, calcopirita, arsenopirita, pirrotita, esfarelita), que impermeabilizam o ouro do ataque realizado pelo cianeto, reduzindo drasticamente o rendimento de extração deste metal precioso.

Considerando que é necessário realizar um pré-processo oxidativo para redução dos sulfetos e, por consequência, maior exposição da matriz que contém o ouro, surgem principalmente três possibilidades: ustulação, lixiviação sob pressão e bio-oxidação. A primeira delas é um processo químico que consiste do fornecimento de gás oxigênio a altas temperaturas, que oxida os sulfetos metálicos formando óxidos metálicos, e no caso de minérios de ouro, aumentam a exposição do metal precioso para a cianetação. Este processo apresenta alto custo inicial e de operação, visto que requer condições extremas de trabalho em ambiente altamente oxidante e sob altas temperaturas. Fato este que também consome grandes quantidades energéticas, e

por todos esses motivos, é empregado em casos de minérios de ouro de alto teor, e fica inviabilizado economicamente em minérios de baixo teor.

A segunda possibilidade, lixiviação sob pressão, consiste em submeter o minério refratário de ouro a pressões acima de 700 KPa e 200 °C na presença de O<sub>2</sub>/NaCl/HCl/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Assim, os sulfetos metálicos são lixiviados e o minério de ouro fica exposto para a cianetação. Entretanto, assim como na ustulação, este processo apresenta alto custo inicial e de operação, por também requerer equipamentos altamente resistentes a corrosão mesmo sob pressão e temperatura, além do alto custo energético e de reagentes químicos (Pangum & Brower, 1996).

Desta forma, o interesse em reduzir o custo do pré-processamento de minérios refratários de ouro desperta a busca por alternativas mais baratas, como por exemplo a bio-oxidação, que dentre as três possibilidades é a que apresenta menor custo inicial e de operação. Ela consiste em utilizar micro-organismos oxidantes de sulfetos metálicos, que trabalham sob pressão e temperatura ambientes. A indústria da mineração geralmente realiza a bio-oxidação em duas formas, em pilha ou em reator.

A maneira de menor custo é a bio-oxidação em pilha, que consiste em organizar minérios contendo ouro e sulfetos metálicos em pilhas de 6 a 10 metros de altura. A granulometria das partículas de minério na pilha é de cerca de 1,0-1,5 cm, tamanho necessário para permitir permeabilidade de solução de nutrientes e de aeração. Em alguns casos, a pilha é inoculada com micro-organismos, principalmente as mesofílicas, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum sp* e a termofílica *Sulfobacillus sp*. Em outros casos a pilha não é inoculada e o crescimento de micro-organismos presentes nos minérios acontece naturalmente com o fornecimento de nutrientes (Bhakta & Arthur, 2002).

Na década de 1980 a empresa americana *Newmont Mining Corporation* encontrou minérios de ouro refratário na mina Carlin. Após 12 anos de pesquisa e desenvolvimento, visando implementar técnicas que aumentassem a extração de ouro e reduzisse a refratariedade do minério, a empresa implementou nos anos 2000 o processo chamado de "Gencor BIOX". Este processo realiza o tratamento de concentrado de ouro refratário com micro-organismos oxidantes de sulfetos metálicos, tais como a bactéria na época chamada de *Thiobacillus ferrooxidans*, agora chamada de *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Kelly & Wood, 2000). Sem a bio-oxidação prévia, a extração de ouro era de 23 %, e passou para 60% após o tratamento e por isso chamou a atenção de diferentes mineradoras do mundo (Bhakta & Arthur, 2002). Na

mesma década, esta tecnologia passou a ser utilizada em cinco diferentes minas ao redor do mundo: Fairview – África do Sul; São Bento – Brasil; Harbour Lights – Austrália; Wiluna – Austrália e Ashanti – Gana. Atualmente já foi utilizada em pelo menos 23 minas diferentes.

Uma posterior alteração do processo de bio-oxidação inicialmente proposto foi utilizar reatores de tanque continuamente agitados (CSTR), confeccionados em aço inoxidável, de volume superior a 1380 m<sup>3</sup>. Essa adoção foi possível devido ao preço de mercado do ouro que sofreu elevações no século 21. Os tanques utilizados foram equipados com agitadores mecânicos com capacidade de manter os grãos de minério refratário de ouro em suspensão no meio de cultura contendo micro-organismos oxidantes de sulfetos metálicos. O fornecimento de ar foi realizado por *blowers* na parte inferior dos tanques, antes do agitador. Além disso, os tanques foram equipados com serpentinas de água fria para resfriar a solução durante o processo, visto que a oxidação de sulfetos libera calor. Após 3-5 dias de operação, o minério bio-oxidado foi submetido à cianetação que foi capaz de extrair 95-98 % do ouro presente (Brierley, 2008). São exemplos operacionais de bio-oxidação de ouro em reatores CSTR os apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Exemplos de operações com bio-oxidação em tanque continuamente agitado.

Planta - País	Capacidade projetada (toneladas)
Youanmi - Austrália	120
São Bento - Brasil	380
Harbour Lights – Austrália	40
Wiluna - Austrália	158
Ashanti - Gana	960
Fairview – África do Sul	55
Tamboraque - Peru	60
Beaconsfield - Austrália	70
Suzdal - Cazaquistão	196
Bagoso - Gana	750
Jinfeng - China	790
Laizhou – China	100

Fonte: Adaptado de Brierley, 2008.

### 2.1.3. Bioprodução de ácidos

Este processo está diretamente atrelado à biomineração moderna, mas tem suas raízes na década de 1910, na qual foi descoberta a capacidade de produção de ácido sulfúrico por micro-organismos, o que revolucionou os conceitos da época. (Mclean, 1918). Naquele tempo, ocorreu a oxidação de enxofre e a acidificação de solos de uma região de agricultura nos Estados unidos, a uma velocidade que não poderia ter sido causada por reações químicas, mas sim por biologicamente catalisadas.

Estudos posteriores foram realizados para identificar e isolar o micro-organismo responsável por tal acidificação (Waksman, 1922). Na época, a bactéria foi chamada de *Thiobacillus thiooxidans*, e foi relatado que ela possuía uma capacidade “notável” de suportar ambientes ácidos, além de não necessitar fontes orgânicas de carbono para sobreviver. Com o fornecimento de meio basal simples, contendo apenas fosfato de potássio dibásico, sulfato de amônio, sulfato de magnésio e sulfato ferroso ela foi capaz de crescer, reduzindo o valor de pH que iniciou em 5 para 1,8 em 52 dias de incubação (Waksman & Joffe, 1922).

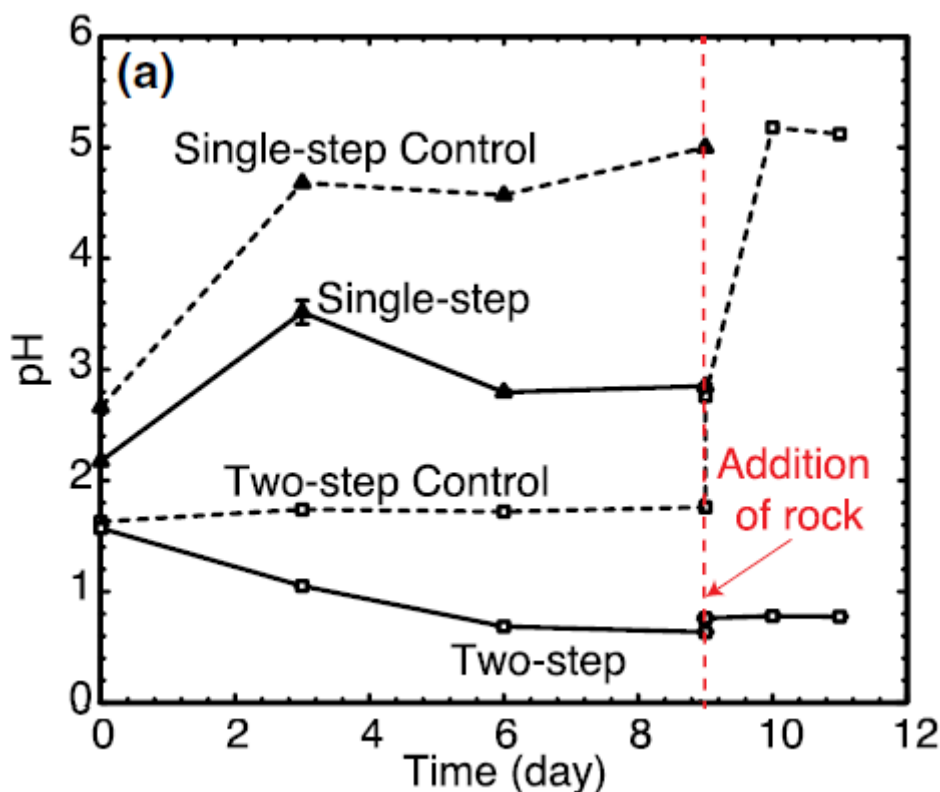
Este comportamento chamou a atenção e após isolada, esta bactéria foi uma das mais estudadas da década em experimentos de disponibilização de fosfatos em solo (Starkey, 1925; Skinner & Nygard, 1930). Décadas depois, outra bactéria foi isolada, mas essa também possuía a capacidade de oxidar compostos reduzidos de ferro, além do enxofre, e igualmente suportar condições extremamente ácidas. Ela foi chamada de *Thiobacillus ferrooxidans* (Temple & Colmer, 1951). A partir desse momento, o foco dos estudos se direcionou para a extração de metais presentes em minérios e não mais para a produção de ácido sulfúrico.

Os estudos com micro-organismos acidofílicos permaneceram direcionados a extração mineral até o segundo milênio, com outra publicação científica que visou otimizar a produção de  $H_2SO_4$  (Liu *et al*, 2003). Neste trabalho, os autores utilizaram a técnica estatística de planejamento fatorial central composto e superfície de resposta para determinar regiões ótimas de produção deste ácido, variando os parâmetros do meio de cultura: concentração de enxofre elementar inicial, fosfato de potássio inicial, sulfato de amônio inicial e sulfato de magnésio inicial. Os resultados obtidos não foram satisfatórios, visto que a superfície de resposta obtida foi plana e não parabólica, o que reflete a escolha de alcances pequenos dos parâmetros estudados ou da não interação dos mesmos na resposta obtida: produção de ácido sulfúrico.

Apesar disso, os autores determinaram que apenas o enxofre elementar inicial influenciou diretamente na produção deste composto e não houve interações entre os parâmetros estudados (componentes do meio de cultura), o que resultou na superfície de resposta plana. A máxima produção de  $H_2SO_4$  obtida foi 38.662 ppm com os parâmetros ( $g L^{-1}$ ):  $KH_2PO_4 = 3,5$ ;  $(NH_4)_2SO_4 = 4,9$ ;  $MgSO_4 = 0,7$ ; e  $S^0 = 23,7$  (Liu *et al*, 2003).

Posteriormente, outro trabalho foi publicado cujo objetivo secundário foi o estudo da produção de ácido sulfúrico para utilizar no objetivo primário, a extração de fósforo de rocha fosfática. No estudo a *At thiooxidans* foi submetida a ensaios de biolixiviação do tipo *single-step* e *two-step*. Neste, após 9 dias a rocha fosfática foi adicionada à solução, enquanto naquele, a fonte de fósforo foi adicionada no início juntamente com o micro-organismo (Figura 2).

Figura 2 - Valores de pH durante os experimentos de biolixiviação modo *single-step* e *two-step* e seus respectivos controles.



Fonte: Adaptado de Calle-Castaneda *et al*, 2018b.

No ensaio *two-step* no qual a bactéria foi cultivada em sua condição ótima, foi capaz de abaixar o valor de pH do meio abaixo para aproximadamente 0,7, e com a adição da rocha fosfática, o pH foi elevado para 0,8 devido ao consumo ácido do mineral. O controle deste experimento, por não haver sido inoculado, permaneceu no pH igual a 1,8 até a adição da rocha fosfática e posteriormente este valor foi elevado para 5,1 devido à ausência do micro-organismo produtor de ácido. Com relação ao experimento *single-step*, o pH que iniciou em 1,8 foi elevado para 3,5 pelo consumo ácido da rocha fosfática, mas devido a atividade microbiológica, foi possível reduzir o valor do pH do meio para 2,5. O controle deste experimento teve seu pH elevado para 5,0 e não houve redução devido à ausência de micro-organismo (Calle-Castaneda *et al*, 2018b).

Nota-se, portanto, que há na literatura poucos trabalhos que avaliaram a possibilidade de se usar o ácido biologicamente produzido na extração de compostos de interesse econômico. Assim, torna-se necessária a realização de estudos que definam parâmetros para otimizar a produção de ácido por esse tipo de micro-

organismo, o que tornaria mais efetivo qualquer uso futuro do ácido biologicamente produzido.

## 2.2. Terras raras

A denominação “terras raras” refere-se ao grupo de 17 elementos, que segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) é composto de 15 lantanídeos (La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu), Sc e Y (Connelly *et al*, 2005). O termo “terras” está relacionado à sua descoberta, que na época foram isolados na forma de seus respectivos óxidos metálicos, assim como os alcalinos terrosos. Enquanto o termo “raras” decorre do fato de serem encontrados em poucos minerais de regiões próximas a Ytterby, na Suécia. Desta forma, o termo “terras raras” gera uma interpretação errônea de que são escassos, pois hoje foram identificadas diversas fontes desses elementos, o que faz com que sejam mais abundantes do que muitos outros metais. Por exemplo o cério é mais abundante do que cobalto e níquel; túlio e lutécio são mais abundantes que ouro e platina (Souza-filho *et al*, 2014).

A descoberta destes elementos se iniciou em 1794 (com o Y) e se finalizou em 1907 (com o Lu). Neste período Mendeleiev estava propondo sua tabela periódica que podia acomodar apenas um elemento lantanídeo, e Alfred Werner propôs que deixasse uma lacuna de 17 elementos entre o bário e o tântalo, pois alguns elementos não haviam sido descobertos ainda (Weeks, 1956). Anos depois, em 1913, Henry Moseley demonstra, através de espectroscopia de raios-X, que há 15 elementos entre o bário e o tântalo, corroborando com o conceito de número atômico. Foi este fato que levou Niels Böhr a interpretar que o orbital  $4f$  acomodaria 32 elétrons ao invés de 18 (Cotton, 2006).

Após a extração dos metais, os químicos da época tinham grande dificuldade em separar os elementos deste grupo. Para purificar o Tm por exemplo, Charles James realizou mais de 15000 recristalizações, obtendo  $Tm(BrO_3)_3$  de alta pureza (James, 1911). Esta grande dificuldade em separar os lantanídeos é decorrente da alta similaridade química presente entre os elementos do grupo, como por exemplo o raio iônico. Por esse motivo, a diferença de solubilidade é pequena e a formação de complexos é muito semelhante. Além disso, a substituição de elementos TR em um retículo cristalino é um fenômeno que ocorre facilmente (Abrão, 1994; Castor *et al*,

2006; Cotton, 2006; Souza-Filho, 2014;). Isso explica a ocorrência de vários elementos terras raras associados em um mesmo mineral.

A grande semelhança entre os elementos deste grupo está também associada ao estado trivalente, apesar de existirem poucos exemplos de exceções derivadas da diminuição progressiva do raio iônico com o aumento do número atômico (Tabela 2). A distribuição eletrônica dos elementos lantanídeos, em seu estado fundamental e neutros, apresentam a forma:  $[Xe] 4f^n, 6s^2, 5d^x$ , com  $0 \leq n \leq 14$  e  $x = 1$  para La, Ce, Gd e Lu, e  $x = 0$  para os demais. Entretanto, a distribuição eletrônica em ordem crescente de número quântico principal é do tipo:  $[Kr] 4d^{10}, 4f^n, 5s^2, 5p^6, 5d^x, 6s^2$ , e o elétron mais energético da distribuição não se encontra na camada mais externa do átomo. Essa é a explicação que faz os lantanídeos serem conhecidos como “elementos de transição interna” (Connelly *et al*, 2005; Souza-Filho, 2014).

Tabela 2 - Raios iônicos dos elementos terras raras no estado de oxidação 3<sup>+</sup>.

Elemento TR	Raio TR <sup>3+</sup> (pm)
Sc	68
Y	89
La	106
Ce	103
Pr	101
Nd	100
Pm	98
Sm	96
Eu	95
Gd	94
Tb	92
Dy	91
Ho	98
Er	88
Tm	87
Yb	86
Lu	85

Fonte: Souza-Filho, 2014.

O aumento do número atômico e conseqüentemente o preenchimento do orbital *4f* provoca a redução do raio iônico, fenômeno conhecido como “contração lantanídica”. Isso ocorre porque o orbital *4f* é interno e possui menor capacidade de blindagem do que os elétrons nos orbitais *s*, *p* e *d*, e o aumento da repulsão eletrônica nesse caso é superado pelo aumento da carga nuclear. Assim, a carga efetiva dos elétrons mais externos que os elétrons *4f* é mais elevada, provocando maior atração sobre os elétrons dos orbitais *5s* e *5p*, e conseqüentemente, a diminuição dos raios iônicos e atômicos (Cotton, 2006; Souza-Filho, 2014).

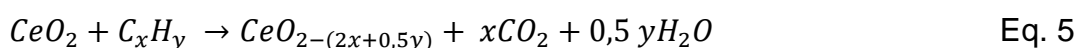
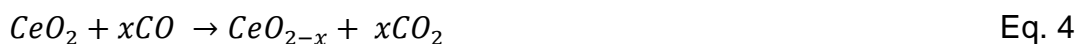
### 2.2.1. Aplicações dos elementos terras raras

Desde a descoberta dos metais terras raras houve várias propostas de aplicações. Uma das primeiras foi a utilização de óxido de cério (1%) em camisas de lâmpião a gás de tório (99%), pelo austríaco Dr. Carl Auer von Welsbach. Essa proposta foi patenteada em 1891 por proporcionar uma maior emissão de luz quando

aquecida, se comparada com as camisas sem este elemento (Haitinger, 1891; Kilbourn, 1993).

Com o aumento da demanda por tório para produção de camisas de lampião a gás, surge a indústria de recuperação de tório de monazita. Entretanto, com a separação do tório, origina-se o *mischmetal*, um subproduto composto por La ( $\approx 25\%$ ), Ce ( $\approx 50\%$ ), Pr ( $\approx 6\%$ ), Nd ( $\approx 15\%$ ) e Fe ( $\approx 3\%$ ). Este subproduto é uma liga metálica obtida pela eletrólise do cloreto da mistura de terras raras a  $850\text{ }^\circ\text{C}$ . O *mischmetal* é um forte redutor, e teve aplicações na produção de ligas metálicas como por exemplo liga de magnésio para componentes aeronáuticos, com maior resistência a pressão. Também é aplicado em ligas de aço para eliminar impurezas de enxofre e oxigênio, proporcionando aço de maior qualidade (Kilbourn, 1993; Souza-Filho, 2014).

Na década de 1980 as terras raras passaram a ser utilizadas na convecção de zeólitas para craqueamento de frações de petróleo, pois fornece estabilização a este tipo de catalizador. Desta forma, passaram a ser largamente aplicados no setor automotivo para redução de emissões de monóxido de carbono,  $\text{No}_x$  e hidrocarbonetos, como descrito nas Equações 4 a 6 (Maestro, 1995; Souza-Filho, 2014; Trovarelli *et al*, 1999;).



A indústria do vidro também utiliza elementos terras raras. Como exemplos de aplicação podem ser citados o cério em vidros oftalmológicos devido à alta capacidade de absorção de radiação ultra violeta. Além disso, Eu-Ce são utilizados na fabricação de óculos escuros (Abrão, 1994; Souza-Filho, 2014). Outro exemplo de aplicação neste tipo de indústria é na confecção de lentes de alta precisão, visto que o lantânio é utilizado para aumentar o índice de refração da lente, possibilitando que uma lente mais fina com este elemento possa ter rendimento equivalente a uma mais espessa sem o lantânio. Vidros com neodímio e praseodímio oferecem bandas de absorção estreitas, o que possibilita o uso em filtros de calibração de equipamentos e óculos de proteção para trabalho com solda (Balaram, 2019; Souza-Filho, 2014).

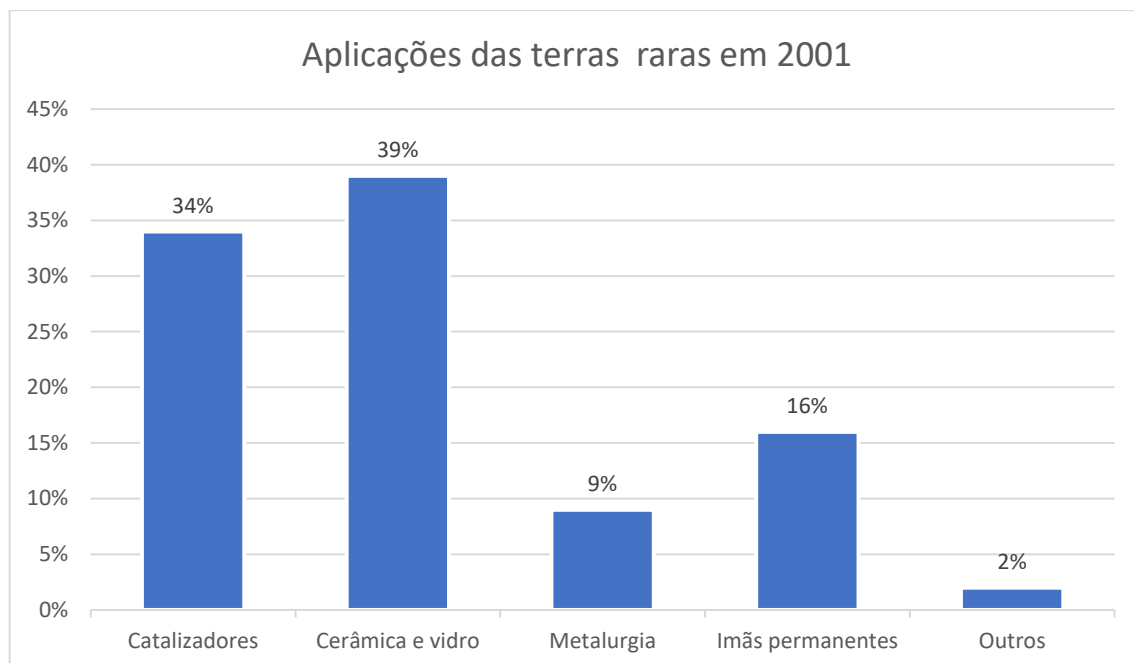
Outro exemplo de aplicação industrial que vem crescendo é a confecção de ímãs permanentes, fato que pode ser verificado pelo crescente depósito de patentes pelo mundo. Dentre os ímãs mais utilizados estão  $\text{SmCo}_5$  e  $\text{Nd}_2\text{Fe}_{14}\text{B}$ , ambos contêm lantanídeos em suas composições e o último é o que apresenta maior campo

magnético específico conhecido. Devido a esta característica, são aplicados em motores, relógios, geradores, microfones, autofalantes, memória de computadores e equipamentos médicos como imagem de ressonância magnética (Balaram, 2019; Coey, 2002; Souza-Filho, 2014; Zezulka *et al*, 2004).

Além dos exemplos acima citados, diversos estudos recentes publicados utilizaram elementos terras raras como inibidores de corrosão, pois são capazes de bloquear o sítio catódico formando uma camada insolúvel de óxido/hidróxido de lantanídeo que é formada continuamente. São diversos os exemplos de estudos nesta área, para diferentes elementos terras raras: Ítrio (Cui *et al*, 2020; Han *et al*, 2019; Zhang *et al*, 2020), cério (Dehghani *et al*, 2020; Wang *et al*, 2019), itérbio (Zou *et al*, 2020), gadolínio (Fedel *et al*, 2020; Kania *et al*, 2019), érbio (Lai *et al*, 2020; Shi *et al*, 2020), samário (Bahremand *et al*, 2021), disprósio (Azzeddine *et al*, 2020), neodímio (Azzeddine *et al*, 2020) e lantânio (Fan *et al*, 2020; Liu *et al*, 2020).

De maneira geral, os elementos terras raras apresentam diversas aplicações que variam com o tempo de acordo com o desenvolvimento de novos produtos, visto que estes metais, na maioria das vezes são aplicados nas mais recentes e inovadoras tecnologias. Por exemplo, em 2001 o destino das terras raras era maior em cerâmica e vidro, com 39%, seguido pelos catalizadores, com 34%. A produção de ímãs permanentes vinha em terceiro lugar, com 16% da destinação destes elementos (Figura 3).

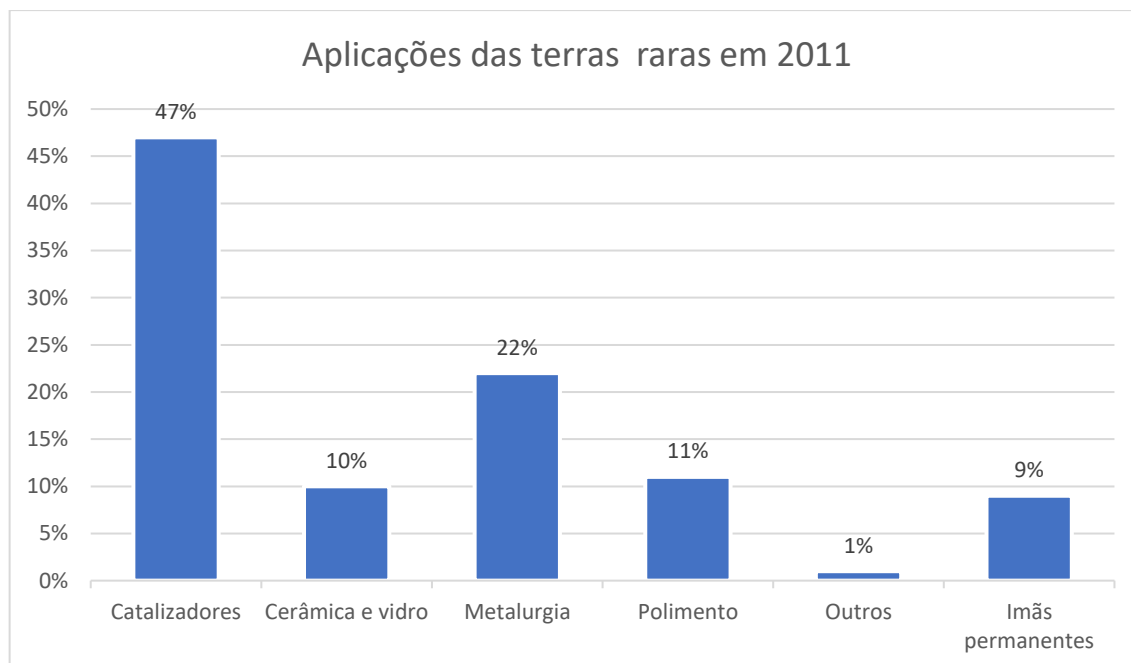
Figura 3 - Aplicação dos metais terras raras em diversos setores da tecnologia, no ano de 2001.



Fonte: Sumário mineral de commodities de 2001, USGS, em: <https://d9-wret.s3.us-west-2.amazonaws.com/assets/palladium/production/mineral-pubs/mcs/mcs2002.pdf>.

Na década seguinte, a destinação de terras raras foi direcionada mais a produção de catalizadores automotivos e de craqueamento de petróleo, com 47% de toda a produção destes elementos destinada a este fim. Em segundo lugar, para a metalurgia foram destinados 22% enquanto a destinação para ímãs permanentes foi reduzida para 9% (Figura 4).

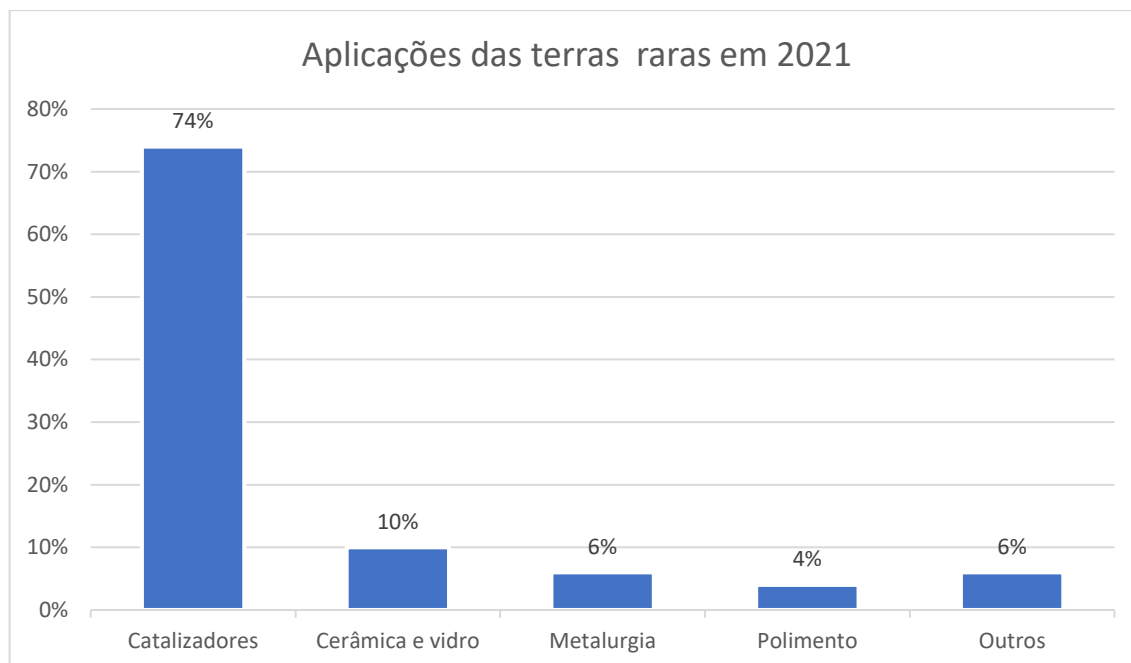
Figura 4 - Aplicação dos metais terras raras em diversos setores da tecnologia, no ano de 2011.



Fonte: Sumário mineral de commodities de 2011, USGS, em: <https://d9-wret.s3.us-west-2.amazonaws.com/assets/palladium/production/mineral-pubs/mcs/mcs2012.pdf>.

E recentemente, no ano de 2021 (Figura 5), observa-se que o setor de catálise ganhou destaque nas aplicações dos elementos terras raras, com 74 % de toda a produção destinada para este fim. A aplicação em cerâmicas utilizou 10 % e a metalurgia 6%. Observa-se que a produção de ímãs permanentes foi reduzida e incorporada em “outros”. Essa grande mudança no mercado mundial acompanha a crescente necessidade de redução de emissões automotivas. Assim, grande parte das terras raras passaram a ser utilizadas em catalizadores automotivos, que segundo as Equações 4 a 6 são capazes de reduzir a emissão de monóxido de carbono, NO<sub>x</sub> e hidrocarbonetos.

Figura 5 - Aplicação dos metais terras raras em diversos setores da tecnologia, no ano de 2021.

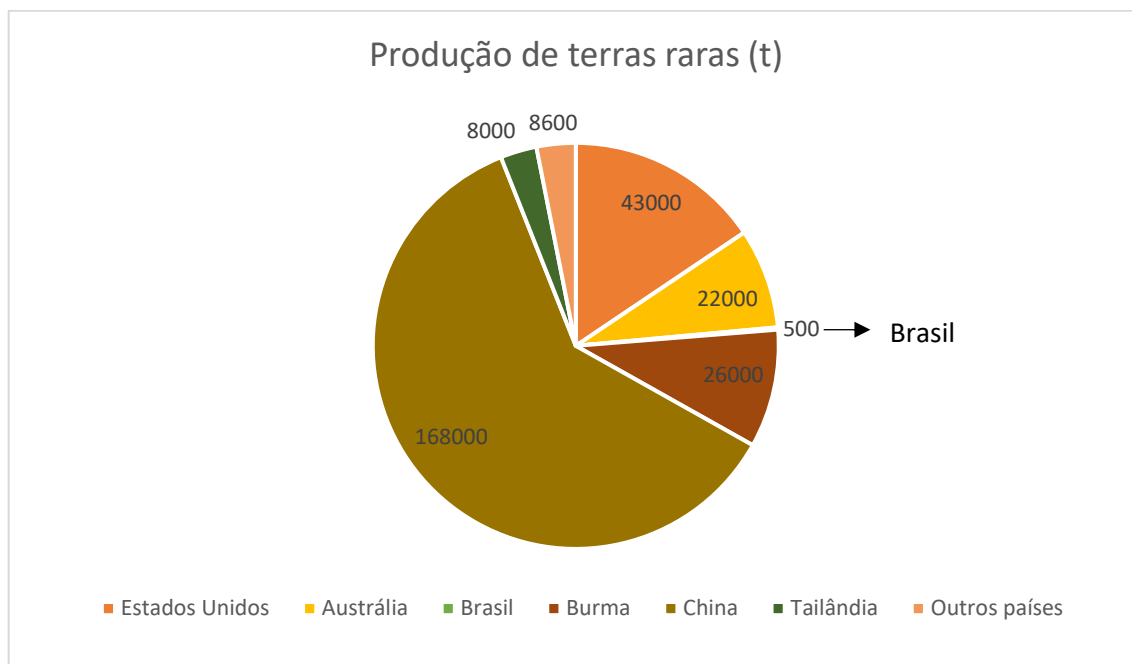


Fonte: Sumário mineral de commodities de 2021, USGS, em: <https://pubs.usgs.gov/periodicals/mcs2022/mcs2022.pdf>.

### 2.2.2. Mercado e reservas mundiais de terras raras

Apesar de não serem escassos como ouro e platina, o fornecimento de elementos terras raras enfrenta problemas políticos. Isso acontece porque o fornecimento mundial de terras raras é dominado pela China, que sozinha produz mais de 70% do montante mundial. Levando-se em consideração que este próprio país consome grande quantidade do que produz, e impõe limites anuais de exportação, pode-se afirmar que tem grande influência no preço de mercado destas commodities (Barnett, 2020). O país que tem a segunda maior produção de terras raras são os Estados Unidos, com 15,3 % do montante mundial. Entretanto, eles consomem quase a totalidade de sua produção, e ainda importam grande quantidade da China, o que gera escassez no mercado mundial. Em terceiro e quarto lugar no ranking de produção está Burma e Austrália, com 9,2 e 7,8 % respectivamente. O Brasil produziu em 2021 apenas 0,18 % (500 toneladas) do montante mundial (280.000 toneladas), e os valores em toneladas produzidos por cada país está apresentado na Figura 6. Nota-se que nesta mesma figura não é possível visualizar graficamente a área de produção do Brasil, visto que a produção é muito pequena, por esse motivo foi destacado na forma escrita.

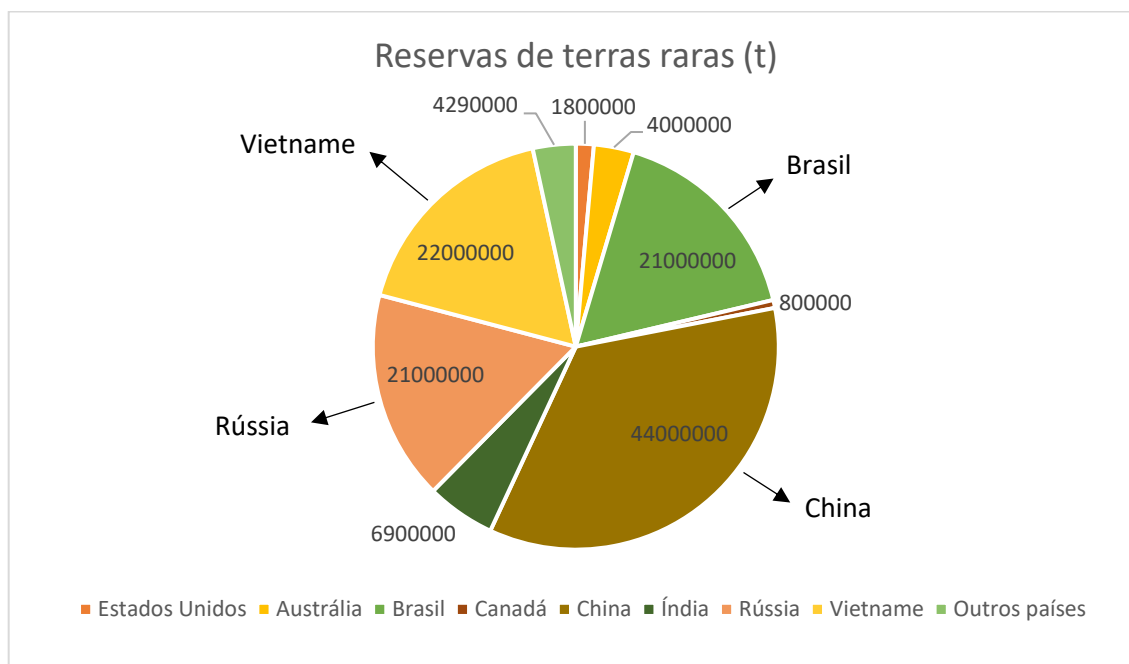
Figura 6 - Produção, em toneladas, de terras raras por cada país.



Fonte: Sumário mineral de commodities de 2021, USGS, em: <https://pubs.usgs.gov/periodicals/mcs2022/mcs2022.pdf>.

Apesar da baixa produção de terras raras, o Brasil possui a terceira maior reserva de terras raras do mundo, empatado com a Rússia, com 21.000.000 toneladas destes elementos (Figura 7). Essa baixa produção está associada às leis ambientais e indígenas que proíbem a extração de minerais em diversas regiões, como por exemplo terras indígenas demarcadas, áreas de proteção permanentes e reservas biológicas (Lei 12.651, de 25 de maio de 2022).

Figura 7 - Reservas, em toneladas, de terras raras por cada país.



Fonte: Sumário mineral de commodities de 2021, USGS, em: <https://pubs.usgs.gov/periodicals/mcs2022/mcs2022.pdf>.

Destaca-se que os Estados Unidos possuem apenas 1,5 % das reservas mundiais e produziram em 2021 15,3 % do montante mundial. Também é importante observar que Burma não possui reservas de terras raras declaradas, e mesmo assim produz 9,2 % de todo montante mundial.

Todos esses dados corroboram para a tese de que o Brasil tem grande potencial para produzir, mesmo que seja para suprir as necessidades nacionais, grande quantidade de metais terras raras. Mas para isso é necessário vencer as barreiras legais presentes que impedem a extração. Como este assunto ocorre no âmbito político, não será aprofundado neste trabalho.

### 2.3. Economia circular e Mineração urbana

O aumento da população e o desenvolvimento de novas tecnologias promove o maior consumo de matérias primas, que, até a década de 80 era extraída em sua totalidade de fontes não renováveis. Entretanto, em 1990 os economistas-ambientalistas britânicos David W. Pearce e R. Kerry Turner propuseram em um artigo científico a “economia circular” (Pearce & Turner, 1990).

Neste trabalho, os autores criticaram o modelo de economia linear praticado amplamente pela maioria dos países do mundo. Este modelo propõe que os recursos naturais são extraídos para gerar matéria prima que é destinada a produção de bens de consumo para a população e para as indústrias. Após consumidos, os produtos geram resíduos que são descartados (Figura 8).

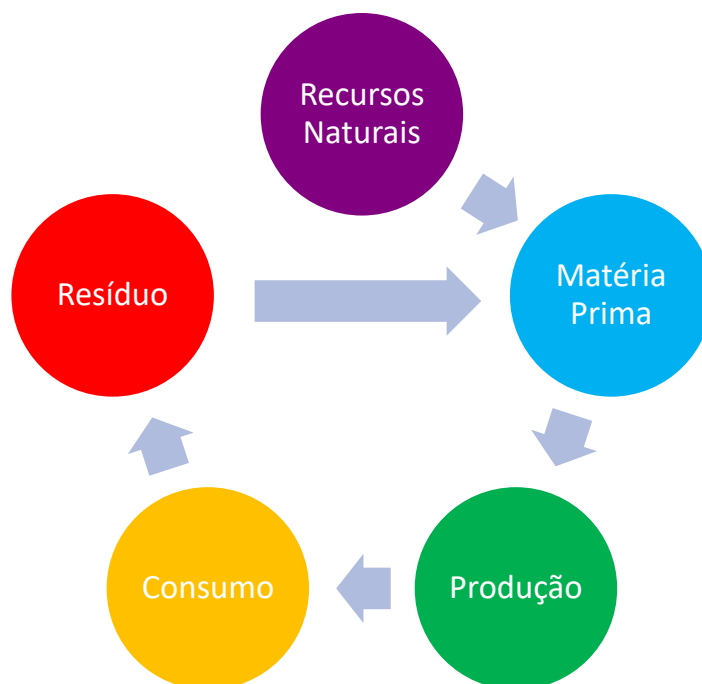
Figura 8 - Modelo de economia linear.



Fonte: Autor.

Entretanto, observando a crescente demanda de recursos naturais e o conseqüente aumento da produção de resíduos, os economistas-ambientalistas propuseram a “economia circular” inspirados na lógica cíclica da natureza, na qual resíduos de plantas e frutas são decompostos e geram adubo para plantas produzirem mais frutas. Desta forma, a natureza não utiliza o resíduo como destino final, mas como fonte alternativa de matéria prima para produção. Ainda propõe que “se algo não pode ser reaproveitado, não deveria ser criado” (Pearce & Turner, 1990). Assim propuseram um modelo no qual o resíduo serve como matéria prima para produção de mais produtos, fechando o ciclo que anteriormente era linear (Figura 9). Neste modelo, após o recurso ser extraído da natureza, é utilizado como matéria prima para produção de bens de consumo para população e indústria, nos quais após o uso são transformados em resíduos reaproveitáveis para produção de mais bens.

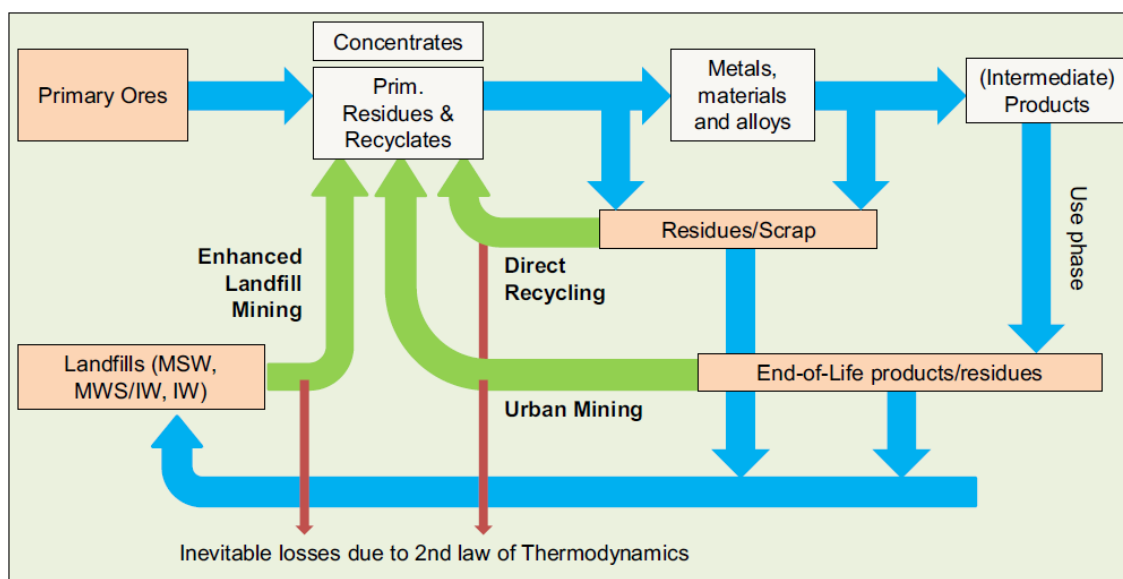
Figura 9 - Modelo de economia circular.



Fonte: Autor.

Aplicando este conceito a mineração observa-se que os minérios primários são processados e transformados em concentrados minerais (Figura 10). Estes são convertidos em ligas metálicas que podem ser utilizados na fabricação de produtos intermediários ou produtos finais. Esta utilização gera, conseqüentemente, resíduos que podem ser reciclados diretamente ou até mesmo transformados em mais produtos. Estes, após serem utilizados, são descartados em aterros sanitários. Entretanto, com a aplicação da mineração urbana, podem ter um destino ambientalmente amigável e serem utilizados novamente como matéria prima para fabricação de mais ligas metálicas e/ou produtos (Jones *et al*, 2011).

Figura 10 - Diferentes maneiras de fechar o ciclo da economia circular aplicada à mineração.



Fonte: Jones *et al*, 2011.

No ciclo acima descrito, observa-se que as setas na cor azul representam o caminho da economia linear, e as setas em verde, representam as etapas de fechamento do ciclo, formando a economia circular. Uma delas é o conhecido processo de reciclagem e outra é a mineração urbana, ou, “urban mining”. Este termo refere-se ao processamento de resíduos urbanos (principalmente resíduos eletrônicos, automobilísticos e metais de demolição) para extração de metais de interesse econômico como cobre, níquel, cobalto, prata, ouro e platina.

O interesse pela mineração urbana vai além do ambientalismo e redução de extração de matérias primas não renováveis, é principalmente econômico. Esse fato ocorre porque diversos resíduos eletrônicos possuem teor de metais muito maior do que o encontrado na natureza. Por exemplo um celular Iphone de 194 G tem em média 25 g de Al, 15 g de Cu, 0,34 g de Ag, 0,04 g de Au e 0,02 g de Pd, o que faz com que a porcentagem desses metais seja de: 12,9 % Al, 7,7% Cu, 0,17% Ag, 0,02% Au e 0,01% Pd (Arora *et al*, 2017).

Por exemplo de comparação, segundo o *World Concil on Grading 2020*, um minério de alto teor de cobre tem > 1,5% e de baixo teor tem <1%. Logo, o Iphone tem teor de cobre 5x maior que um minério de alto teor, e 7,7x maior do que um minério de baixo teor. Com relação ao ouro, um minério de alto teor tem 8-10 g ton<sup>-1</sup>, enquanto um minério de baixo teor tem 1-4 g ton<sup>-1</sup>. O que faz da concentração deste metal no Iphone 20 vezes maior do que em um minério de alto teor, e 50-100x maior do que um minério de baixo teor.

Além da concentração de metais ser muito superior em resíduos eletrônicos do que a maioria dos minerais, outro fator chama a atenção, principalmente no Brasil: a geração de resíduos da mineração durante a extração de metais. Segundo o relatório de sustentabilidade da Vale, 380 Kg de minério de cobre geram 190 a 1900 Kg de rejeitos para formação de barragens. Isso equivale 0,5 a 5,0 vezes a massa do minério utilizado. Quando se aplica o teor de metal no minério o número se torna ainda maior. Para se extrair 1 tonelada de cobre de minério de baixo teor (com 1% em cobre), geraria de 50 a 500 toneladas de rejeitos para formação de barragens como a de Brumadinho em Minas Gerais.

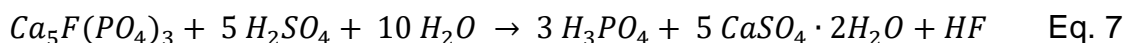
Todos estes argumentos discutidos reforçam a necessidade de extração de metais de resíduos industriais, urbanos ou até mesmo de aterros sanitários. Para os elementos terras raras isso ocorre de forma agravada, visto que a extração de fontes não renováveis é dominada pela China e, o Brasil, apesar de ter extensas reservas, não produz estes metais devido a dificuldades legais. Assim, reforça-se a necessidade de extração de fontes alternativas, sejam elas urbanas ou industriais. Dentre as industriais, uma das maiores fontes é o fosfogesso, que será discutido na seção abaixo.

#### **2.4. Fosfogesso**

O fosfogesso é o resíduo do processamento de rochas fosfáticas para obtenção de ácido fosfórico, através do método chamado de “wet acid method”. Sua composição é variável e depende da ocorrência mineral da rocha fosfática da qual ele é proveniente, mas o principal componente deste material é o sulfato de cálcio. Este método de produção é empregado na obtenção de mais de 90% do ácido fosfórico do mundo, o que representa 200-280 Mt por ano (Tayibi *et al*, 2009; Chernysh *et al*, 2021).

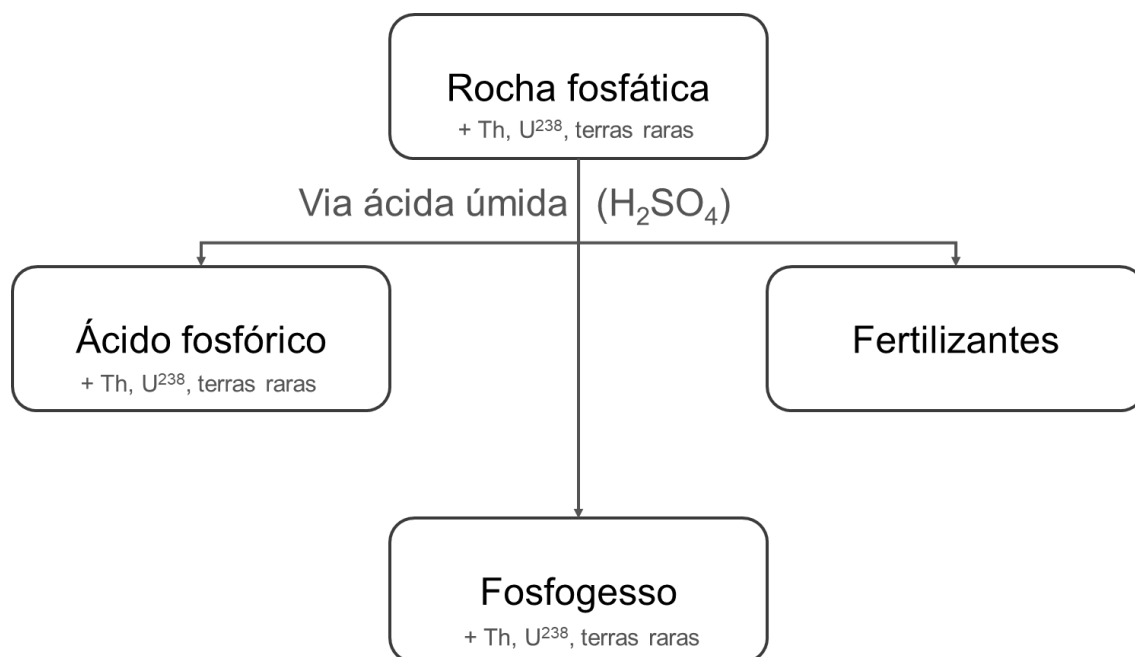
O termo rocha fosfática denomina ocorrências minerais mistas, associadas a este elemento, que em sua maioria são compostas por fluorapatitas, goetitas e quartzo. Entretanto, algumas ocorrências apresentam, em menor proporção, fosfatos de alumínio, magnetita, barita e monazita. Este último, caracteriza-se por fosfatos de terras raras associados a tório e urânio (Tayibi *et al*, 2009). No Brasil, diversas ocorrências minerais de rocha fosfática estão associadas a monazita, como por exemplo as reservas situadas em Cajati- SP. Este trabalho utilizou o fosfogesso gerado em Cajati-SP região nos ensaios de biolixiviação descritos na Seção 4.8.

O método ácido úmido consiste da adição de solução ácido sulfúrico à rocha fosfática que gera ácido fosfórico e fosfogesso conforme descrito na Equação 7. Em situações nas quais a rocha fosfática está associada ao elemento flúor, também é gerado ácido fluorídrico como subproduto (Tayibi *et al*, 2009).



Apesar de ser um método economicamente mais viável, a via ácida úmida gera aproximadamente 5 toneladas de fosfogesso por tonelada de ácido fosfórico produzido. Este ainda tem composição influenciada pela origem da rocha fosfática, e em muitos casos permanece associado a elementos como urânio e tório, o que dificulta o armazenamento e descarte deste resíduo. Além disso, também é comum a presença de metais como cromo, cobre, cádmio e chumbo, que permanecem na forma de seus respectivos fluoretos. (Figura 11).

Figura 11 - Esquema de processamento da rocha fosfática para produção de ácido fosfórico e fertilizantes.



Fonte: Autor.

Devido a associação do fosfogesso a elementos como tório, rádio e urânio a USEPA (*United States Environmental Protection Agency*) classifica este resíduo como “TENORM” (*Technologically Enhanced Naturally Occurring Radioactive Material*), ou seja, um material radioativo de ocorrência natural que passa a ser concentrado ou exposto ao meio ambiente devido a ações antrópicas como a exploração mineral. Por esse motivo, a agência controla o descarte e impõe normas para que possa ser depositado no território americano.

Nos cenários mais otimistas, de regiões desenvolvidas, apenas 10 % do fosfógeno gerado é utilizado para outros fins como por exemplo construção civil. Logo, cerca de 90 % de toda produção de fosfógeno é destinada a despejos de armazenamentos, formando “montanhas brancas” (Figura 12) ao redor minas de rocha fosfática.

Figura 12 - Pilha de descarte de fosfógeno na Rússia com mais de 80 metros de altura e 100 hectares de área coberta, em 2014.



Fonte: Sky-grad, disponível em: <http://en.rzm.sky-grad.ru/fosfogips>

O fosfógeno passou a chamar atenção devido ao aumento da produção de fertilizantes em nível mundial. Diversos estudos foram realizados, principalmente visando a remoção de elementos radioativos (El-Didamony *et al*, 2012) e metais pesados (Trifi *et al*, 2020) para aplicações como construção civil e agricultura, ou para que possam ser descartados sem gerar impactos ambientais. Segundo o *Scopus database* no ano de 2020 foram publicados mais de 190 estudos em periódicos indexados, o que mostra a importância que este resíduo apresenta em escala mundial.

## 2.5. Biolixiviação de terras raras

São diversas as formas de se extrair terras raras e elas levam em consideração a fonte na qual estes elementos estão presentes, a concentração dos elementos na fonte, características físicas e químicas. Além disso, também é preciso levar em

consideração fatores logísticos como localidade da fonte mineral, para que seja viável a extração e comercialização. Por esses motivos, processos físicos, químicos e biotecnológicos são propostos para se extrair TR de diversas fontes como minérios, lixo eletrônico e rejeitos.

Os processos físicos de extração podem ser empregados juntos ou conjugados, e em sua maioria são térmicos, gravimétricos, magnéticos ou eletrostáticos. Dentre os químicos se destacam a lixiviação com ácido sulfúrico concentrado que pode ser associado a agentes complexantes como tributilsulfato, entretanto, devido ao custo destes insumos o custo operacional desta forma de extração é elevado, o que influencia no preço final dos elementos terras raras.

As formas de extração biotecnológicas geralmente requerem menor custo inicial e de operação e por isso são muito estudadas, pois permitem a redução do custo final e a extração em áreas remotas, nas quais o acesso de insumos e energia é dificultado. Por ser um tema diretamente relacionado ao estudo da presente tese, as principais formas de extração biotecnológicas serão apresentadas nos subtópicos abaixo.

### **2.5.1. Por fungos**

A biolixiviação de terras raras por fungos teve destaque na década de 2010-2020, na qual foram publicados diversos estudos relacionados ao tema. Dentre eles, fungos do gênero *Aspergillus* foi o mais utilizado devido a sua capacidade de produção de ácidos orgânicos (cítrico, oxálico e glucônico) que são capazes de lixiviar elementos terras raras pela complexação. Além disso, estes micro-organismos apresentam tolerância a estes elementos, o que faz com que o método de biolixiviação “one-step” possa ser utilizado.

Castro *et al* (2020) propôs a biolixiviação *one-step* de terras raras presentes em monazita (fosfatos de TR) em frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultura (ágar batata dextrose). Os frascos foram submetidos a agitação orbital a 150 rpm e temperatura de 30 °C, 5 % (v/v) de inóculo e 1,0 % de densidade de polpa (m/v). Neste experimento o fungo foi capaz de lixiviar terras raras a uma concentração de 0,97 mg L<sup>-1</sup> no meio de cultura após 15 dias de experimento. Os autores atribuíram a máxima lixiviação ao período de maior produção de ácido cítrico e glucônico em solução. Entretanto, os autores não apresentaram os resultados de lixiviação em

função da porcentagem, o que dificulta a comparação dos resultados com outros trabalhos da literatura.

De forma semelhante, Barnett *et al* (2020) também realizou estudos de biolixiviação de terras raras presentes em monazita com o fungo *Aspergillus niger*. Os ensaios foram realizados em frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL de meio de cultura, 1,0 % (m/v) de densidade de polpa e incubados em mesa agitadora sob temperatura de 25-28 °C a 250 rpm. Os resultados apresentados mostram que o fungo foi capaz de lixiviar 80-100 mg L<sup>-1</sup> de terras raras totais no meio de cultivo, o que segundo os autores, corresponde de 4-5 % do total de TR presentes na monazita. Deste total, os elementos que apresentaram maior lixiviação foram Ce, La, Pr e Nd, que juntos somam mais de 95 % do total lixiviado, enquanto os outros 5% correspondem aos demais elementos TR.

Outro exemplo de biolixiviação com *Aspergillus* foi o trabalho publicado por Barnett *et al*, (2018) no qual o *Aspergillus sp* foi empregado na biolixiviação de terras raras presentes em bauxita na metodologia *two-step*. Assim, o fungo foi submetido a condições ótimas de crescimento por 7 dias para produção de ácidos orgânicos. Após esse período, a solução foi filtrada e a bauxita foi adicionada a ela, iniciando o processo de lixiviação. Após 7 dias de lixiviação, os resultados mostraram recuperação de 12 %, 41%, 25%, 28%, 25%, 19% e 11% para La, Ce, Pr, Nd Sm, Eu e Gd, respectivamente.

Desta forma, observa-se na literatura científica que micro-organismos heterotróficos são capazes de lixiviar terras raras, entretanto, a maioria dos autores citam o fato de que o crescimento de biomassa fúngica é muito grande o que atrapalha o processo de lixiviação, o que traz a necessidade de filtrar a biomassa para favorecer a extração de TR. Assim, é importante destacar a capacidade de lixiviação pelos ácidos orgânicos, mas não se pode deixar de lado o crescimento de biomassa que pode se tornar um problema durante a mudança de escala dos processos de biolixiviação, visto que a filtração de milhares de litros de solução encarece o produto final.

### **2.5.2. Por bactérias**

Até o momento no qual esta tese foi redigida há poucos trabalhos científicos publicados na literatura que utilizaram bactérias na biolixiviação de terras raras, sendo que a maioria deles utilizaram fungos para este fim. Tanto a biolixiviação com fungos

quanto com bactérias apresentam mecanismos de dissolução de terras raras muito semelhantes, variando apenas o agente complexante. Por exemplo na biolixiviação de monazita, tanto fungos quanto bactérias necessitam de meio ácido para promover a extração dos metais.

Nesta situação, o mecanismo mais aceito atualmente propõe que a superfície da monazita é deficiente de um ou dois átomos de oxigênio dos nove que ela possui, o que permite que ocorra a interação com moléculas de água ou outros compostos dissolvidos para restaurar o estado de coordenação com nove ligantes (Rasoulnia *et al*, 2020). Além disso, é proposto que os lantanídeos da superfície do mineral têm preferência por hidrolisar ao invés de (re)adsorver na forma de seus respectivos hidróxidos, à superfície do mineral. Este mecanismo é dependente da protonação da superfície, logo, quanto menor for o valor de pH, mais favorável será a hidrólise dos elementos lantanídeos (Furrer & Stumm, 1986; Rasoulnia *et al*, 2020).

Assim que ocorre hidrólise do elemento lantanídeo, ocorre sua complexação por agentes complexantes presentes no meio de cultura, e neste ponto ocorre a diferença do emprego de fungos para o emprego de bactérias. Enquanto fungos complexam os TR com agentes orgânicos (ácido cítrico, oxálico, glucônico), as bactérias acidofílicas complexam com sulfato e hidrogenossulfato.

Como exemplos de emprego de bactérias na biolixiviação de terras raras está o estudo publicado por Barnett *et al* (2020) que utilizou a *Acidithiobacillus ferrooxidans* em condições aeróbicas e anaeróbicas, para lixiviação oxidativa e redutiva, respectivamente. A biolixiviação oxidativa ocorreu em frascos Erlenmeyer agitados 175 rpm sob temperatura de 25 °C, foi fornecido meio de cultura DSMZ 882 com 280 mg L<sup>-1</sup> de Fe<sup>2+</sup><sub>inicial</sub> e pH ajustado para 1,8. Foi fornecida a fonte de terras raras (bauxita) a densidade de polpa de 1 % em massa. Neste experimento foi possível extrair 40, 49, 53, 61, 60 e 58 % dos elementos La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, respectivamente. A biolixiviação redutiva ocorreu em frascos Erlenmeyer sem agitação, sob temperatura de 25 °C, foi fornecido meio de cultura DSMZ 882 com 280 mg L<sup>-1</sup> de enxofre elementar como fonte de energia. O pH ajustado para 1,8 e foi fornecida a fonte de terras raras (bauxita) a densidade de polpa de 1 % em massa. Neste experimento foi possível extrair 38, 47, 51, 55, 60 e 58 % dos elementos La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, respectivamente. Os resultados obtidos apresentaram lixiviação equivalente de terras raras e os autores atribuem isso ao valor do pH que foi semelhante para as duas condições.

Outro exemplo de aplicação foi utilizando bactérias isoladas de resíduos minerais de terras raras da mina de Maoniuping – China, que posteriormente foram identificadas como *Streptomyces sp.*, *Micromonospora sp.* e *Micrococcus sp.* Os experimentos foram realizados em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultura e minério de bastnasita ((TR)CO<sub>3</sub>F) sob densidade de polpa de 0,5 % (m/v). Os frascos foram submetidos a agitação orbital de 180 rpm a 28-30 °C durante 20 dias. Os resultados obtidos apontaram extração de 600 mg L<sup>-1</sup> e 380 mg L<sup>-1</sup> para *Streptomyces sp.* e *Micrococcus sp.*, respectivamente, o que corresponde a menos de 3,5% do total de terras raras presentes no minério (Zhang *et al*, 2018). Desta forma, estes micro-organismos não foram capazes de lixiviar terras raras a proporções equivalentes a trabalhos já publicados na literatura, com rendimentos acima de 50%. Isso ocorre porque durante os experimentos o pH permaneceu na faixa de 5,0 – 7,0 pois estas bactérias não são capazes de produzir e suportar ácido.

## **2.6. Influência de impelidores no cultivo bacteriano**

Com o intuito de otimizar a agitação da solução em processos químicos e promover condições hidrodinâmicas apropriadas para transferência de massa, dispersão gás-líquido e dispersão líquido-sólido, a escolha de diferentes impelidores é indispensável. Ao se tratar de reatores biológicos estes parâmetros se tornam ainda mais importantes, podendo interferir drasticamente a produtividade dos bioprocessos (Mirro e Voll, 2009). Dewan *et al* (2006) e Mirro e Voll (2009) classificaram os impelidores utilizados em processos biológicos de acordo com o tipo de movimento que imprimem ao fluido durante a agitação, podendo produzir escoamento radial, axial ou mesmo a combinação dos dois tipos.

No fluxo radial o escoamento ocorre do centro para as paredes do reator, no sentido do raio do recipiente, enquanto no escoamento de fluxo axial o líquido se desloca de forma paralela ao eixo do impelidor, de forma ascendente ou descendente a depender do sentido de agitação que pode ser empregado na forma horária ou anti-horária. Dos dois tipos de fluxo, se destaca o uso do escoamento axial para cultivo de células animais e bacterianas, principalmente na presença de sólidos dispersos, pois são cultivos sensíveis ao cisalhamento (Mirro e Voll, 2009).

O tipo de impelidor também influencia na transferência de oxigênio em bioprocessos, pois promove a quebra de bolhas maiores em bolhas menores dentro do reator, aumentando a área de transferência de massa. Por esse motivo, a escolha

do impelidor afeta diretamente o crescimento celular e produtividade de processos biológicos (Garcia-Ochoa, 2009).

### 3. Objetivos gerais

Este trabalho teve como objetivo o estudo da produção biológica de ácido sulfúrico por micro-organismos em frascos Erlenmeyers e reator de tanque agitado, além da posterior aplicação do ácido produzido no estudo de biolixiviação de terras raras presentes em fosfogesso.

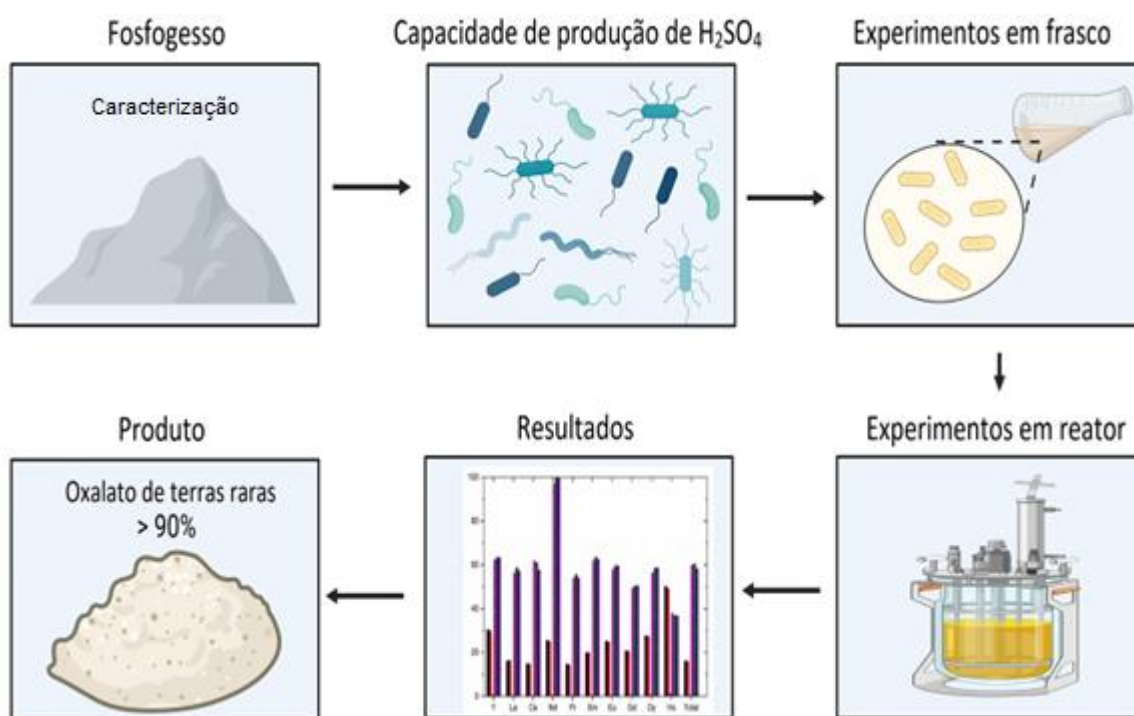
#### 3.1. Objetivos específicos

- Avaliar a produção de ácido sulfúrico, em condições mesofílicas e termofílicas por cepas coletadas de drenagem ácida de mina;
- Comparar a produção dos micro-organismos coletados com a cultura pura de *Acidithiobacillus thiooxidans*;
- Avaliar a influência da adição de elementos traço na produção de ácido sulfúrico em reator de tanque continuamente agitado;
- Avaliar a influência de diferentes impelidores na produção de ácido sulfúrico em reator de tanque continuamente agitado;
- Avaliar as técnicas de biolixiviação one-step e two-step quanto a capacidade de extração de terras raras de fosfogesso;
- Aplicar o ácido biologicamente produzido na biolixiviação de terras raras de fosfogesso.

#### 4. Materiais e métodos

Durante o período de desenvolvimento da pesquisa apresentada por esta tese foi realizada a caracterização do fosfogesso (fonte de terras raras) seguida por experimentos de produção biológica de ácido sulfúrico em frascos e reator, em diferentes condições. Posteriormente foram realizados experimentos de biolixiviação de terras raras em frasco e reator, seguidos pela precipitação das terras raras lixiviadas para obtenção do concentrado de oxalato destes elementos como produto final como descrito pela Figura 13.

Figura 13 – Representação ilustrativa dos experimentos realizados durante o período do doutorado.



Fonte: Autor.

##### 4.1. Caracterização do fosfogesso

Devido à presença de elementos terras raras presentes em rocha fosfática no momento da extração do elemento fósforo, uma parte destes metais passa a integrar no resíduo chamado fosfogesso. Este foi utilizado como fonte de terras raras para os experimentos relacionados a tese, dentre eles os experimentos de biolixiviação. Para determinar o rendimento dos processos de extração, o fosfogesso foi caracterizado de acordo com as técnicas abaixo descritas.

#### **4.1.1. Difração de Raios-X (DRX)**

O fosfogesso utilizado é proveniente da extração de fósforo de rocha fosfática na região de em Cajati – SP. Foi coletado e cominuído a uma granulometria < 60 mesh tanto para caracterização quanto para os ensaios de biolixiviação de terras raras. A caracterização mineralógica da amostra de fosfogesso recebida foi realizada pela técnica de Difração de Raios-X.

O equipamento que foi utilizado para a obtenção dos difratogramas foi um difratômetro de raios X D5000 – Siemens®, equipado com monocromador no feixe difratado. Para melhor resolução, o ângulo de variação empregado é igual a  $2\theta$ , abertura das fendas e voltagem das linhas de base (inferior e superior), estabelecendo uma corrente de 30 mA e tensão elétrica de 40kV, linha de base inferior 0,520V, linha de base superior 1,620V, tempo de contagem de 2s, passo  $0,05^\circ$  ( $2\theta$ ), fendas 2/2/0,6 e ângulo de varredura de  $4^\circ$  a  $100^\circ$  ( $2\theta$ ).

O porta-amostra utilizado foi de teflon com diâmetro igual a 47 mm por 3 mm de espessura, apresentando no centro uma cavidade de 15 mm a 20 mm de diâmetro por 1 mm de profundidade, onde foi colocada a amostra a ser analisada.

#### **4.1.2. Composição química**

Para realizar uma caracterização química quantitativa do minério, 150 g da amostra foram enviados a SGS GEOSOL Laboratórios Ltda. A caracterização geral de elementos consistiu em uma digestão multiácida utilizando uma solução de HCl, HNO<sub>3</sub>, HF e HClO<sub>4</sub>. Após a digestão, a solução obtida foi submetida a análise de ICP-OES (Inductively coupled plasma optical emission spectrometry) e ICP-MS (Inductively coupled plasma optical emission mass spectrometry) para determinação dos elementos descritos na Tabelas 9 e 10, no tópico de resultados e discussão.

A quantificação específica para terras raras, foi realizada utilizando o equipamento de ICP-OES (Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy) da marca Perkin Elmer Optimal DV 7000 pertencente ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN).

#### **4.1.3. Consumo ácido**

Para determinar a capacidade de consumo ácido apresentada pelo fosfogesso, uma massa de 5,0 gramas deste material foi adicionada a um Erlenmeyer contendo

100 mL de meio de cultura sob agitação constante com barra magnética. Com o passar do tempo, foram realizadas medidas de pH e sempre que o valor obtido foi superior a 2,0, foram adicionadas quantidades conhecidas de ácido sulfúrico diluído até alcançar o valor de 2,0 novamente. Para evitar desvios provenientes da variação do volume, a concentração de ácido sulfúrico utilizada foi de 5 mol L<sup>-1</sup>. Após a estabilização deste valor de pH, foi calculado o consumo de ácido do minério em Kg de ácido/tonelada minério. Esta análise permite observar o comportamento do minério em solução, evitando elevações de pH decorrentes deste consumo e que possam prejudicar o crescimento de micro-organismos.

## **4.2. Metodologia analítica aplicada aos experimentos de biolixiviação**

### **4.2.1. Medidas de pH e concentração de H<sup>+</sup> em solução**

Alíquotas de 3,0 mL foram retiradas dos cultivos para medição do pH utilizando pHmetro de bancada PG 1800 – Gehaka previamente calibrado com soluções tampão a pH 4,0 e 7,0. Após as medidas de pH, 1,0 mL desta solução foi destinada a titulação com hidróxido de sódio padronizada com hidrogeno ftalato de potássio com auxílio do indicador fenolftaleína (Vogel, 1981).

### **4.2.2. Quantificação de terras raras totais**

As concentrações de terras raras totais solubilizadas foram determinadas pelo método espectrofotométrico usando alaranjado de xilenol, descrito por (Svoboda e Chromy, 1966).

Reagentes:

- Alaranjado de xilenol, 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>;
- Solução de brometo de cetilpiridínio (CPB), 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup>, em 20% (v/v) de metanol aquoso;
- Tampão acetato 0,01 mol L<sup>-1</sup> – pH 5,6;
- Soluções padrão de lantânio.

Equipamentos:

- Espectrofotômetro Femto 600S

Procedimento

Em um balão de 20,00 mL foram adicionados 0,75 ml da solução de alaranjado de xilenol, 5,00 ml de solução de brometo de cetilpiridínio, 2,50 ml de solução tampão e 175 µl da solução a ser testada (contendo não mais de 8x10<sup>-6</sup> g terras raras) e depois

a mistura foi diluída utilizando água destilada a um volume final de 25 ml. A solução foi submetida a repouso por uma hora e depois foi medida a absorbância em 625 nm contra a solução em branco. Os valores foram interpolados na curva analítica previamente preparada.

#### **4.2.3. Quantificação de terras raras por ICP-OES**

Durante os experimentos de biolixiviação, amostras foram retiradas para determinação da extração de terras raras em função do tempo. Após coletadas, as alíquotas foram filtradas com membrana Millipore 0,45 µm (para se retirar o fosfogesso e os micro-organismos, interrompendo o processo de biolixiviação) e armazenadas em geladeira para análise de ICP-OES no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN.

#### **4.3. Cultivo e manutenção dos micro-organismos**

Foram utilizadas duas variações do mesmo meio de cultivo chamado 9K (Silverman e Lundgren, 1959), sendo elas o meio basal com e sem a adição de elementos traço. Suas respectivas descrições foram realizadas a seguir.

##### **4.3.1. Meio de cultura 9K**

Este meio de cultura foi utilizado para crescimento, manutenção e ensaios da *Acidithiobacillus thiooxidans* e dos consórcios coletados para estudo da produção de ácido sulfúrico. Ele é composto de enxofre elementar como fonte de energia e por uma solução contendo os sais minerais, como descrito na Tabela 3:

Tabela 3 - Composição do meio 9K.

Componente	Quantidade
<b>Solução de sais minerais</b>	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O	0,5 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3,0 g
Água destilada	1000 mL
pH	2,8
<b>Fonte de energia</b>	
S <sup>0</sup>	10 g

Fonte: Silverman & Lundgren, 1959.

O ajuste de pH da solução de sais minerais foi realizado utilizando ácido sulfúrico 50%, com auxílio de agitador magnético e pHmetro. A esterilização desta solução foi feita utilizando autoclave a 120 °C por 20 minutos. A esterilização do enxofre elementar também foi realizada utilizando autoclave, mas para evitar a sublimação do mesmo, foi submetido a temperatura de 110 °C por 60 minutos.

#### 4.3.2. Meio 9K suplementado com elementos traço

A composição deste meio é a mesma do descrito na Seção 4.4.2, entretanto, a ele foi adicionada uma solução contendo elementos traço, a uma proporção de 1:20, e cuja composição é descrita na Tabela 4.

Tabela 4 - Composição da solução de elementos traço e concentração final após diluição no meio de cultura.

Componente	Concentração (g L <sup>-1</sup> )	Concentração após diluição final (g L <sup>-1</sup> )
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	10,0	0,5
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	1,0	0,05
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1,0	0,05
CoSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1,0	0,05
Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> ·15H <sub>2</sub> O	0,5	0,025
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,6	0,03
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,5	0,025
NiSO <sub>4</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1,0	0,05
Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub> ·10H <sub>2</sub> O	1,0	0,05
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,1	0,005
NaVO <sub>3</sub>	0,1	0,005

Fonte: Wakeman, Auvinen e Johnson, 2008.

A solução contendo elementos traço foi armazenada a 4 °C e misturada a solução de sais minerais antes do uso. Este meio de cultura foi utilizado para ensaios de produção de ácido sulfúrico tanto para a *Acidithiobacillus thiooxidans*, quanto para os consórcios coletados na mina do Sossego em Canaã dos Carajás – PA.

#### 4.4. Micro-organismos utilizados

A bactéria *Acidithiobacillus thiooxidans* – FG01 foi coletada de efluente ácido proveniente de minério de Urânio da cidade de Figueira – PR (Garcia Junior, 1991) e posteriormente isolada e mantida na coleção de micro-organismos do Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Mineração e Meio Ambiente, sob responsabilidade da Profa. Dra. Assoc. Denise Bevilaqua.

Foi realizada coleta de amostras de drenagem ácida da mina de cobre do Sossego, pertencente a empresa Vale S. A, em Canaã dos Carajás – PA geolocalização (6.430065 S, 50.078292 W). A coleta destas amostras foi realizada em diferentes pontos da mina e misturadas considerando proporcionalidade de células para formação dos consórcios MdS-Ds, MdS-D1 e MdS-F3. Após a coleta, as cepas foram submetidas a extração de DNA e sequenciamento genômico Illumina antes da

etapa de enriquecimento para identificar se há espécies capazes de produzir ácido sulfúrico.

Posteriormente, estes consórcios foram submetidos a repiques sucessivos em diferentes condições no laboratório de Bioprocessos Acoplados a Mineração e ao Meio Ambiente. As condições foram separadas em temperatura (30 e 65 °C) e fonte de energia ( $S^0$  e  $Fe^{2+}$ ) para selecionar oxidantes de ferro e enxofre, separadamente. Após 2 repiques obtidos em conjunto com demais alunos de mestrado e doutorado foram coletados inóculos destes ensaios de enriquecimento para os experimentos descritos na Seção 4.5, com objetivo de obter inóculos adequados para produção de ácido sulfúrico tanto a 30 quanto a 65 °C.

#### **4.4.1. Extração de DNA e Sequenciamento genético**

As amostras coletadas foram submetidas a extração de DNA utilizando metodologia descrita por Leal-Klevezas et al (1995), adaptada por Ruibal (2009) e os materiais genéticos obtidos foram enviados a empresa MR DNA em Shallowater – Texas - EUA. O sequenciamento, realizado pela plataforma *Illumina MiSeq* com métodos baseados no processo bTEFAP®, posteriormente, os dados foram processados usando análise “*MR DNA pipeline*” pela mesma empresa, sob responsabilidade do Dr Scot E. Dowd.

#### **4.5. Enriquecimento dos consórcios coletados em Canaã dos Carajás.**

As amostras coletadas da mina do Sossego em Canaã dos Carajás – PA foram utilizadas como inóculo em diferentes meios de cultivo para favorecer a seleção natural e o enriquecimento das culturas em condições de interesse como por exemplo suportar baixos valores de pH (abaixo de 2,0) e produção de ácido sulfúrico a partir de enxofre elementar.

##### **4.5.1. Cultura mesofílica para produção de ácido sulfúrico**

Esta condição de enriquecimento consistiu de duas etapas, sendo que na primeira, foi feita a inoculação das amostras coletadas em meio de cultura 9K a 30 °C sob agitação orbitalde 150 rpm em mesa agitadora. As amostras MdS-D1, MdS-Ds e MdS-F3 foram inoculadas em triplicata em Erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de solução final com 10% (v/v) de inóculo. Também foram realizadas triplicatas de uma solução controle de cada uma destas amostras, contendo todos os componentes, excetuando-se o inóculo. Após 39 dias, a cultura obtida foi usada como inóculo para

a segunda etapa de enriquecimento, mas desta vez com meio 9K suplementado com elementos traço, durante 22 dias. A cultura obtida neste crescimento foi utilizada para os ensaios de produção de ácido sulfúrico.

#### **4.5.2. Cultura termofílica para produção de ácido sulfúrico**

Semelhante ao enriquecimento em condição mesofílica, esta condição de enriquecimento consistiu de duas etapas, sendo que na primeira, foi feita a inoculação de parte das amostras coletadas em meio de cultura 9K a 65 °C sob agitação orbital de 150 rpm em mesa agitadora. As amostras MdS-D1, MdS-Ds e MdS-F3 foram inoculadas em triplicata em Erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de solução final com 10% (v/v) de inóculo. Também foram realizadas triplicatas de uma solução controle de cada uma destas amostras, contendo todos os componentes, excetuando-se o inóculo. Após 70 dias, a cultura produzida foi usada como inóculo para a segunda etapa de enriquecimento, mas desta vez com meio 9K suplementado com elementos traço, durante 45 dias. A cultura obtida neste crescimento foi utilizada para os ensaios de produção de ácido sulfúrico.

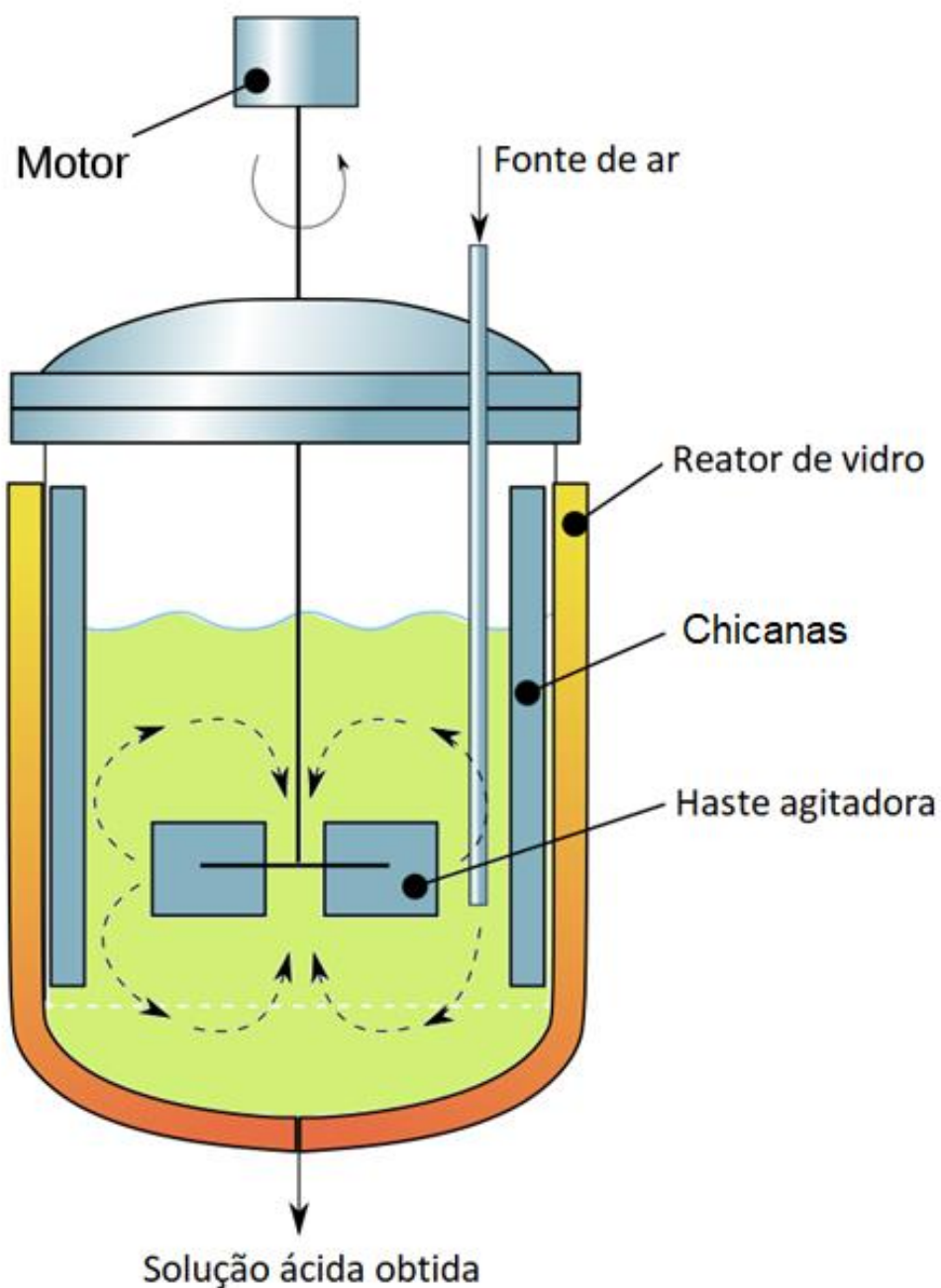
#### **4.6. Produção de ácido sulfúrico em escala de frasco**

Após o cultivo sucessivo dos micro-organismos utilizados, foram iniciados os ensaios de produção de ácido sulfúrico em Erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de solução final com 10% (v/v) de inóculo a 150 rpm de agitação orbital. O meio de cultivo utilizado foi o 9K suplementado com elementos traço e os ensaios foram realizados a 30 e 65 °C com enxofre como fonte de energia. Os experimentos foram realizados em triplicata e cada amostra coletada foi submetida a análises de pH e titulação com NaOH para determinar a concentração de ácido sulfúrico produzido.

#### **4.7. Produção de ácido sulfúrico em reator batelada**

Um reator de tanque construído em vidro (17 cm de altura, 17 cm de largura e 17 cm de diâmetro interno), com duas chicanas laterais e com agitação contínua (STR) de volume total igual a 3,8 L contendo 2,0 L de meio de cultivo 9K e enxofre elementar (10 g L<sup>-1</sup>) foi inoculado com *Acidithiobacillus thiooxidans* - FG01 10% (v/v) e foi submetido a agitação constante de 2 L<sub>ar</sub> min<sup>-1</sup> através de um compressor magnético de aquário adaptada, a temperatura de 25-30 °C, Figura 14.

Figura 14 - Ilustração representativa do reator de tanque continuamente agitado e seus componentes.



Fonte: Autor.

O reator foi monitorado por 60 dias em cada uma das condições estudadas: 1) Impelidor de 3 pás do tipo hélice naval de 5,5 cm de comprimento (IKA R1385) sem adição de elementos traço; 2) Impelidor de 3 pás do tipo hélice naval de 5,5 cm de

comprimento (IKA R1385) com adição de elementos traço; 3) Impelidor de 4 pás do tipo remo de 3,5 cm de comprimento (IKA R1342) sem adição de elementos traço; 4) Impelidor de 4 pás do tipo remo de 3,5 cm de comprimento (IKA R1342) com adição de elementos traço (Tabela 5). A rotação mecânica empregada foi de 60 rpm para o impelidor tipo hélice naval e 120 para o impelidor de 4 pás do tipo remo.

Tabela 5 – Descrição dos experimentos de produção de ácido sulfúrico em reator de tanque agitado.

Experimento	Impelidor	Elementos traço
1	3 pás do tipo hélice naval	Não
2	3 pás do tipo hélice naval	Sim
3	4 pás do tipo remo	Não
4	4 pás do tipo remo	Sim

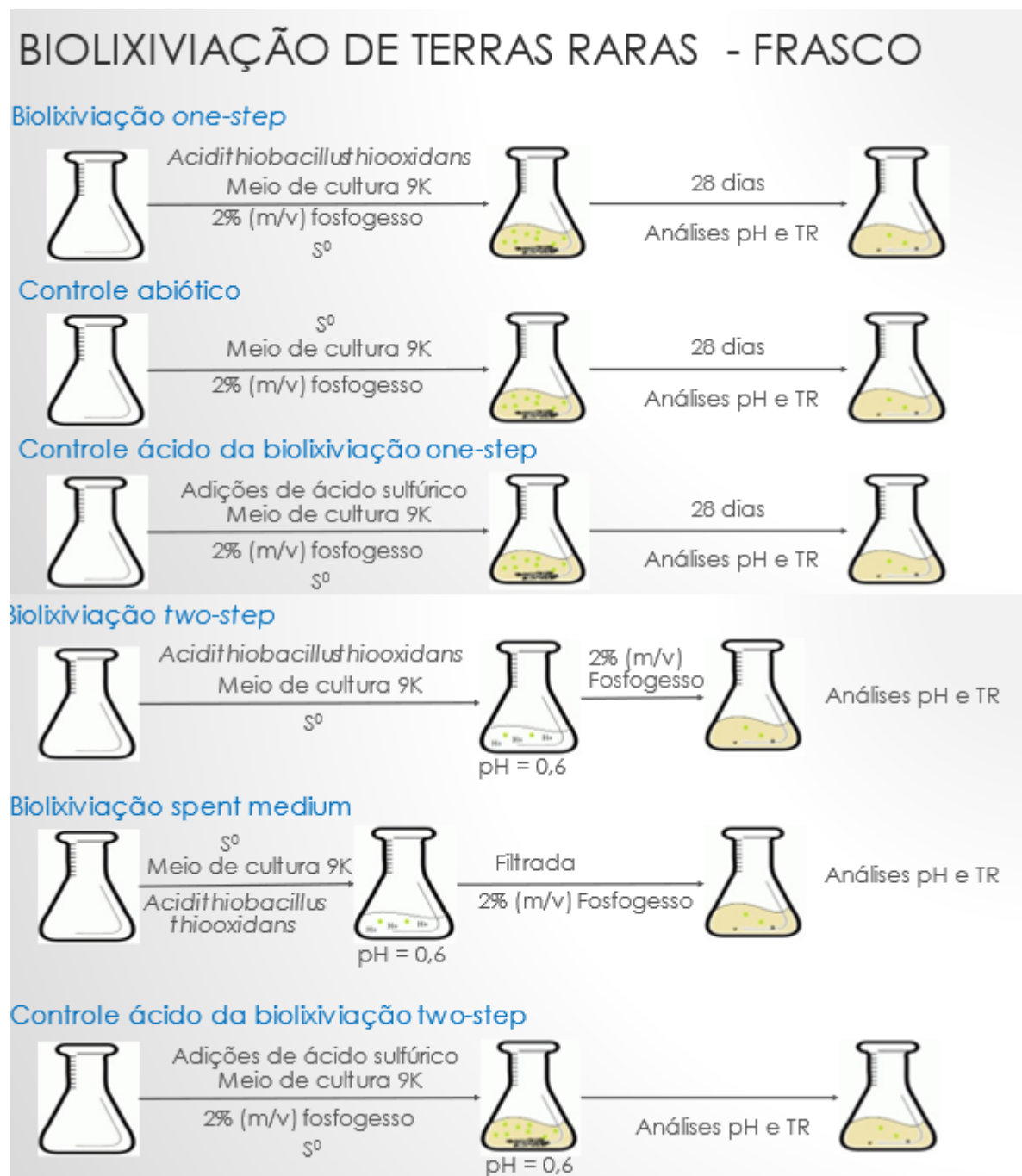
Fonte: Autor.

#### 4.8. Biolixiviação de terras raras em escala de frasco

Os ensaios de biolixiviação de terras raras presentes em fosfogesso foram realizados em frascos Erlenmeyer de 1 L contendo 300 mL de meio de cultivo, 2,0 % (m/v) de fosfogesso e agitados a 150 rpm em mesa agitadora orbital a 30 °C. Foram realizados dois tipos de biolixiviação em modo batelada: *one-step* e *two-step*. No tipo *one-step*, o fosfogesso foi adicionado junto com o meio de cultivo no início do experimento, em uma única etapa. Diferentemente, o *two-step* foi realizado com o crescimento da *At thiooxidans*-FG01 sem o fosfogesso por 25 dias (tempo necessário, nestes experimentos, para o pH alcançar valores abaixo de 0,6) e só depois teste período, o fosfogesso foi adicionado ao Erlenmeyer. Adicionalmente foram realizados experimentos controle tanto para os ensaios de biolixiviação em etapa única quanto os de biolixiviação em duas etapas, que consistiram em frascos contendo os mesmos componentes exceto o inóculo, que foi substituído pela adição de ácido sulfúrico comercial para imitar a produção deste ácido pelos micro-organismos, e assim, poder determinar se a biolixiviação de elementos terras raras é proveniente apenas do ácido ou também por outros mecanismos de atuação desta bactéria, como por exemplo a produção de metabólitos secundários.

Adicionalmente, foi realizado o ensaio chamado de *spent medium bioleaching*, que consistiu no cultivo da *At. thiooxidans*-FG01 por 25 dias (semelhante ao *two-step*) e depois a solução obtida foi filtrada utilizando membrana Millipore 0,22 µm para esterilizar a solução ao remover as bactérias presentes. Depois disso, o fosfogesso foi adicionado à solução filtrada para iniciar o processo de lixiviação com o ácido sulfúrico produzido biologicamente, mas na ausência de micro-organismos. Este experimento foi realizado para complementar o estudo das causas da biolixiviação de terras raras, pois nesta solução haverá todos os metabólitos, primários e secundários, produzidos pela bactéria, mas diferentemente da biolixiviação *two-step*, ocorrerá na ausência destes micro-organismos. Por fim, foi realizado o ensaio de controle abiótico do ensaio *one-step*, que consistiu em um ensaio de mesma composição, mas não inoculado e sem a adição de ácido sulfúrico. Todos os ensaios de biolixiviação acima descritos foram realizados em duplicata e resumidos na Tabela 6 e ilustrados na Figura 15.

Figura 15 - Ilustração representativa dos ensaios de biolixiviação em frasco.



Fonte: Autor.

Tabela 6 – Descrição dos experimentos de biolixiviação de terras raras realizados em frascos Erlenmeyers.

Experimento	Descrição
Biolixiviação <i>one-step</i>	Micro-organismos, meio de cultivo e fosfogesso juntos desde o início
Controle abiótico	Meio de cultivo e fosfogesso juntos desde o início
Controle ácido da biolixiviação <i>one-step</i>	Solução de ácido sulfúrico (pH = 1.8) e fosfogesso
Biolixiviação <i>two-step</i>	<i>At. thiooxidans</i> -FG01 cultivada por 25 dias e então o fosfogesso foi adicionado
Controle ácido da biolixiviação <i>two-step</i>	Solução de ácido sulfúrico (pH = 0.6) e fosfogesso
Biolixiviação <i>spent medium</i>	<i>At. thiooxidans</i> -FG01 cultivada por 25 dias, filtrada e então o fosfogesso foi adicionado

Fonte: Autor.

#### 4.9. Influência da densidade de polpa na biolixiviação de terras raras

O experimento para determinar a influência da densidade de polpa na extração de terras raras no processo batelada de biolixiviação *two-step* consistiu no cultivo de *At. thiooxidans*-FG01 em biorreator em tanque com agitação contínua com 3,0 L de meio de cultivo com 10 % (v/v) de inóculo, 30 g de enxofre elementar como fonte de energia e fornecimento de ar a 2,0 L min<sup>-1</sup>. Após 20 dias, pH foi reduzido a 0,6 e o líquido obtido foi filtrado e separado em porções de 100 mL que foram adicionadas a frascos Erlenmeyer de 250 mL com fosfogesso em diferentes proporções, produzindo densidades de polpa de 2,0, 5,0, 10,0 e 20,0 % (m/v). Assim, foi possível determinar a influência deste parâmetro na biolixiviação de terras raras. Este ensaio foi realizado em triplicata de cada frasco Erlenmeyer utilizando a mesma solução ácida obtida no biorreator.

#### 4.10. Lixiviação de terras raras em escala de reator e precipitação dos elementos lixiviados

Uma solução de ácido sulfúrico (3 L de solução a pH = 0,6,) gerada biologicamente em condições semelhantes ao descrito para o estudo de densidade de polpa (10,0 % (v/v), 30 g de enxofre elementar, agitação constante e aeração de 2,0 L de ar min<sup>-1</sup>) foi utilizada para lixiviar terras raras presentes em 300,0 g de fosfogesso, perfazendo densidade de polpa igual a 10 % (m/v). A solução permaneceu nesta condição por 10 dias e então foi filtrada (o resíduo sólido obtido foi chamado de Resíduo de FG lixiviado) para interromper o processo de lixiviação. Após a filtração, a solução obtida foi lentamente adicionada a uma solução supersaturada de oxalato de sódio a agitação constante. Após 5 minutos do término da adição, a solução obtida foi filtrada utilizando membrana Millipore 0,22 µm e o precipitado foi chamado de precipitado inicial. A solução filtrada foi deixada sob repouso até o dia seguinte e então foi filtrada novamente com membrana Millipore 0,22 µm e o precipitado obtido foi chamado de precipitado *overnight*, assim, assegurando a obtenção máxima dos elementos terras raras presentes na solução lixiviada.

A composição morfológica de ambos precipitados obtidos, incluindo o resíduo de FG lixiviado, foi determinada por difração de Raios-X com equipamento Rigaku RINT2000, equipado com monocromador no feixe difratado. Para melhor resolução, o ângulo de variação empregado é igual a  $2\Theta$ , abertura das fendas e voltagem das linhas de base (inferior e superior), estabelecendo uma corrente de 50 mA e tensão elétrica de 40kV, linha de base inferior 0,520V, linha de base superior 1,620V, tempo de contagem de 2s, passo 0,02° ( $2\Theta$ ), fendas 2/2/0,6 e ângulo de varredura de 7° a 80° ( $2\Theta$ ). A análise quantitativa foi realizada através do método de Rietveld (Rietveld, 1966; Rietveld, 1967). Os ajustes de picos foram realizados por parâmetros fundamentais (Cheary et al., 2004) e o background foi ajustado utilizando a função polinomial de Chebyshev. A cela unitária e o tamanho cristalino foram refinados utilizando o software TOPAS Academic v.5.

## 5. Resultados e Discussão

A descrição e discussão dos resultados acerca da produção biológica de ácido sulfúrico e sua aplicação na extração de terras raras estão apresentadas abaixo, iniciando-se pela caracterização do fosfogesso.

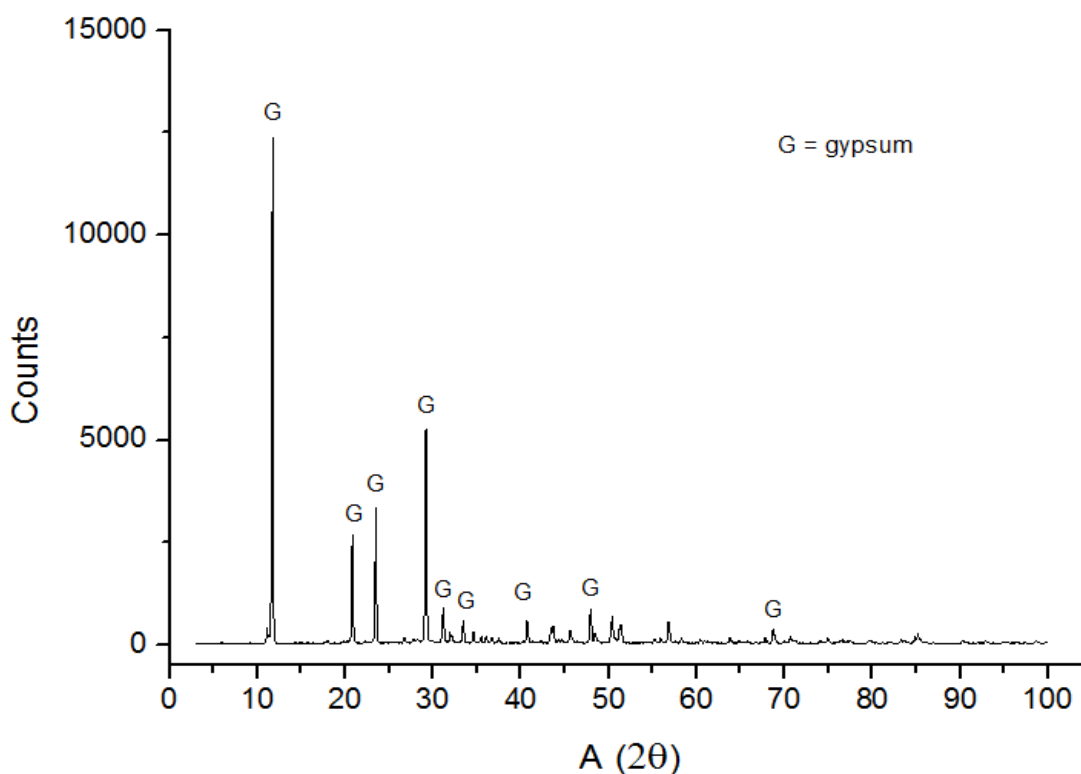
### 5.1. Caracterização do fosfogesso

O fosfogesso foi submetido a diversas análises durante a caracterização, visando obter informações que auxiliem na interpretação e discussão dos experimentos de biolixiviação de terras raras.

#### 5.1.1. Difração de Raios-X

O fosfogesso, submetido a difração de Raios-X, resultou no difratograma apresentado na Figura 16 que foi comparado com o padrão do arquivo JCPDS para gesso (gypsum). Identificando os picos foi possível observar que este composto é o componente majoritário visto que todos os picos de maiores intensidades foram identificados como gypsum.

Figura 16 - Difratograma de Raios-X do fosfogesso (amostra original).



Fonte: autor.

Picos de baixa intensidade como observado em  $A(2\theta) = 44, 46, 51, 52$  e  $57$  não foram identificados, mas, utilizando-se da técnica de ICP-OES que fornecem informações sobre a composição química, conclui-se podem estar relacionados a compostos fosfatos de terras raras (que juntos somados representam aproximadamente 0,6 % em massa) ou sulfatos de alumínio e ferro, que estão presentes no fosfogesso em 0,14 e 0,55 % (m/m) respectivamente. Entretanto, ressalta-se que o fosfogesso é composto majoritariamente de sulfato de cálcio (gesso) e outras fases presentes não puderam ser identificadas devido ao limite de detecção da técnica utilizada que é de aproximadamente 2%.

### **5.1.2. Composição química**

O resultado da análise química por ICP-OES (Tabela 7) realizado pela GEOSOL mostra a presença majoritária de cálcio, confirmando o resultado obtido no difratograma de Raios-X, no qual se observa a presença de sulfato de cálcio (gypsum). A análise realizada também apresenta concentrações de elementos como alumínio (0,14 % em massa), ferro (0,55 % em massa), potássio (0,02 % em massa), magnésio (0,3 % em massa), manganês (0,01 % em massa), sódio (0,04% em massa), fósforo (0,53 % em massa), estrôncio (4576 ppm) e titânio (0,25% em massa) em menor proporção quando comparados com o cálcio. Demais elementos foram identificados e quantificados, mas em concentrações menores.

Tabela 7 - Resultado da análise de composição química do fosfogesso por ICP-OES.

Elemento	Concentração (mg.Kg <sup>-1</sup> ) e (%)*		
	Limite de detecção	Branco	Amostra (fosfogesso)
Ag	3	<3	<3
Al	0,01	0,01	0,14 (%) *
As	10	<10	35,00
Be	3	<3	<3
Bi	20	<20	<20
Ca	0,01	0,01	14,18 (%)*
Cd	3	<3	<3
Co	8	<8	<8
Cu	3	10	16,00
Fe	0,01	0,41	0,55 (%)*
K	0,01	<0,01	0,02 (%)*
Li	3	<3	<3
Mg	0,01	<0,01	0,3 (%)*
Mn	0,01	<0,01	0,01 (%)*
Mo	3	<3	<3
Na	0,01	<0,01	0,04 (%)*
Ni	3	<3	4,000
P	0,01	<0,01	0,53 (%)*
Pb	8	<8	33,00
Sb	10	<10	<10
Sc	5	<5	<5
Se	20	<20	<20
Sn	20	<20	<20
Sr	3	<3	4576
Th	20	<20	<20
Ti	0,01	<0,01	0,25 (%) *
Tl	20	<20	<20
U	20	<20	<20
V	8	<8	10,00
W	20	<20	<20
Zn	3	6	27,03
Zr	3	4	189,0

Fonte: Autor.

A análise específica para terras raras, realizada por ICP-MS (Tabela 8), mostra que os elementos presentes em maior concentração são cério, lantânio, neodímio e praseodímio, que juntos somam 91,7% das terras raras totais, indicando que as terras raras estão presentes na forma de monazita mineral composto de 83,55 a 94,5% destes elementos (Jordens, *et al*, 2013).

Tabela 8 - Concentração de elementos terras raras presentes no fosfogesso determinada por ICP-MS.

Elemento	Concentração (ppm)		
	Limite de detecção (ppm)	Branco	Amostra (fosfogesso)
Ce	0,1	0,8	2726 ± 41,72
Dy	0,05	<0,05	37,26 ± 0,34
Eu	0,05	<0,05	50,05 ± 0,44
Gd	0,05	<0,05	107,1 ± 1,57
Ho	0,05	<0,05	4,770 ± 0,05
La	0,1	1,9	1270 ± 26,87
Nd	0,1	<0,1	1258 ± 21,21
Pr	0,05	0,06	341,3 ± 1,39
Sm	0,1	<0,1	167,3 ± 1,62
Y	0,05	0,15	114,0 ± 0,17

Fonte: Autor.

A soma das concentrações das terras raras indica que o fosfogesso possui 0,61 % em massa destes elementos, o que classifica o material como de baixa concentração. Entretanto, países como Estados Unidos e China processam minérios com 0,3% (m/m) para extração de terras raras (Qu e Lian, 2013), o que mostra que este material é uma possível fonte de extração destes elementos.

### 5.1.3. Consumo ácido

O consumo ácido do fosfogesso foi crescente até 185 horas (Tabela 9) quando alcançou o valor de 27,03 Kg H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ton<sup>-1</sup>. Este consumo pode ser considerado baixo quando comparado a sulfetos de níquel, a exemplo da pentlandita, que apresenta consumo de aproximadamente 250 Kg H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ton<sup>-1</sup> (Cameron et al., 2013). Por possuir sulfato de cálcio como seu principal componente, que é estável em solução de ácido sulfúrico, o baixo consumo apresentado pode ser atribuído ao 0,61 % de terras raras, os quais possivelmente se apresentam na forma de fosfatos destes elementos. Importante ressaltar que quanto maior o consumo ácido apresentado por uma amostra, maior a dificuldade operacional do processo de biolixiviação, visto que este parâmetro é responsável pela elevação dos valores de pH do meio, o que dificulta a atividade microbiológica de bactérias acidofílicas como a *At. thiooxidans*.

Tabela 9 - Consumo ácido do fosfogesso a pH igual a 2,0.

Tempo (horas)	Consumo (Kg H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /ton minério)
0	0
18	13,3
54	22,1
64	22,1
89	22,1
160	24,5
185	27,0
208	27,0
257	27,0
331	27,0
377	27,0
427	27,0
497	27,0

Fonte: Autor.

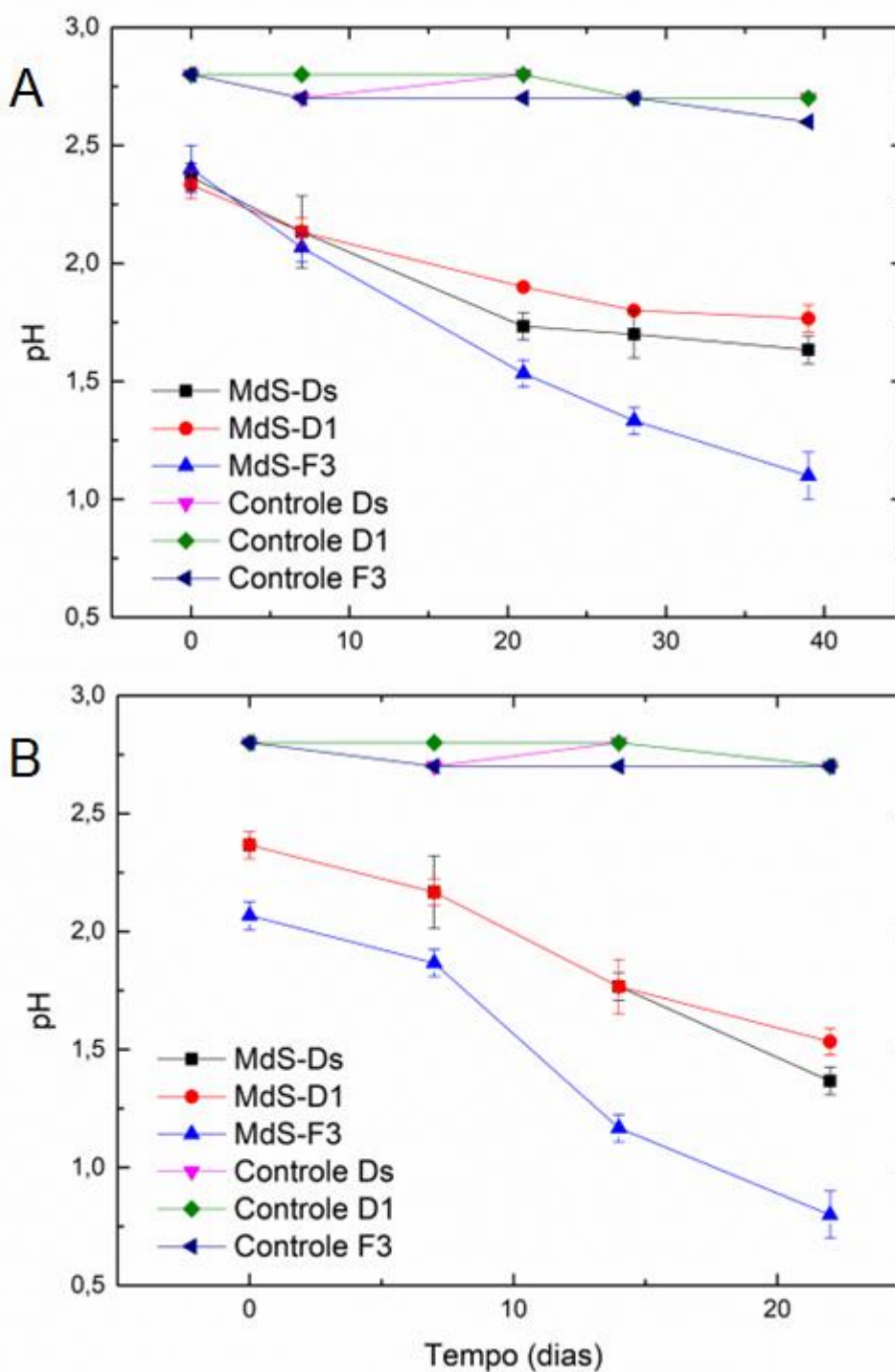
Além disso, baixos valores de consumo ácido representam um ganho econômico para processos, principalmente quando se trata de processos em larga escala, visto que proporciona uso em menor proporção de insumos para controle dos valores de pH e conseqüentemente há uma redução de custo do processo.

## **5.2. Enriquecimento dos consórcios coletados em Canaã dos Carajás**

### **5.2.1. Condição mesofílica para produção de ácido sulfúrico**

Os experimentos na primeira etapa da condição descrita na seção 4.5.1. foram acompanhados por medidas de pH de amostras coletadas para determinar a presença e crescimento de acidofílicas. Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 17.

Figura 17 - Valores de pH durante o primeiro enriquecimento em condições mesofílicas, sem adição (A) e com adição de elementos traço (B). Os respectivos desvios padrões das triplicatas estão contidos em cada ponto do gráfico.



Fonte: Autor.

Considerando que os ensaios foram realizados em triplicatas, pode-se observar que o desvio padrão obtido para os experimentos foram baixos por se tratar de ensaios

biológicos, e que os experimentos controle, que por não terem sido inoculados, apresentam o valor de pH inicial 2,7-2,8. Enquanto os ensaios inoculados apresentam valores de pH menores devido à acidez do inóculo.

Os experimentos utilizando inóculos MdS-Ds e MdS-D1 apresentaram redução dos valores de pH com o passar do tempo, mas estabilizando no patamar de pH  $\approx$  1,5. Enquanto os frascos contendo inóculo da amostra MdS-F3 foram capazes de reduzir os valores de pH para aproximadamente 1,1 em 39 dias, representando a maior produção de ácido sulfúrico entre as amostras coletadas.

Após os 39 dias de experimento, amostras do primeiro enriquecimento foram utilizadas para inocular o segundo experimento, mas com elementos traço. Os resultados foram plotados na Figura 17B.

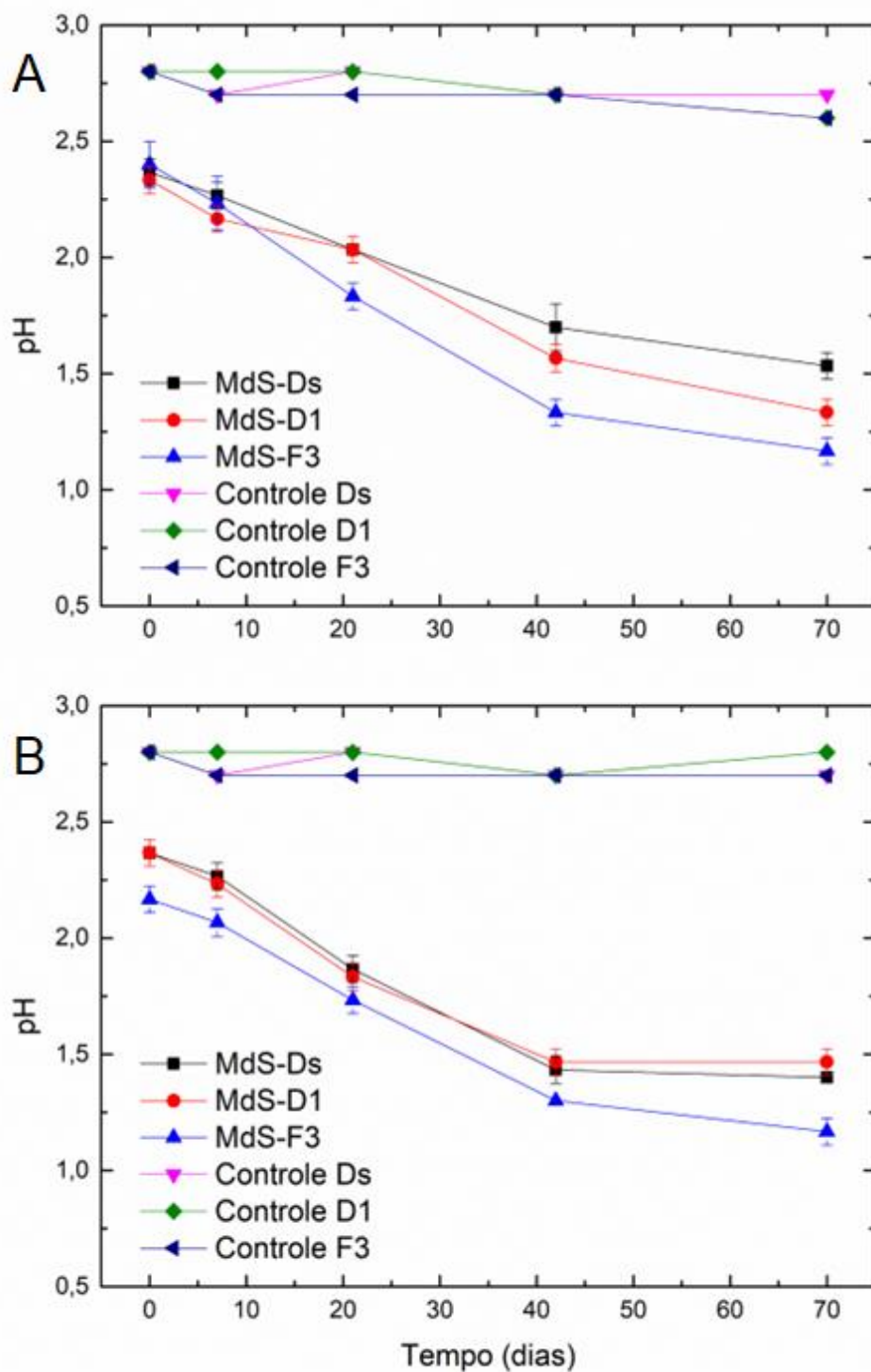
Inicialmente, pode se observar que devido à acidez do inóculo MdS-F3, os valores de pH inicial foram mais baixo para esta condição, iniciando em aproximadamente 2,1. A presença de elementos traço propiciou uma significativa redução do tempo necessário para os frascos inoculados com cepas MdS-Ds e MdS-D1, alcançando valores de pH em 22 dias semelhantes ao obtido sem a presença de elementos traço em 39 dias.

Da mesma forma, para frascos inoculados com amostras providas do MdS-F3 também apresentaram melhora com a adição destes elementos, alcançando valores de pH próximos a 0,8 em 22 dias, o que representa uma melhora significativa de produção quando comparados ao primeiro enriquecimento em condições mesofílicas. Assim, é possível afirmar que foi efetiva a imposição de condições que propiciaram a seleção natural e crescimento específico de micro-organismos acidofílicos produtores de ácido sulfúrico a partir de enxofre elementar.

#### 5.2.2. Condição termofílica para produção de ácido sulfúrico

Os experimentos na primeira etapa da condição descrita na seção 4.5.2. foram acompanhados por medidas de pH de amostras coletadas para determinar a presença e crescimento de acidofílicas. Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 18.

Figura 18 - Valores de pH durante o primeiro enriquecimento em condições termofílicas, sem adição (A) e com adição de elementos traço (B). Os respectivos desvios padrões das triplicatas estão contidos em cada ponto do gráfico.



Os valores de pH apresentados pelos ensaios em condições termofílica mostram que houve a produção de ácido, entretanto, esta foi menor do que a produção em condições mesofílicas. Em comparação, aos 40 dias de experimento a 30 °C, os valores de pH para MdS-Ds, MdS-D1 e MdS-F3 foram: 1,6-1,7; 1,7-1,8 e 1,0-1,2, respectivamente. Enquanto a 65 °C os valores de pH foram: 1,6-1,8; 1,5-1,6 e 1,3-1,4, respectivamente. Este resultado mostra que a produção de ácido para MdS-Ds e MdS-D1 foram semelhantes em condições meso e termofílicas, entretanto, o inóculo MdS-F3 apresentou melhores resultados em condição mesofílica.

O comportamento dos ensaios de pH para condição mesofílica indica que após 40 dias de experimento, a produção de ácido para os inóculos MdS-Ds e MdS-D1 alcançou a fase estacionária, enquanto na condição termofílica esta fase foram necessários 70 dias de experimento para que isso acontecesse. Após este período, os valores de pH alcançados a 65 °C para MdS-Ds, MdS-D1 e MdS-F3 foram: 1,6-1,5; 1,3-1,4 e 1,1-1,2, respectivamente. Assim, por comparação, no primeiro repique da etapa de enriquecimento foi possível observar que MdS-Ds e MdS-D1 produziram mais ácido em condição termofílica. Entretanto, MdS-F3 apresentou maior produção em condição mesofílica, na qual alcançou menores valores de pH em menos tempo nesta condição, e foi o inóculo que apresentou melhores resultados entre todos testados.

Após a primeira etapa de enriquecimento, amostras de cada frasco foram utilizadas para inocular o segundo enriquecimento, mas desta vez com meio de cultura 9K suplementado com elementos traço. Os resultados da condição termofílica está apresentado na Figura 18B.

Primeiramente, comparando o primeiro com o segundo enriquecimento para condição termofílica é possível observar que tanto MdS-Ds quanto MdS-D1 apresentaram maior produção de ácido no segundo ensaio, indicando que a presença de elementos traço auxilia o crescimento de micro-organismos e conseqüentemente, a produção de ácido sulfúrico, visto que é produto do metabolismo primário deles. Após 45 dias de experimento, os valores de pH dos ensaios MdS-Ds, MdS-D1 e MdS-F3 foram: 1,4; 1,4-1,5 e 1,1-1,2, respectivamente. Ou seja, em menos tempo foram capazes de produzir uma maior quantidade de ácido, reduzindo os valores de pH do meio.

Entretanto, quando se compara o segundo enriquecimento da condição mesofílica com a condição termofílica observa-se que o inóculo que produziu mais ácido sulfúrico, alcançando menores valores de pH foi o MdS-F3 a 30 °C na presença de elementos traço, que foi capaz de abaixar o pH do meio para 0,7-0,9 em 22 dias. Enquanto os inóculos MdS-Ds e MdS-D1 alcançaram valores de pH semelhantes para condição meso e termofílica na presença de elementos traço, mas ambos não foram capazes de abaixar o pH para abaixo de 1,3 sob temperatura de 65 °C.

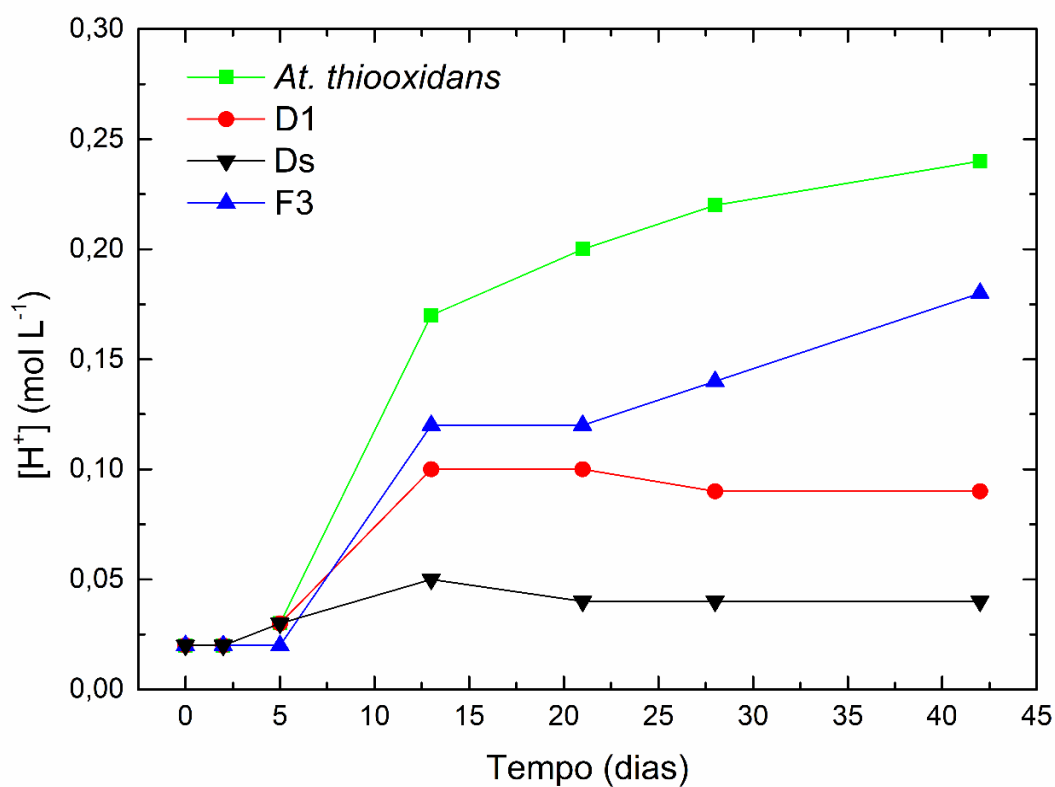
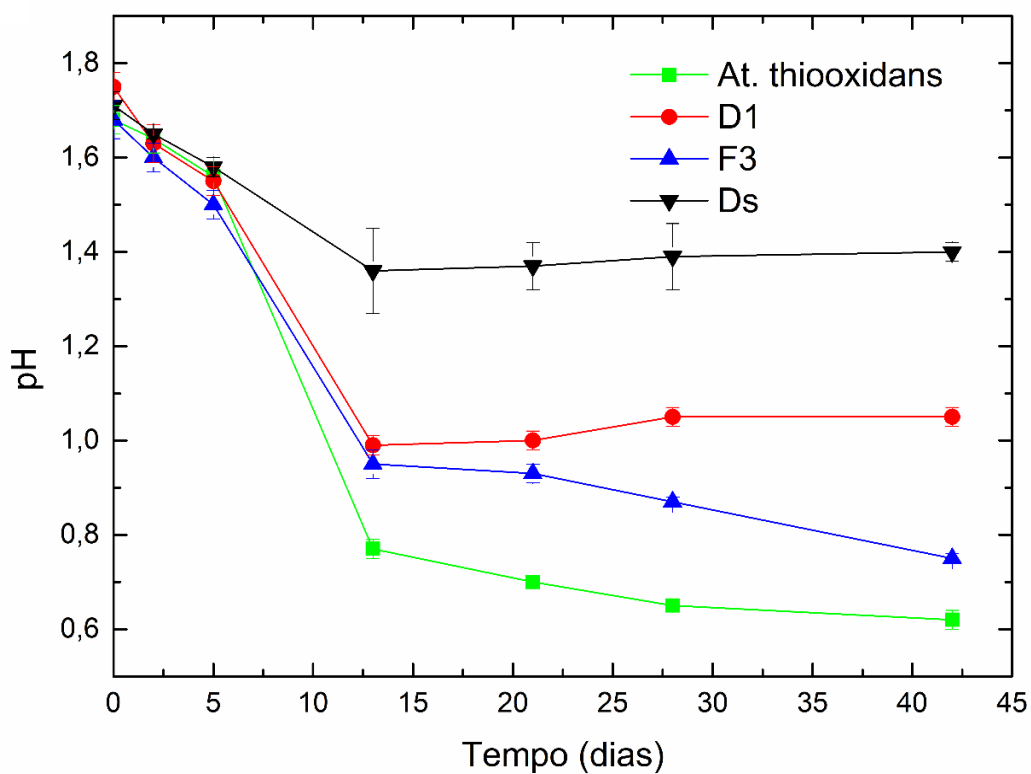
Após o segundo enriquecimento, amostras das soluções obtidas foram utilizadas de inóculo para o ensaio de produção de ácido sulfúrico e comparados com a bactéria *At. thiooxidans*- FG01, como descrito na seção 4.6.

### **5.3. Determinação da capacidade de produção de ácido sulfúrico**

Ao se comparar a produção de ácido das três cepas coletadas da mina do Sossego – PA com a *At. thiooxidans*-FG01 em condição mesofílica, com meio de cultivo 9K suplementado com elementos traço (Figura 19), é possível observar que a esta foi capaz de produzir mais ácido sulfúrico do que as três cepas coletadas, corroborando com a literatura que afirma ser a bactéria conhecida de maior capacidade de produção deste composto. Nesta condição, foi capaz de alcançar valores de pH iguais a 0,6 em 28 dias de experimento, resultado condizente com o encontrado na literatura (Calle-Castaneda et al., 2018b) para esta espécie de bactéria.

Figura 19 - Valores de pH e concentração de íons H<sup>+</sup> obtidos pela MdS-D1, MdS-Ds, MdS-F3 e *At. thiooxidans* sob condições mesofílicas durante 42 dias de experimento em escala de

frasco. Os respectivos desvios padrões das triplicatas estão contidos em cada ponto do gráfico.



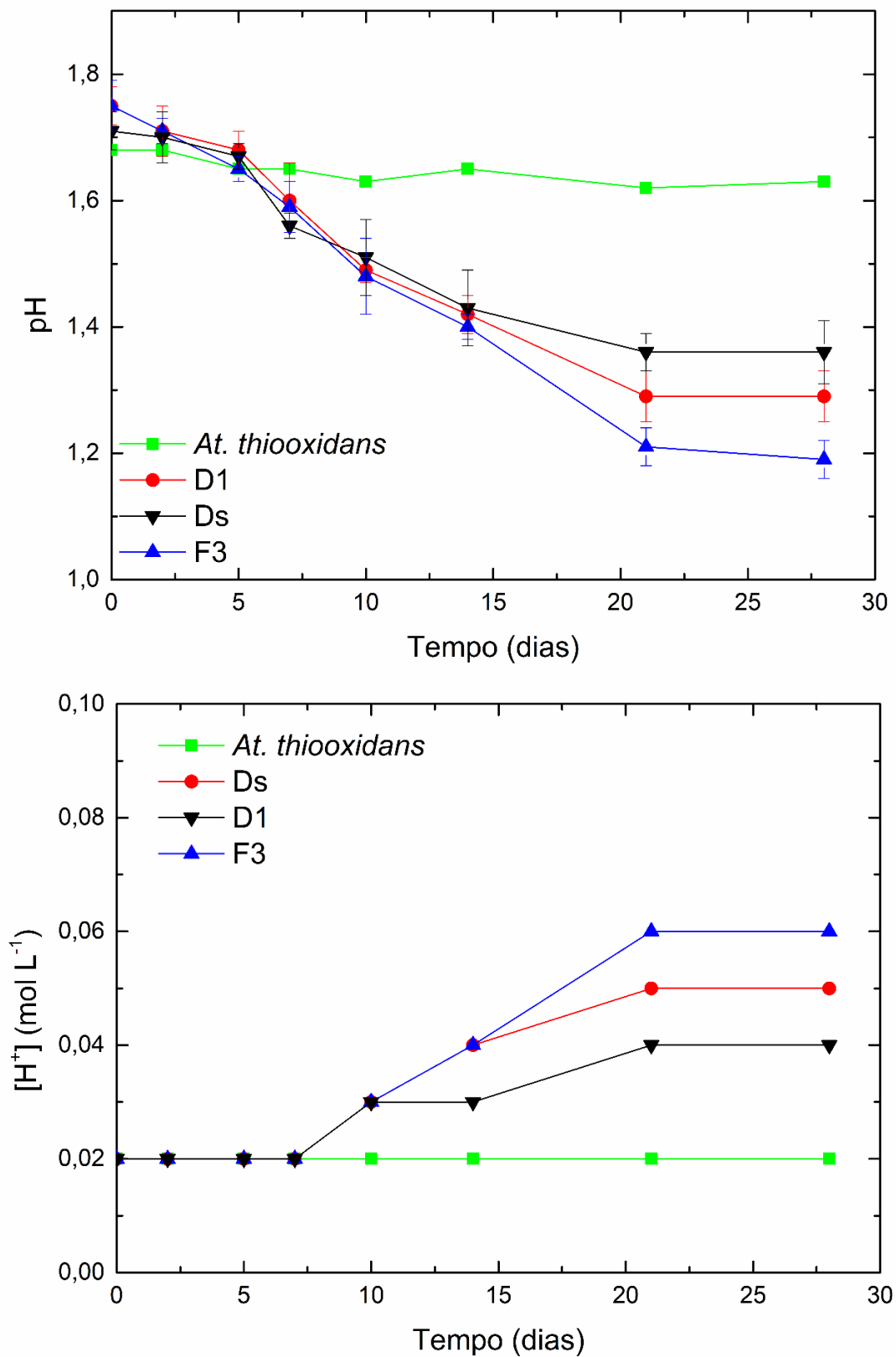
Fonte: Autor.

Além disso, a concentração de H<sup>+</sup> máxima alcançada no meio de cultura consumido pela *At. thiooxidans*-FG01 foi de 0,24 mol L<sup>-1</sup> em 42 dias e a maior taxa de

produção deste composto aconteceu entre os dias 5 e 13, nos quais ela produziu  $0,175 \text{ mols H}^+ \text{ L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ . A cepa que apresentou a segunda maior produção de ácido sulfúrico foi a MdS-F3, que abaixou o pH do meio para aproximadamente 0,075 em 42 dias de experimento. Da mesma forma, a maior taxa de produção de ácido para esta cepa aconteceu entre os dias 5 e 13, nos quais ela produziu  $1,25 \text{ mols H}^+ \text{ L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ . Em condições mesofílicas tanto Ds quanto D1 apresentaram produção de ácido inferiores a MdS-F3.

É amplamente conhecido que a *At. thiooxidans* é uma bactéria mesofílica cuja temperatura ótima varia entre 30 e 35 °C. (Johnson, 2014), entretanto, para fins de comparação com as demais cepas, ela foi submetida em experimentos a 65 °C. A Figura 20 apresenta os resultados destes experimentos, e nela é possível que a bactéria *At. thiooxidans*-FG01 não apresentou produção de ácido sulfúrico e os valores de pH permaneceram constantes durante os 26 dias de experimento. Isso se deve pelo fato de que a produção deste ácido é resultado do metabolismo primário deste micro-organismo, que consome enxofre elementar e o oxida a sulfato, gerando energia, e conseqüentemente, por estar em condição termofílica, este comportamento não aconteceu por estar fora da temperatura ótima de trabalho, resultando na estagnação do pH do meio.

Figura 20 - Valores de pH e concentração de íons  $H^+$  obtidos pela MdS-D1, MdS-Ds, MdS-F3 e *At. thiooxidans* sob condições termofílicas durante 26 dias de experimento em escala de frasco.



Fonte: Autor.

Relacionando os dados obtidos do ensaio de consumo ácido de fosfogesso com a produção biológica de  $H_2SO_4$ , na melhor condição encontrada (utilizando a *At. thiooxidans* a  $30^\circ C$  na fase exponencial de crescimento – dias 5 e 13) é possível afirmar que neste período esta bactéria foi capaz de suprir a demanda de ácido do fosfogesso e promover a redução do valor de pH do meio. Isso ocorre porque como descrito na Seção 5.1.3. o maior consumo de ácido ocorre nas primeiras 18 horas. O consumo neste período por 2,0 g de fosfogesso foi de aproximadamente 0,0266 g de  $H_2SO_4$ , extrapolando a capacidade produtiva da bactéria utilizada, calcula-se que durante sua fase exponencial de crescimento é capaz de produzir 0,6431 g de  $H_2SO_4$  no mesmo período, o que equivale a 24 vezes o consumido pelo fosfogesso.

Além disso, como o consumo do fosfogesso é maior nas horas iniciais de contato com a solução ácida e assim, é reduzido com o passar do tempo até a estabilização, calcula-se que após 185 horas – período no qual o fosfogesso deixa de consumir ácido e se estabiliza – o micro-organismo seria capaz de produzir 4,95 g de  $H_2SO_4$  enquanto a demanda de 2,0 g de fosfogesso após este tempo é de 0,054 g de  $H_2SO_4$ , mostrando possibilidade de redução do valor de pH do meio de cultivo.

Com estas afirmações também é possível estimar que seria possível aumentar a densidade de polpa de fosfogesso, visto que há uma maior produção de ácido do que deste é demandado. Teoricamente, em condições ótimas de produção de ácido e mantendo o micro-organismo em crescimento logarítmico, seria possível processar fosfogesso a uma proporção de 48 g de fosfogesso para cada 100 mL de cultivo por dia. Entretanto, na prática há limitações como: a dificuldade de manter bactérias acidofílicas sempre na fase log de crescimento, a possível inibição do micro-organismo por componentes do material, tensão de cisalhamento da solução que aumenta com a densidade de polpa e por fim, a saturação de produtos lixiviados.

Diferentemente do obtido para a *At. thiooxidans*-FG01, MdS-D1, MdS-Ds e MdS-F3 apresentaram produção de ácido e abaixamento dos valores de pH do meio de cultivo. Isso indica que as amostras coletadas contêm micro-organismos termofílicos que são capazes de sobreviver em condições ácidas, como reportado na literatura, grande parte deles podem ser arqueas capazes de produzir ácido sulfúrico (Johnson, 2014).

#### 5.4. Sequenciamento genético e identificação das espécies presentes

Com o objetivo de complementar o entendimento do processo de produção de ácido sulfúrico pelos micro-organismos coletados, foi realizado o sequenciamento genético que possibilitou a identificação de espécies relacionadas a esta capacidade. Desta forma, como a identificação é respectiva a amostras coletadas antes da etapa de enriquecimento, é possível apenas afirmar que as espécies identificadas podem estar presente, e possivelmente em maior abundância devido a condição imposta, mas não é possível dizer que a composição dos inóculos seja exatamente a mesma, pois pode ter passado por alterações provenientes da imposição de meio seletivo.

Assim, os resultados do sequenciamento Illumina mostraram que antes de serem submetidas ao enriquecimento, MdS-Ds continha fungos como micro-organismos mais abundantes, sendo eles do gênero *Neurospora*, *Saitoella*, *Paracoccidioides* e *Kwoniella*, somando 93,44% da abundância relativa nesta amostra. Apesar disso esta amostra apresentou *Leptospirillum ferrooxidans* (0.07%), *Leptospirillum ferriphilum* (0.1%), *Acidiferrobacter spp.* (0.07%) e *Acidithiobacillus spp.* (0.04%). A amostra MdS-D1 também continha fungos dos gêneros *Neurospora* e *Aspergillus* (juntos 98,86% da abundância relativa) como os mais abundantes, mas também apresentou *Acidimicrobium spp.* (0.1%) e *Leptospirillum ferrooxidans* (0.07%). E a amostra MdS-F3 continha *Thiobacillus spp.* (0.35%), *Aciditerrimonas sp.* (0.25%) e *Acidimicrobium spp.* (0.11%), três oxidantes de enxofre elementar em pequena proporção, e assim como as duas cepas anteriormente citadas continha fungos como os micro-organismos mais abundantes, estes dos gêneros *Neurospora*, *Uwebraunia*, *Paracoccidioides*, *Amphisphaeria* e *Fusarium*, que juntos somaram 83,04 % da abundância relativa. Mas é necessário levar em consideração que após dois estágios de enriquecimento, e em diferentes condições de temperatura, os inóculos iniciais coletados (cujos resultados foram acima citados) devem ter sofrido alteração, possibilitando uma maior concentração de micro-organismos produtores de ácido sulfúrico para ambas as condições de temperatura. Aumento de concentração este que foi provocado pela imposição de meio de cultivo específico que, devido aos valores de pH extremos e fornecimento de enxofre como fonte de energia, reduzem a possibilidade de crescimento de espécies heterotróficas. Outro fator importante a ser mencionado é que a fonte de carbono fornecida para estes cultivos foi o gás carbônico presente no ar atmosférico, o que também reduz possibilidade de crescimento de heterotróficos.

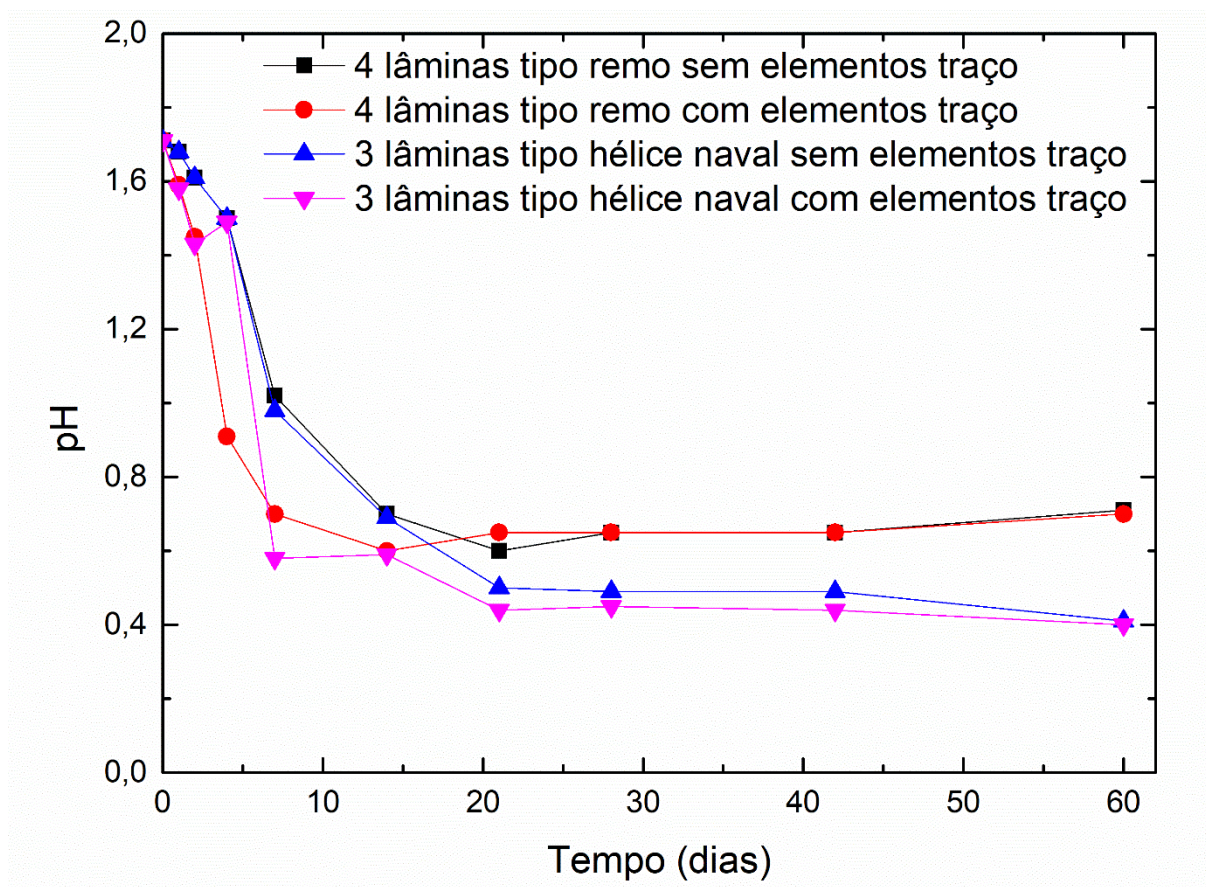
Dentre as espécies identificadas, tanto a *Acidimicrobium* (bacteria oxidante de ferro e enxofre) e *Aciditerrimonas* (bacteria redutora de ferro) são termofílicas moderadas (Johnson, 2014) e apresentam temperatura ótima de trabalho entre 45 e 60 °C. Isso corrobora com os resultados obtidos, nos quais houveram produção de ácido sulfúrico em condições termofílicas. As cepas MdS-Ds e MdS-D1 apresentaram menor capacidade de produção de ácido sulfúrico e suas composições microbiológicas apontam, dentre as acidofílicas, a *Leptospirillum* e *Acidiferrobacter*, que não são oxitantes de enxofre e sim de ferro, mas conseguem suportar bem os baixos valores de pH. Por outro lado, a cepa MdS-F3 apresentou em sua composição inicial *Aciditerrimonas*, *Acidimicrobium* e *Thiobacillus*, que são capazes de produzir ácido sulfúrico através da oxidação do enxofre elementar. Dentro desta análise, é importante mencionar que apesar de as amostras MdS-D1 e MdS-Ds não terem apresentado estes três gêneros produtores de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nos resultados obtidos, há a possibilidade de terem a presença destes micro-organismos em proporções inferiores ao limite de detecção da técnica utilizada, mas, com repiques sucessivos, é possível que tenham se desenvolvido, mesmo que em menor proporção do que para a cepa MdS-F3 que já apresentou desde o inóculo inicial.

Apesar de altas temperaturas, de maneira geral, favorecerem a cinética de reações químicas, não é o que acontece no caso em questão, visto que o processo de oxidação do enxofre elementar é exotérmico e portanto, é prejudicado em temperaturas mais elevadas (Sebbar et al., 2019). Neste aspecto, MdS-Ds, MdS-D1 e MdS-F3 apresentaram menores produções de íons H<sup>+</sup> na condição termofílica do que na mesofílica. Por fim, a cepa que apresentou melhor resultado de produção de ácido sulfúrico e redução do valor de pH foi a *At. thiooxidans*-FG01 a 30 °C, alcançando concentração deste íon acima de 0,2 mol L<sup>-1</sup> em 20 dias de experimento, o que consolida a doutrina majoritária encontrada na literatura que a considera a melhor produtora de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conhecida. Por esse motivo, a *Acidithiobacillus thiooxidans*-FG01 foi selecionada para os experimentos realizados em etapas posteriores tanto para produção de ácido em escala de reator quanto para biolixiviação de terras raras.

### 5.5. Produção de ácido sulfúrico em reator de tanque agitado

Dois tipos de lâminas agitadoras foram testadas com relação a produção de ácido sulfúrico pela bactéria *At. thiooxidans*-FG01, na presença e ausência de elementos traço (Figura 21). Foi possível constatar que, neste caso, independentemente da presença de elementos traço, o valor de pH obtido ao final dos experimentos foram semelhantes para cada lâmina testada. Assim, após 60 dias, o valor de pH final para os experimentos com impelidor de 4-lâminas foi de aproximadamente 0,7, e o valor de pH para o impelidor de 3-lâminas tipo hélice naval foi de 0,4.

Figura 21 - Valores de pH durante o experimento de produção de ácido sulfúrico por diferentes lâminas agitadoras na presença e ausência de elementos traço.



Fonte: Autor.

A presença de elementos traço impactou no tempo necessário para se alcançar a maior concentração de íons  $H^+$  no meio (menores valores de pH) e não no valor final. Por exemplo, para o impelidor com 3-lâminas do tipo hélice naval na presença de elementos traço alcançou valor de pH igual a 0,6 em 7 dias de operação, enquanto na ausência destes elementos foram necessários 14 dias de operação. Neste caso, a

adição de elementos traço favoreceu o processo de bioprodução de ácido sulfúrico, reduzindo pela metade o tempo necessário para alcançar pH = 0,6.

Uma possível explicação para este resultado é a otimização da atividade enzimática causada pela presença de elementos traço, que no metabolismo microbiano atuam também como cofatores enzimáticos e por consequência, possibilitam à bactéria, produzir enzimas necessárias para se adequar a condições adversas (Costa et al., 2020). Além disso, a suplementação de nutrientes em condições não prejudiciais auxiliou o metabolismo (Meyer-Dombard et al., 2012) e consequentemente, neste caso, a produção de ácido sulfúrico.

Como dito anteriormente, o tipo impelidor influencia o valor final do pH obtido, e por consequência, a concentração de H<sup>+</sup> em solução. Independentemente da presença de elementos traço, o valor final de pH obtido para o impelidor de 3-lâminas tipo hélice naval foi de 0,4, enquanto para o impelidor de 4-lâminas comum foi de 0,7 no mesmo tempo de operação. Este resultado pode ser explicado pela alteração dos parâmetros: força de cisalhamento, transferência de massa sólido-líquido e interface gás-líquido, causados pelos diferentes impelidores, e isso influencia diretamente o crescimento de micro-organismos.

Com relação a força de cisalhamento causada pelas partículas de enxofre elementar dispersas no meio de cultura, a agitação mecânica pode provocar morte celular e prejudicar o crescimento de células viáveis, impactando a produção de ácido sulfúrico. Entretanto, o aumento da agitação (principalmente com o uso do impelidor do tipo hélice naval, que desloca maior quantidade de líquido a baixas rotações) promove uma transferência de massa sólido-líquido mais efetiva, o que resulta em uma maior difusão do ácido produzido na interface do enxofre com o meio de cultivo. Da mesma forma, o maior deslocamento de líquido provocado pela utilização do impelidor tipo hélice naval promove maior transferência de massa gás-líquido, possibilitando maior difusão de oxigênio e gás carbônico para a solução do que quando utilizado o impelidor do tipo remo. Foi reportado em artigos científicos que a força de cisalhamento impacta diretamente no crescimento microbiano e em seu metabolismo (Bayat & Sari, 2010). De maneira similar, isso também foi relatado para *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Pseudomonas fluorescens* (Shaikh et al., 2008).

### 5.6. Biolixiviação de terras raras

Considerando a metodologia experimental descrita na Seção 4.8, a Figura 22 apresenta os resultados dos experimentos de biolixiviação one-step, two-step e seus respectivos controles. Observa-se que na primeira parte da biolixiviação *two-step* o micro-organismo foi capaz de abaixar o pH do meio para 0,6 em 25 dias, e após esse período o fosfogesso contendo terras raras foi adicionado. O consumo ácido deste composto provocou a elevação do pH do meio de cultivo, o que pode ser explicado pelas Equações 7 a 10, nas quais TR representa elementos terras raras, discutidas por trabalhos publicados (Demol et al., 2019; Rasoulnia et al., 2020; Wang et al., 2010).

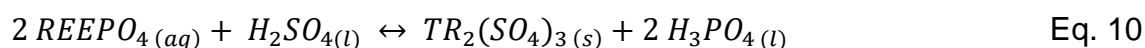
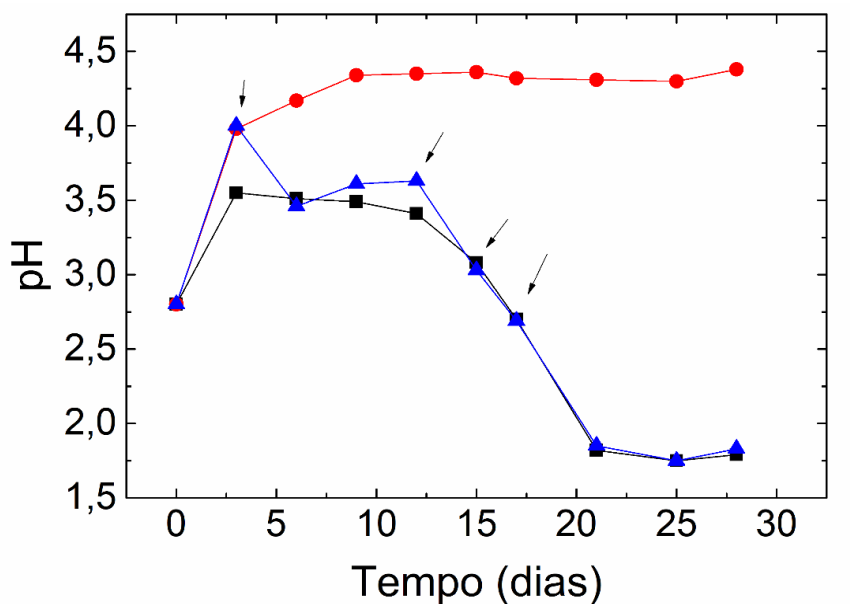
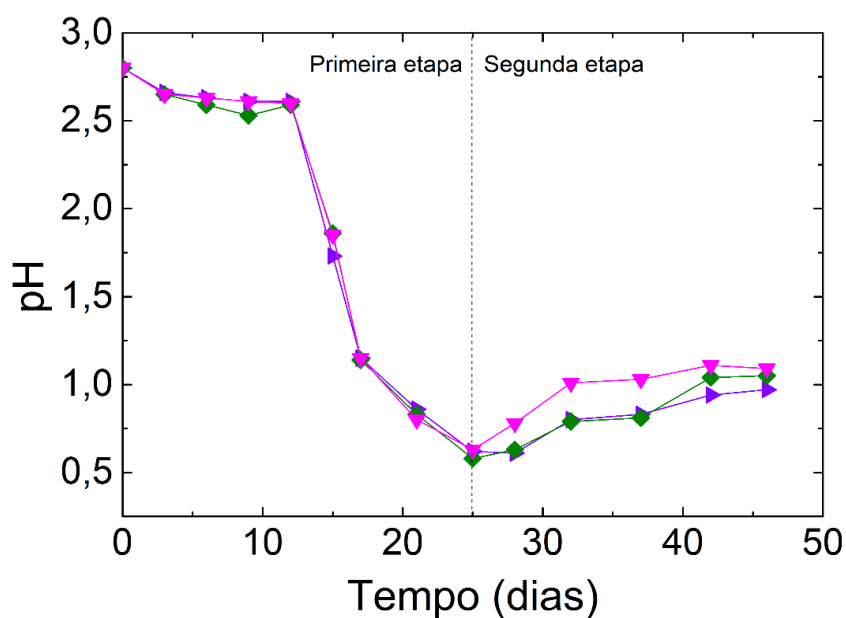


Figura 22 - Valores de pH durante o experimento de biolixiviação de terras raras nos modos *one-step*, *two-step*, *spent medium* e seus respectivos controles. As setas pretas representam adições de ácido sulfúrico comercial.



- Biolixiviação *one-step*
- Controle abiótico
- ▲ Controle ácido da biolixiviação *one-step*



- ▶ Controle ácido da biolixiviação *two-step*
- ◆ Biolixiviação *spent medium*
- ▼ Biolixiviação *two-step*

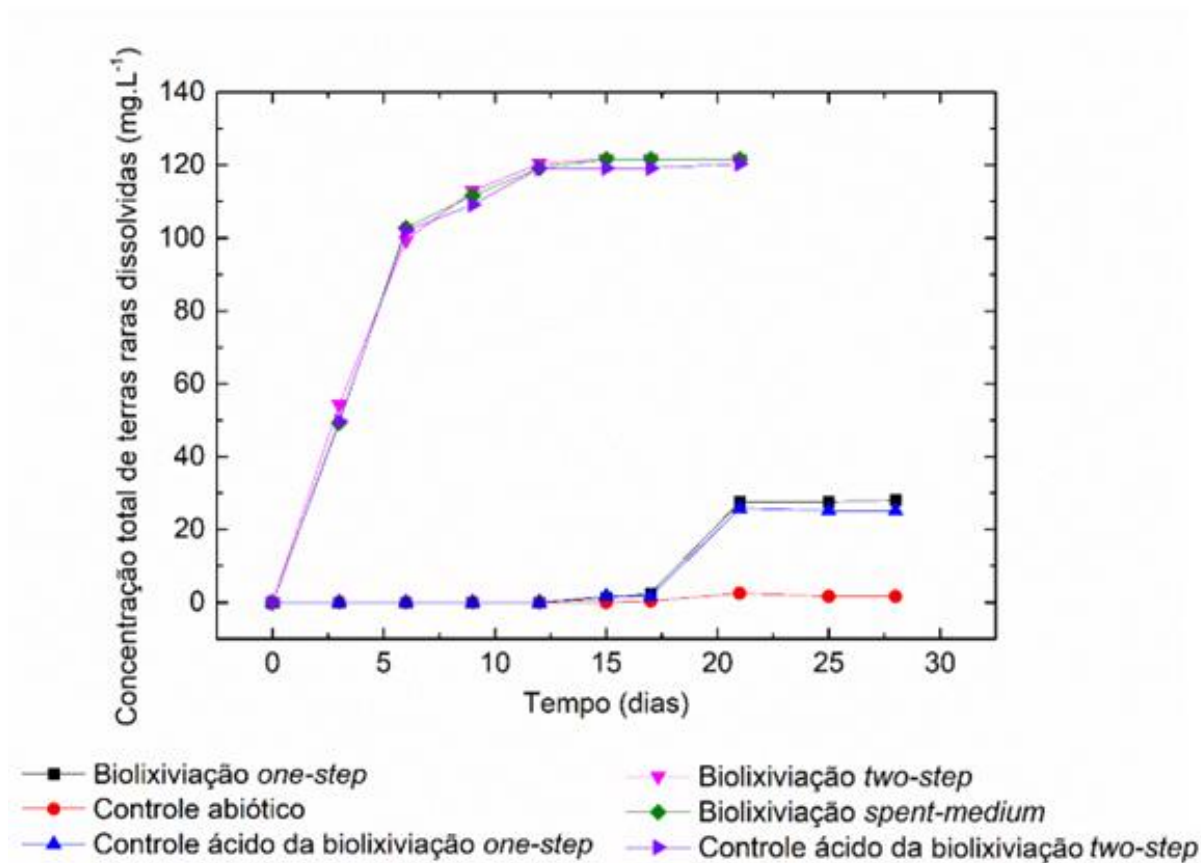
O experimento de biolixiviação *one-step* iniciou com pH = 2,8 e, devido alcalinidade e consumo ácido do fosfogeno, este valor foi elevado para 3,5 após 4 dias. Este comportamento inibe o crescimento microbiológico pela condição de pH estar fora o ótimo para este micro-organismo, e devido a isso, foi necessário um período de 15 dias para alcançar a condição inicial de pH. Isso representa uma limitação do processo tradicional *one-step* que, apesar de ser o mais utilizado para muitos casos de biolixiviação, não se mostrou tão efetivo do ponto de vista de produção de ácido e redução do pH como o *two-step*. O controle ácido do experimento biolixiviação *one-step* se comportou de maneira muito semelhante. Neste, inicialmente ocorreu a elevação do pH do meio até valores próximos a 4,0, e neste ponto, é necessário comparar com o valor de 3,5 obtido para a biolixiviação *one-step*. Essa diferença é devido a presença de micro-organismos que, apesar de estarem fora do pH ótimo, foram capazes de produzir uma quantidade de ácido sulfúrico para diferenciar o pH do meio de 3,5 (no *one-step*) para 4,0 no controle que não há a presença de bactérias.

No quarto dia de experimento foi realizada a medida de pH e, para imitar o valor do ensaio contendo bactéria, foi adicionado ácido sulfúrico comercial até o valor de pH do meio de cultivo do controle ácido se igualar ao do *one-step*. Todas as setas pretas apresentadas no gráfico de pH representam adições de ácido sulfúrico comercial para imitar a produção biológica. Esta adição foi realizada para se estudar a influência da presença da bactéria na solubilização de terras raras, em resultados posteriormente apresentados nesta tese. Apesar de não haver diferença de valores de pH entre os ensaios Biolixiviação *one-step* e controle ácido do *one-step*, houve adição (representada pelas setas) nos dias 15 e 17 por evidências empíricas obtidas em experimentos anteriores não apresentados, mas que mostraram que havia a redução do pH. Assim, para efetiva imitação dos valores de pH entre estes dois ensaios, foram realizadas estas duas adições, que provaram ser eficazes pois resultaram em valores de pH muito próximos entre os experimentos.

O controle abiótico, de maneira semelhante, apresentou elevação do valor de pH até o quarto dia de experimento, mas como neste caso não houve adição de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, o pH permaneceu em valores próximos a 4,0-4,5 durante todo o experimento. Isso prova que a presença de bactéria é responsável pelo abaixamento dos valores de pH e na ausência de *At. thiooxidans*, o valor de pH permanece sem redução.

Neste mesmo experimento, foram realizadas medidas de terras raras totais em solução e os resultados estão expressos no gráfico representado pela Figura 23.

Figura 23 - Concentração total de terras raras dissolvidas nos experimentos de biolixiviação one-step, two-step, spent medium e seus respectivos controles. O dia zero das variações *two-step* indicam a adição do fosfogesso à solução ácida.



Fonte: Autor.

Considerando que o gráfico acima representa o início da biolixiviação, que no caso da *one-step* inicia-se com a adição conjunta do fosfogesso ao meio de cultura recém inoculado, e no caso da *two-step* ocorre com a adição do fosfogesso à solução previamente crescida de *At. thiooxidans*-FG01 cujo pH alcançou 0,6 na primeira etapa descrita na Figura 22. Observa-se que três condições se destacam, apresentando maior solubilização de elementos terras raras, são elas: biolixiviação *two-step*, biolixiviação *spent medium* e controle ácido da biolixiviação *two-step*. Nestes experimentos, foi possível lixiviar 100 mg L<sup>-1</sup> em 7 dias o que perfaz uma taxa de aproximadamente 14,3 mg L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de elementos terras raras solubilizados.

Ao interpretar os resultados de pH deste experimento é possível identificar que estas três condições foram a que o fosfogesso foi adicionado à segunda etapa do processo *two-step*, na qual o meio de cultivo apresentava valor de pH aproximadamente 0,6. Este comportamento indica que apenas a presença do ácido sulfúrico é responsável pela lixiviação de terras raras, independentemente de sua procedência. Ou seja, não importa se foi a bactéria que produziu ou se o ácido era o comercial, os valores de extração de terras raras foi similar. Este comportamento é similar ao descrito por Calle-Castaneda *et al* (2018b) que estudou a mesma bactéria. Como não há outros trabalhos publicados que utilizaram bactérias produtoras de ácido sulfúrico, os resultados obtidos foram comparados com trabalhos que utilizaram micro-organismos heterotróficos. Neste aspecto, os resultados obtidos se diferem do descrito na literatura para fungos produtores de ácidos orgânicos como *Aspergillus niger* (Shah *et al.*, 2020), *Gluconobacter oxydans* (Reed *et al.*, 2016) e *Penicillium tricolor*, isso ocorre porque os ácidos produzidos – majoritariamente cítrico e oxálico – têm papel importante na biolixiviação. Mas não atuam sozinhos porque também há a influência de metabólitos secundários como aminoácidos e proteínas que auxiliam na extração destes elementos, pois são capazes de formar complexos solúveis com elementos terras raras, o que também previne possíveis inibições por estes compostos (Qu *et al.*, 2013). Ressalto que como não há outros trabalhos publicados na literatura acerca de bactérias produtoras de ácido sulfúrico, a discussão acima requisitou comparar com resultados obtidos por trabalhos com fungos produtores de ácidos complexantes.

Interpretando o experimento de biolixiviação *one-step* é possível notar que por 17 dias praticamente não houve solubilização de terras raras. Isso tem relação direta com os valores de pH pois, como acima discutido, este experimento sofreu elevação dos valores deste parâmetro e demorou 15 dias para retornar ao pH inicial. Assim, observa-se que os elementos TR só passaram a ser lixiviados em pH abaixo de 2,0, o que representa uma limitação da metodologia de biolixiviação *one-step*.

Entretanto, após o retorno ao pH inicial, iniciou-se a extração de TR que aos 21 dias de experimento alcançou seu valor máximo de 28 mg L<sup>-1</sup>. A maior taxa de solubilização deste experimento ocorreu entre os dias 14 e 21, nos quais houve uma lixiviação de 2 mg L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, que comparando com o modo de biolixiviação *two-step* é uma taxa 7 vezes menor. O controle ácido do experimento de biolixiviação *one-step* apresentou resultados equivalentes, corroborando com a explicação de que o ácido

sulfúrico é o único responsável pela extração destes elementos, independentemente de sua procedência. Para melhor visualização da relação do pH com a extração de terras raras, a Tabela 10 apresenta um resumo destes dados.

Tabela 10 - Resumo dos dados de extração de terras raras, pH inicial e pH final em cada uma das condições testadas em frascos Erlenmeyers.

Experimento	pH inicial	pH final	pH mínimo obtido	Terras raras totais lixiviadas (mg L <sup>-1</sup> )
Biolixiviação <i>one-step</i>	2,80	1,79	1,75	28,1
Controle abiótico	2,80	4,38	2,8	1,7
Controle ácido da biolixiviação <i>one-step</i>	2,80	1,83	1,75	25,2
Biolixiviação <i>two-step</i>	2,80	1,09	0,63	121,6
Biolixiviação <i>spent medium</i>	2,80	1,05	0,61	121,6
Controle ácido da biolixiviação <i>two-step</i>	2,80	0,97	0,63	120,3

Fonte: Autor.

Importante ressaltar outra vantagem do processo *two-step* com relação ao *one-step* que é a prevenção da inibição do crescimento biológico pela elevação do pH do meio. Pois, como o processo *two-step* inicia com uma etapa de crescimento em condições ótimas, produz ácido e reduz o pH de maneira mais efetiva por não entrar em contato com o fosfogesso, e só após o crescimento ocorrer é adicionado o material contendo terras raras. Isso previne elevação do pH e possíveis inibições por elementos contidos no fosfogesso, otimizando o processo de extração.

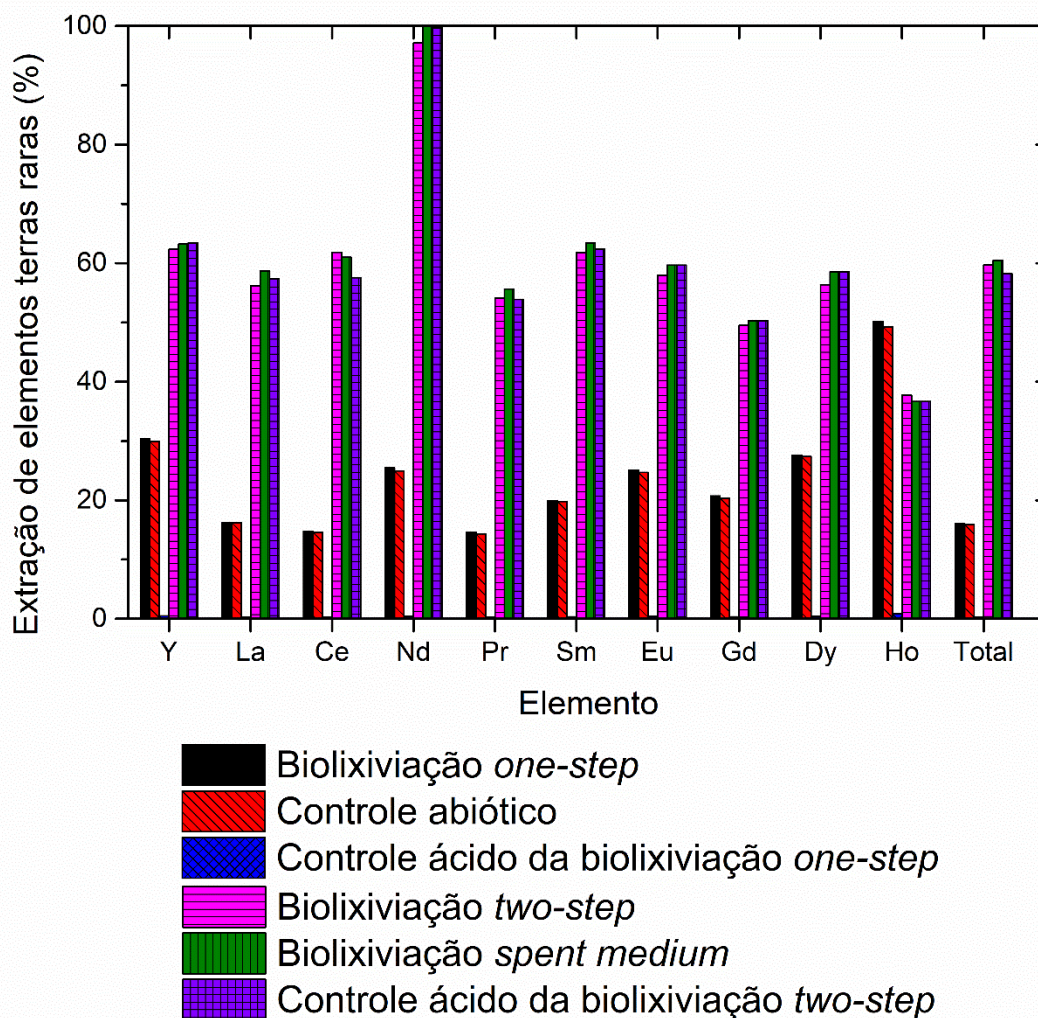
Tanto no experimento *one-step* quanto no *two-step* a solubilização de elementos terras raras prevalece pela formação dos complexos REE(HSO<sub>4</sub>)<sup>2+</sup> e REE(HSO<sub>4</sub>)<sub>2</sub><sup>+</sup> que têm sua solubilidade aumentada com a redução da temperatura, o que também favorece a extração por micro-organismos mesofílicos como a *At. thiooxidans*.

O controle abiótico não apresentou solubilização de terras raras, visto que sofreu elevação do pH do meio e não havia micro-organismos para possibilitar a

produção de ácido. Isso também indica que apenas o ácido do meio de cultivo não é o suficiente para extrair terras raras, o que atribui toda a extração aos ácidos produzidos pela *At. thiooxidans* ou pelos adicionados nos controles ácidos.

A concentração de cada um dos elementos terras raras, determinada por ICP-OES, está apresentada na Figura 24. Destaca-se a extração de neodímio, que nos experimentos de biolixiviação *two-step*, controles *spent medium* e controle ácido apresentaram extração de 98-100% deste elemento ao final do experimento. Enquanto no modo de biolixiviação *one-step* e seu respectivo controle ácido, a extração deste elemento foi de 28%. Os demais elementos terras raras foram solubilizados na faixa de 54-63 % para no modo biolixiviação *two-step* e cerca de 14-29% no modo de biolixiviação *one-step*. Excetuando-se o hólmio, que apresentou maior solubilização no modo *one-step* do que no modo *two-step*. Essa divergência pode ser atribuída à baixa concentração deste elemento no fosfogesso ( $4,77 \text{ mg Kg}^{-1}$ ). Assim, em termos de comparação, um erro analítico de  $1 \text{ mg Kg}^{-1}$  representa uma solubilização de 20,9% para este elemento, enquanto este mesmo erro para o elemento cério ( $2726 \text{ mg Kg}^{-1}$  no fosfogesso) representa uma solubilização de 0,036%.

Figura 24 - Concentrações individuais dos elementos terras raras solubilizados, determinadas por ICP-OES, no experimentos de biolixiviação one-step, two-step, spent medium e seus respectivos controles.



Fonte: Autor.

A soma das extrações individuais dos elementos terras raras foi de 58,2-60,5 % para os modos de biolixiviação *two-step* e seus controles. Este resultado é equivalente ao determinado em trabalhos da literatura que utilizaram ácido sulfúrico comercial para extração de terras raras leves (Salo *et al.*, 2020) e biolixiviação modo *two-step* usando fungos produtores de ácidos cítrico e oxálico (Qu & Lian, 2013). Além disso, o resultado obtido representa o dobro da extração (em porcentagem) do obtido no processo hidrometalúrgico de extração de terras raras presentes em monazita (Panda *et al.*, 2014).

Em termos de viabilidade do processo de extração de terras raras, é importante salientar a vantagem de se utilizar micro-organismos autotróficos como

bactérias/arqueas produtores de ácido sulfúrico em comparação a micro-organismos heterotróficos produtores de ácidos orgânicos. Uma das vantagens é o custo de crescimento e manutenção, pelo meio de cultivo, que no caso de bactérias autotróficas é mais simples e requer menor quantidade de sais minerais e nutrientes, além de não necessitar o fornecimento de fontes de energia orgânica.

Diferentemente disso, para heterotróficos como fungos, é necessário o fornecimento de fontes de carbono orgânicas, o que ocasiona o aumento do custo do processo. Outra vantagem do processo com bactérias autotróficas é que o nível de esterilidade requerido é menor, podendo o processo em maiores escalas ser realizado em recipientes não esterilizados. Isso ocorre pois a especificidade do meio reduz a chance de crescimento de micro-organismos competidores. Isso reduz o custo de operação quando comparado aos heterotróficos como fungos que necessitam maior cuidado com este fator para evitar contaminações e crescimento de micro-organismos que irão competir pelos nutrientes ou prejudicar o crescimento dos produtores de ácidos orgânicos.

Importante citar que o *downstream*, processo que ocorre após a extração e é responsável por, entre outros, separar os elementos extraídos da solução final obtida é facilitado no caso de bactérias autotróficas como a *At. thiooxidans*, visto que ela gera uma quantidade muito pequena de biomassa, que não atrapalha o processamento dos elementos extraídos. Diferentemente disso acontece com fungos autotróficos, que geram muita biomassa fúngica e o *downstream* requer uma/várias etapas adicionais de separação, encarecendo o processo final de obtenção dos elementos de interesse (Anteckka *et al*, 2019).

Por outro lado, o bioprocesso com bactérias produtoras de ácido sulfúrico apresenta a desvantagem de ser mais lento quando comparado à fungos produtores de ácidos orgânicos. Enquanto uma batelada modo *two-step* de bactérias autotróficas pode durar 25-30 dias, o mesmo processo para fungos heterotróficos dura 15-20 dias. Isso também está associado ao crescimento de biomassa que é maior no fungo do que neste tipo de bactéria, acelerando a produção de metabólitos primários que fazem a lixiviação. Entretanto, isso pode ser otimizado com o ajuste de parâmetros, reduzindo o tempo do processo e aumentando a produtividade.

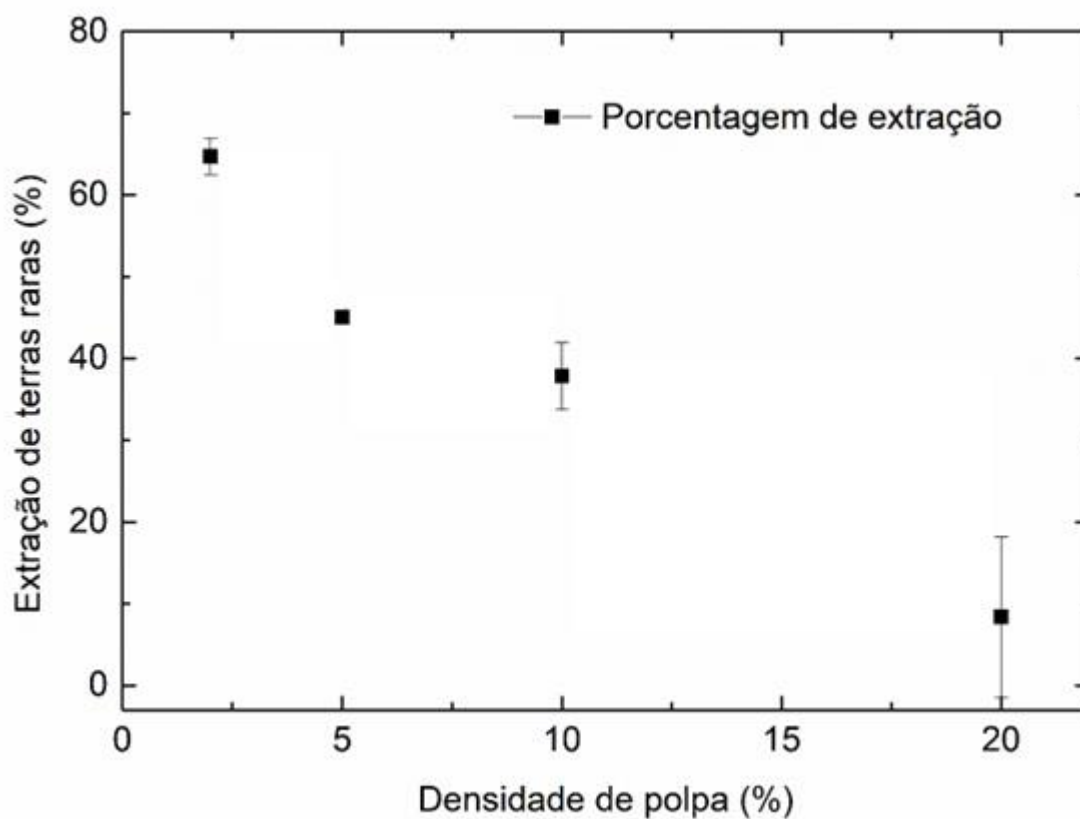
Desta forma, cada tipo de processo possui suas vantagens e desvantagens, e ambos podem ser aplicados em maior escala, a depender da característica do metal a ser extraído e de sua fonte. Também é necessário se levar em consideração a

localidade da implementação do processo, visto que a maioria das fontes minerais hoje estão situadas distantes de grandes centros, o que favorece o uso de processo que requerem menos insumos.

### 5.7. Influência da densidade de polpa na extração de terras raras

Para se determinar a influência da densidade de polpa de fosfogesso no processo de extração de terras raras foi realizado experimento variando este parâmetro de 2 a 20 % (m/v), cujo resultado está apresentado na Figura 25.

Figura 25 - Influência da densidade de polpa na extração de terras raras de fosfogesso, no processo de biolixiviação *two-step* a pH igual a 0,6



Fonte: Autor.

Neste experimento, a maior porcentagem de biolixiviação foi obtida na menor densidade de polpa testada, 60,7% de extração a 2 % (m/v) de densidade de polpa. Com o aumento da densidade de polpa para 5% e 10,0% (m/v) a extração foi reduzida para 45,0 e 37,8% respectivamente. Por fim, com 20% de densidade de polpa foram solubilizados 8,37% de terras raras presentes no fosfogesso. Comportamentos semelhantes foram obtidos para biolixiviação de terras raras (Qu & Lian, 2013) e

outros metais (Niu *et al.*, 2016), comportamento que pode ser atribuído a tensão de cisalhamento e redução de transferência de massa.

Entretanto, do ponto de vista da extração em massa dos elementos terras raras, observa-se que com densidade de polpa de 5,0 % (m/v) se extrai 135 mg L<sup>-1</sup> e com 10,0 % de densidade de polpa se extrai 227 mg L<sup>-1</sup> destes elementos. Estes resultados são maiores do que no obtido para a densidade de polpa de 2,0 %, que extraiu 76,8 mg L<sup>-1</sup>. Este ponto de vista se torna relevante em maiores escalas, visto que objetiva-se obter maior extração em menor tempo. Desta forma, a densidade de polpa de 10,0 % foi selecionada para prosseguimento nos experimentos de extração em reator de tanque agitado, visando a precipitação de terras raras em quantidade suficiente para análises de Difração de raios – X.

#### **5.8. Lixiviação, precipitação de terras raras e análise de Rietveld**

Como descrito detalhadamente na Seção 4.10, em um reator de tanque continuamente agitado foi produzida solução de ácido sulfúrico a pH igual 0,6, através do fornecimento de enxofre elementar, meio de cultivo e inóculo de *At. thiooxidans*-FG01. A esta solução foi adicionados 300 g de fosfogesso contendo terras raras que permaneceu sob agitação por 10 dias até ser filtrada. O sólido obtido, chamado de “resíduo de FG lixiviado” foi separado para análise de difração de Raios - X. À solução filtrada foi adicionada solução supersaturada de oxalato para precipitação dos elementos terras raras lixiviados. Após 5 minutos da adição do oxalato, a solução foi filtrada e o sólido obtido foi chamado de “precipitado inicial”. A solução filtrada foi deixada em repouso overnight e na manhã seguinte foi filtrada novamente. O sólido obtido foi chamado de “precipitado overnight”. Os três precipitados foram submetidos a análises de difração de Raios – X e posteriormente análise de Rietveld, cujos resultados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Análise quantitativa de fases cristalinas realizada por método de Rietveld.

	Precipitado inicial (%)	Precipitado <i>overnight</i> (%)	Resíduo de FG lixiviado (%)
Gesso	-	-	35,7 (± 5)
Anidrita	-	-	50,3 (± 6)
Enxofre	-	-	10,1 (± 4)
Bassanita	-	-	3,9 (± 4)
Whewellita	-	91,0 (± 4)	-
Weddellita	-	9,0 (± 4)	-
Deveroita de cério	41,9 (± 5)	-	-
Oxalato de lantânio	49,8 (± 5)	-	-
Ferrito de sódio	8,3 (± 7)	-	-

Fonte: Autor.

O resultado da análise quantitativa de Rietveld mostrou que o precipitado inicial possui  $41,9 \pm 5$  % de deveroita de cério ( $Ce_2(C_2O_4)_3 \cdot 10H_2O$ ),  $49,8 \pm 5$  % de oxalato de lantânio ( $C_6La_2O_{12}$ ),  $8,3 \pm 7$  % ferrito de sódio ( $NaFeO_2$ ) em sua composição. Este resultado confirma que o processo de precipitação de elementos terras raras com oxalato de sódio foi eficaz, produzindo um precipitado cuja composição é mais de 90 % compostos de terras raras. Além disso, considerando que 0,922 g deste composto foi obtido, é possível afirmar que houve uma recuperação de 52,5 % de todas as terras raras presentes em 300 g de fosfogesso, concentrados em 0,922 g do chamado “precipitado inicial”.

Importante mencionar que devido a semelhança que há entre as características dos elementos terras raras, apenas Ce e La foram identificados na análise de Rietveld, mas, outros elementos deste grupo certamente estão presentes na matriz cristalina ou não puderam ser diferenciados do Ce e La pela análise realizada, comportamento semelhante ao descrito pela literatura (Abrão, 1994; Castor *et al*, 2006; Cotton, 2006; Souza-Filho, 2014;). Desta forma, conclui-se que a precipitação com oxalato é uma maneira efetiva e de baixo custo para concentrar elementos terras raras solubilizados pelo processo de biolixiviação. Mas para otimizar a recuperação destes elementos seria ideal uma técnica mais específica que fosse capaz de separar cada um dos elementos, para assim, agregar valor no produto final, visto que compostos purificados

de terras raras têm custo muito superior a compostos mistos. Faz-se necessário estudos complementares futuros para otimizar esta etapa do presente trabalho.

Com relação ao precipitado chamado de “precipitado *overnight*” foi possível determinar que sua composição tem  $91,0 \pm 4\%$  de whewellita ( $\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$ ),  $9,0 \pm 4\%$  de weddellita ( $\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), e não possui elementos terras raras. Este resultado confirma que praticamente toda terra rara dissolvida pelo processo de biolixiviação foi precipitada nos primeiros 5 minutos após a adição da solução supersaturada de oxalato, formando o precipitado inicial.

O resíduo de FG lixiviado apresentou em sua composição  $35,7 \pm 5\%$  de gesso ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ),  $50,3 \pm 6\%$  de anidrita ( $\text{CaSO}_4$ ),  $10,1 \pm 4\%$  de enxofre elementar e  $3,9 \pm 4\%$  de bassanita ( $\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ ). Desta forma, este precipitado possui sulfatos de cálcio com diferentes graus de hidratação em sua composição, além do resíduo de enxofre elementar não consumido pela *At. thiooxidans*. Mas, considerando que apenas 0,6% do fosfogesso eram compostos de terras raras, pode-se dizer que a retirada destes elementos não alterou significativamente a composição do resíduo, excetuando a adição do enxofre elementar residual.

## 6. Conclusões

Conclui-se pelos resultados obtidos na caracterização do fosfogesso que este material possui teor de terras raras igual a 0,61% m/v, entretanto, devido ao seu baixo consumo ácido associado permite o uso como fonte de extração destes elementos através do emprego de ácido sulfúrico.

Os ensaios de produção de ácido sulfúrico em frascos Erlenmeyers indicaram que das três cepas coletadas, a que apresentou maior produção de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  foi a MdS-F3, que na presença de elementos traço a 30 °C produziu 0,18 mol  $\text{H}^+$   $\text{L}^{-1}$  em 45 dias de experimento. Mesmo apresentando a maior produção dentre as cepas coletadas, a MdS-F3 não foi capaz de produzir mais do que a *At. thiooxidans*-FG01, que produziu aproximadamente 0,25 mol  $\text{H}^+$   $\text{L}^{-1}$  no mesmo período. Mesmo em condições termofílicas, nenhuma das cepas coletadas apresentaram produção de ácido sulfúrico mais elevada do que a *At. thiooxidans*-FG01 em condições mesofílicas, o que corrobora com o fato de que esta bactéria é a maior produtora de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  conhecida até a presente data.

Os experimentos em reator de tanque continuamente agitado mostraram que a adição de elementos traço aumentam a cinética de produção de ácido reduzindo a fase lag de crescimento e diminuindo o tempo para alcançar o valor limite de pH. Entretanto, esta adição não faz com que a produção final de  $\text{H}^+$  seja maior. Por outro lado, o uso de impelidor do tipo hélice naval não altera a cinética de produção, mas faz com que a produção final de ácido seja maior do que o impelidor de pás regulares, e desta forma, alcance menores valores de pH finais.

Os ensaios de biolixiviação de terras raras mostraram que não importa a procedência do ácido – comercial ou biogênico – na extração de terras raras de fosfogesso. Entretanto, como este resíduo é alcalino, prejudica o crescimento de micro-organismos e reduz a produção de ácido sulfúrico, o que resulta na menor extração de TR quando o fosfogesso é adicionado em contato direto com o micro-organismo. Assim, ensaios do tipo biolixiviação *two-step* resultaram em maior extração de TR por evitarem a inibição do crescimento biológico e proporcionarem condições ótimas de produção de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

O ácido sulfúrico biogênico foi capaz de extrair 98 % do neodímio e aproximadamente 60 % dos demais elementos terras raras utilizando a metodologia de biolixiviação *two-step*. A metodologia de biolixiviação *one-step* foi capaz de lixiviar

cerca de 20% do total de terras raras do fosfogesso, devido a elevação do valor de pH e inibição do crescimento e metabolismo da *At. thiooxidans*.

Após a etapa de precipitação dos elementos terras raras lixiviados com oxalato, os resultados de difração de raios-X e análise semiquantitativa de Rietveld mostraram que o teor de terras raras no produto final foi de aproximadamente 91,7 %, resultando em uma conversão de mais de 60% do total de terras raras presentes no fosfogesso, mas concentradas em 0,92 g de oxalato de terras raras, mostrando que o processo proposto é eficaz na extração e concentração destes elementos, mesmo na aplicação de resíduos de baixo teor como o fosfogesso.

## 7. Perspectivas futuras

Após mais de 100 anos da descoberta da capacidade de produção de ácido sulfúrico, a presente tese retoma este assunto visando abrir portas para futuras pesquisas neste âmbito, principalmente do ponto de vista operacional e de otimização de reatores. Neste aspecto, há a necessidade de estudar a produção de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , tanto em reator em modo batelada quanto no modo contínuo, utilizando parâmetros de oxigênio dissolvido, consumo específico de oxigênio, gás carbono dissolvido, consumo de gás carbônico e densidade de células viáveis. Além disso, o processo de bioprodução de ácido sulfúrico pode ser estudado futuramente utilizando fontes alternativas de enxofre, como resíduos urbanos e resíduos de agricultura, visando reduzir ainda mais o custo de produção deste ácido.

Desta forma, com a futura otimização minuciosa do processo de produção de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  será possível estudar diversas aplicações deste ácido, para extração de terras raras de resíduos urbanos como lâmpadas fluorescentes e aparelhos eletrônicos, que apresentam concentração de TR muito maior do que o fosfogesso utilizado nos estudos da presente tese.

## REFERÊNCIAS

- Abrão, A. **Química e Tecnologia das Terras-Raras**, CETEM/CNPq: Rio de Janeiro, 1994
- ANTECKA, A., BLATKIEWICZ, M., BORUTA, T., GÓRAK, A., LEDAKOWICZ, S. Comparison of downstream processing methods in purification of highly active laccase. **Bioprocess and Biosystems Engineering**. v. 42. P. 1635-1645, 2019.
- ARORA, R. et al. Potential and relevance of urban mining in the context of sustainable cities. **Limb Management Review**, v. 29, n. 3, p. 210-224, Sep 2017. ISSN 0970-3896
- AZZEDDINE, H., HANNA, A., DAKHOUCHE, A., RABAHI, L., SCHARNAGL, N., DOPITA, M., BRISSET, F., HELBERT, A.L., AND BAUDIN, T., J. **Alloys Compd.**, vol. 829, p. 154569, 2020.
- BAHREMAND, F., SHAHRABI, T., AND RAMEZANZADEH, B., J. Morphologically controlled cobalt oxide nanoparticles for efficient oxygen evolution reaction. **Colloid Interface Sci.**, vol. 582, p. 342, 2021.
- BALARAM, V. Rare earth elements: A review of applications, occurrence, exploration, analysis, recycling, and environmental impact. **Geoscience Frontiers**. v. 10, p. 1285-1303, 2019.
- BARNET, M. J., PALUMBO-ROE, B., GREGORY, S. P. Comparison of Heterotrophic Bioleaching and Ammonium Sulfate Ion Exchange Leaching of Rare Earth Elements from a Madagascan Ion-Adsorption Clay. **Minerals**, v. 8, p. 236. 2018. doi:10.3390/min8060236.
- BARNETT, M. J., PALUMBO-ROE, B., DEADY, E. A., GREGORY, S. P. Comparison of Three Approaches for Bioleaching of Rare Earth Elements from Bauxite. **Minerals**, v. 10, 2020. doi:10.3390/min10080649.
- BAYAT, B., SARI, B. Bioleaching of dewatered metal plating sludge by *Acidithiobacillus ferrooxidans* using shake flask and completely mixed batch reactor. **Afr. J. Biotechnol.** v. 9, n. 44, 2010.
- BEVILAQUA, D. HEIDI, L., GARCIA, O., PUHAKKA, J. A., TUOVINEN, O. H. 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.
- BRIERLEY, C.L. How will biomining applied in future? **Transactions of nonferrous metals society of China**. v. 8, n. 9. 2008
- Bosecker, K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. **FEMS Microbiol Rev** v. 20, p. 591–604, 1997.
- CALLE-CASTANEDA, S. M., MARQUEZ-GODOY, M. A., ORTIZ, J. P. Phosphorus recovery from high concentrations of low-grade phosphate rocks using the biogenic

acid produced by the acidophilic bacteria *Acidithiobacillus thiooxidans*. **Minerals Engineering**. v. 115, p. 97-105, 2018a.

CALLE-CASTANEDA, S.M., MARQUEZ-GODOY, M.A., HERNANDEZ-ORTIZ, J.P. Solubilization of phosphorus from phosphate rocks with *Acidithiobacillus thiooxidans* following a growing-then-recovery process. **World J. Microbiol. Biotechnol.** v. 34 n. 1, 2018b.

CAMERON, R. A. et al. Bioleaching of six nickel sulphide ores with differing mineralogies in stirred-tank reactors at 30 degrees C. **Minerals Engineering**, v. 49, p. 172-183, Aug 2013. ISSN 0892-6875. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000322289500023 >.

CASTOR, S.B.; HEDRIK, J.B. In: **Industrial Minerals and Rocks: Commodities, Markets, and Uses**; Kogel, J.E.; Trivedi, N.C.; Barker, M.J., eds.; **Society for Mining, Metallurgy, and Exploration**, Inc. (SME): Littleton, 2006, Cap. 58

CASTRO, C., DONATI, E. Effects of different energy sources on cell adhesion and bioleaching of a chalcopyrite concentrate by extremophilic archaeon *Acidianus copahuensis*. **Hydrometallurgy**. v.162, p. 49-56, 2016.

CASTRO, L, BLÁZQUEZ, M. L., GONZÁLEZ, F., MUÑOZ, J. A. Bioleaching of Phosphate Minerals Using *Aspergillus niger*: Recovery of Copper and Rare Earth Elements. **Metals**, v.10, 2020.

CHEARY, R.W., COELHO, A.A., CLINE, J.P., Fundamental parameters line profile fitting in laboratory diffractometers. **J. Res. Nat. Inst. Stand. Technol.** v. 109, n. 1, p. 1–25, 2004.

CHEM, Z. H., HUANG, X. Y., HE, H., TANG, J. L. TAO, X. X., HUANG, H. Z., HAIDER, R., ALI, M. I., JAMAL, A., HUANG, X. Z. Bioleaching Coal Gangue with a Mixed Culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. **Minerals**. v. 10, n. 11, 2021.

CIMINELLI, V. S. Tendências Tecnológicas Brasil. **Hidrometalurgia**. p.157–175, 2007.

COEY, J. M. D. Permanent magnet applications. **J. Magn. Magn. Mater** v. 248, p. 441, 2002.

CONNELLY, N. G.; DAMHUS, T.; HARTSHORN, R. M.; HUTTON, A. T., Nomenclature of Inorganic Chemistry IUPAC Recommendations 2005. In **The Royal Society of Chemistry: 2005**. <http://old.iupac.org/publications/books/author/connelly.html>.

COSTA, O.A.Y., OGUEJIOFOR, C., ZUHLKE, D., BARRETO, C.C., WUNSCH, C., RIEDEL, K., KURAMAE, E.E. Impact of Different Trace Elements on the Growth and Proteome of Two Strains of *Granulicella*, Class “Acidobacteriia”. **Front. Microbiol.** v. 11, 2020.

COTTON, S.; **Lanthanide and Actinide Chemistry**, Wiley: Chichester, 2006.

CUI, Y., WANG, Y., CUI, Z., QI, W., WANG, J., JU, P., ZHAO, Y., LIU, B., ZHANG, T., AND WANG, F., Influence of Rare Earth Element (Y) on Microstructure and Corrosion Behavior of Hot Extrusion AZ91 Magnesium Alloy **Materials (Basel)**, v. 13, p. 23, 2020.

DEHGHANI, A., RAMEZANZADEH, B., POSHTIBAN, F., AND BAHLAKEH, G., Construction of a highly-effective/sustainable corrosion protective composite nanofilm based on Aminotris(methylphosphonic acid) and trivalent cerium ions on mild steel against chloride solution. **Constr. Build. Mater**, v. 261, p. 119838, 2020.

DEMOL, J., HO, E., SOLDENHOFF, K., SENANAYAKE, G. The sulfuric acid bake and leach route for processing of rare earth ores and concentrates: A review. **Hydrometallurgy** v.188, p. 123–139, 2019.

DEWAN, A., BUWA, V., DURST, F., Performance optimizations of grid disc impellers for mixing of single-phase flows in a stirred vessel, Trans. **Chemical Engineering Research & Design**, v. 84 (A8), p. 691–702. 2006.

DONATI, E. R., CASTRO, C., URBIETA, M. S. Thermophilic microorganisms in biomining. **World J Microbiol Biotechnol.** v. 32, n. 179. 2019. DOI 10.1007/s11274-016-2140-2.

EHRlich, H.L. **Geomicrobiology**, 5th edn. CRC, Boca Raton. 2009.

EL-DIDAMONY, H.; ALI, M.M.; AWWAD, N.S.; FAWZY, M.M.; ATTALLAH, M.F. Treatment of phosphogypsum waste using suitable organic extractants. **J. Radioanal. Nucl. Chem**, v. 291, p. 907–914, 2012.

FAN, H.-Q., XU, W.-C., WEI, L., ZHANG, Z.-H., LIU, Y.-B., AND LI, Q., J. Relationship between La and Ce additions on microstructure and corrosion resistance of hot-dip galvanized steel. **Iron Steel Res. Int.**, v. 27, p. 1108, 2020.

FEDEL, M., CALLONE, E., ZIARELLI, F., DEFLORIAN, F., AND DIRÈ, S., Influence of Gd<sup>3+</sup> on molecular organization and electrochemical properties of Si-based organic/inorganic sol-gel layers. **Electrochim. Acta**, v. 341, p. 136033, 2020.

FURRER, G. & STUMM, W. The coordination chemistry of weathering: I. Dissolution kinetics of d-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and BeO. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 50 ,n. 9, p.1847–1860. 1986. doi:10.1016/0016-7037(86)90243-7

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

GARCIA-OCHOA, F., GOMEZ, E. Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 153–176, 2009.

RIETVELD, H.M., 1966. A method for including line profiles of neutron powder diffraction peaks in determination of crystal structures. **Acta Crystallogr.**, S.21, A228.

HAITINGER, L. Ger. Patent 66,117, 1891.

JAMES, C.; THALIUM. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 33, p. 1332, 1911.

JOHNSON, D.B. Biomining - biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials. **Curr. Opin. Biotechnol.** v. 30, p. 24–31, 2014.

JONES, P.T., TIELEMANS, Y., Enhanced Landfill Mining and the Transition to Sustainable Materials Management *In: Proceedings* International Academic Symposium on Enhanced Landfill Mining (Houthalen-Hechteren, 2010), p. 325. 2011.

JORDENS, A.; CHENG, Y. P.; WATERS, K. E. A review of the beneficiation of rare earth element bearing minerals. **Minerals Engineering**, v. 41, p. 97-114, Feb 2013. ISSN 0892-6875. Disponivel em: < <Go to ISI>://WOS:000314014300012 >.

KANIA, A., NOWOSIELSKI, R., GAWLAS-MUCHA, A., AND BABILAS, R., Mechanical and Corrosion Properties of Mg-Based Alloys with Gd Addition. **Materials (Basel)**, vol. 12, p. 30, 2019.

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

KEMPNER, E. S. Acid production by *Thiobacillus thiooxidans*. **Journal of Bacteriology**, v. 92, n. 6, p. 1842-&, 1966.

KILBOURN, B. T.; **A Lanthanide Lanthology**, Molycorp, Inc., White Plains: New York, 1993.

LAI, G.Q., LIU, H.Z., CHEN, B.D., NIU, D., LEI, B., AND JIANG, W.T., **Int. J. Miner., Metall. Mater.**, vol. 27, p. 818, 2020.

LEAL-KLEVEZAS, D.S.; MARTINEZ-VAZQUEZ, I.O.; LOPEZ-MERINO, L.; MARTINEZ-SORIANO, J.P.. Single-stpe PCR for detection of *Brucella* spp From blood and milk of infected animals. **J. Clin. Microbiol** v. 12, p. 3087-3090. 1995.

LIU, C., JIANG, Z., ZHAO, J., CHENG, X., LIU, Z., ZHANG, D., AND LI, X., Influence of rare earth metals on mechanisms of localised corrosion induced by inclusions in Zr-Ti deoxidised low alloy steel. **Corros. Sci.**, vol. 166, p. 108463, 2020.

LIU, H. L, LAN, Y. W., CHENG, Y. C. Optimal production of sulphuric acid by *Thiobacillus thiooxidans* using response surface methodology. **Process Biochemistry**. v. 19, p. 1953-1961, 2004.

MAESTRO, P.; HUGUENIN, D.; J. Industrial applications of rare earths: which way for the end of the century. **Alloys Compd**, v. 225, p. 520, 1995.

MEYER-DOMBARD, D.R., SHOCK, E.L., AMEND, J.P. Effects of trace element concentrations on culturing thermophiles. **Extremophiles** v. 16 n. 2, p. 317–331, 2012.

MIRRO, R., VOLL, K. **Which impeller is right for your cell line?** A guide to impeller selection for stirred-tank bioreactors. Reprinted with permission from BioProcess International, v. 7 (1), p. 52-57, 2009.

NIU, Z.R., HUANG, Q.F., XIN, B.P., QI, C.H., HU, J.F., CHEN, S., LI, Y.P. Optimization of bioleaching conditions for metal removal from spent zinc-manganese batteries using response surface methodology. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** v. 91 n. 3, p. 608–617, 2016.

NOZURI, F., NASIRPOUR, N., VAKILCHAP, F., MOUSAVI, S. M. Complete bioleaching of Co and Ni from spent batteries by a novel silver ion catalyzed process. **Applied Microbiology and Biotechnology** v. 106, p. 5301-5316, 2022.

OLSON, G. J., BRIERLEY, J.A., BRIERLEY, C.L. Bioleaching review part B: progress in bioleaching: applications of microbial processes by the minerals industries. **Appl Microbiol Biotechnol** v. 63, p. 249–257, 2003.

PANDA, R., KUMARI, A., JHA, M.K., HAIT, J., KUMAR, V., KUMAR, J.R., LEE, J.Y. Leaching of rare earth metals (REMs) from Korean monazite concentrate. **J. Ind. Eng. Chem.** v. 20, n. 4, p. 2035–2042, 2014.

PANGUM, L. S., BROWER, R. E. Pressure chloride leaching of a refractory gold ore. **Minerals Engineering** v.9 n. 5, p. 547-556, 1996.

PEARCE, D.W. E R.K. TURNER. Economics of Natural Resources and the Environment, Hemel Hempstead: Harvester Wheatsheaf. **Agricultural Systems**, Elsevier, v. 37 ,n. 1, p. 100-101, 1990.

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, May 2013. ISSN 0960-8524.

QU, Y., LIAN, B., MO, B.B., LIU, C.Q. Bioleaching of heavy metals from red mud using *Aspergillus niger*. **Hydrometallurgy** v. 136, p. 71–77, 2013.

Quatrini, r., johnson, b. D. Microbe of the month. **Trends in Microbiology** v. 27, p. 282-283, 2019.

RASOULNIA, P., BARTHEN, R., LAKANIEMI, A.M. A critical review of bioleaching of rare earth elements: The mechanisms and effect of process parameters. **Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.** v. 50, 2020.

RAWLINGS, D.E. **Biomining: theory, microbes and industrial processes**. Springer, Berlin. 1997.

REED, D.W., FUJITA, Y., DAYNA, L.D., YONGQIN, J., VICKI, S.T. Bioleaching of rare earth elements from waste phosphors and cracking catalysts. **Hydrometallurgy** p. 34–40, 2016.

RIETVELD, H.M. Line profiles of neutron powder-diffraction peaks for structure refinement. **Acta Crystallogr.** v. 22 n.1, p. 151–152, 1967.

ROSSI, G. **Biohydrometallurgy**. McGraw-Hill, Hamburg. 1990.

ROUCHALOVA, D., ROUCHALOVA, K., JANAKOVA, I., CABLIK, V., JANSTOVA, S. Bioleaching of Iron, Copper, Lead, and Zinc from the Sludge Mining Sediment at Different Particle Sizes, pH, and Pulp Density Using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Minerals**. v. 11, n. 10, 2020.

RUIBAL, M. D. P. V. **Avaliação de diferentes protocolos de extração de DNA para detecção de *Brucella abortus* a partir de diferentes tecidos de vacas infectadas experimentalmente com a cepa 2308**. 2009. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2009.

SALO, M., KNAUF, O., MAKINEN, J., YANG, X., KOUKKARI, P. Integrated acid leaching and biological sulfate reduction of phosphogypsum for REE recovery. **Minerals Eng.** v. 155, 2020.

SEBBAR, N., BOZZELLI, J.W., BOCKHORN, H., TRIMIS, D. A thermochemical study on the primary oxidation of sulfur. **Combust. Sci. Technol.** v. 191, 2019.

SHAH, S.S., PALMIERI, M.C., SPONCHIADO, S.R.P., BEVILAQUA, D. Environmentally sustainable and cost-effective bioleaching of aluminum from low-grade bauxite ore using marine-derived *Aspergillus niger*. **Hydrometallurgy** v.195, n. 10, 2020.

SHAIKH, S., AAFREEN, A., SYED, A.A. Impact of Pulp Density on Extraction of Metals, By *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Pseudomonas fluorescens* from Bauxite Ore, **Journal of Pure and Applied. Microbiology** v. 12, p. 1647–1654, 2008.

SHI, W.N., ZHOU, H.F., AND ZHANG, X.F., Effects of Al<sub>8</sub>Cu<sub>4</sub>Er Phase on Corrosion Behavior of Al–Cu–Mg alloy with Er addition. **Acta Metall. Sin. (Engl. Lett.)**, v. 33, p. 1379, 2020.

SILVERMAN, M.; LUNDGREN, D. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*: an improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields. **Journal of Bacteriology**, v. 77, n. 5, p. 642-647, 1959.

SAND, W., GEHRKE, T., HALLMANN, R., SCHIPPERS, A. Sulfur chemistry, biofilm, and the (in)direct attack mechanism—a critical evaluation of bacterial leaching. **Appl Microbiol Biotechnol** v. 43, p. 961–966, 1995.

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

SHAH, S. S., PALMIERI, M. C., SPONCHIADO, S. R. P., BEVILAQUA, D. Enhanced bio-recovery of aluminum from low-grade bauxite using adapted fungal strains. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 51, p.1909-1918, 2020.

SILVERMAN, M.; LUNDGREN, D. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*: an improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields. **Journal of Bacteriology**, v. 77, n. 5, p. 642-647, 1959.

SKINNER, C. E., NYGARD, I. J. Presence of *Azotobacter* and absence of *thiobacillus thiooxidans* in peat soils. **Ecology**. v. 11, p. 558-561, 1930.

SOUZA-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; 1678-7064. ISSN 0100-4042.

STARKEY, R. L. Concerning the physiology of *thiobacillus thiooxidans*, an autotrophic bacterium oxidizing sulfur under acid conditions. **Journal of Bacteriology**. v. 10, n. 2. 1925.

TAYAR, S. P. PALMIERI, M. C., BEVILAQUA, D. Sulfuric acid bioproduction and its application in rare earth extraction from phosphogypsum. **Minerals Engineering**. v.185, 2022.

TAYIBI, H., CHOURA, M., LOPEZ, F. A., ALGUACIL, F. J., LOPEZ-DELGADO, A. Environmental impact and management of phosphogypsum. **Journal of Environmental Management**, v.90, p. 2377-2386, 2009.

TEMPLE, K. L., COLMER, A. R. The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium - *Thiobacillus-ferrooxidans*. **Journal of bacteriology**. v.62, n. 5, p. 605-611, 1951.

TIAN, Y., HU, X., SONG, X., YANG, A. J. Bioleaching of rare-earth elements from phosphate rock using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Letters in applied microbiology**. p. 1-11, 2022.

TRIFI, H.; NAJJARI, A.; ACHOUAK, W.; BARAKAT, M.; GHEDIRA, K.; MRAD, F.; SAIDI, M.; SGHAIER, H. Metataxonomics of Tunisian phosphogypsum based on five bioinformaticspipelines: Insights for bioremediation. **Genomics**, v. 112, p. 981–989, 2020.

TROVARELLI, A.; LEITENBURG, C.; BOARO, M.; DOLCETTI, G.; The utilization of ceria in industrial catalysis. **Catal. Today**, v. 50, p. 353. 1999.

TUOVINEN, O.; KELLY, D. Studies on growth of *Thiobacillus-ferrooxidans*: use of membrane filters and ferrous iron agar to determine viable numbers, and comparison with c-14-fixation and iron oxidation as measures of growth. **Archives Fur Mikrobiologie**, v. 88, n. 4, p. 285-298, 1973.

VALDÉS, J. et al. *Acidithiobacillus ferrooxidans* metabolism: from genome sequence to industrial applications. **BMC Genomics**, v. 9, Dez. 2008. doi:10.1186/1471-2164-9-597.

VERA, M., SCHIPPERS, A., SAND, W. Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation – Part A. **Appl Microbiol Biotechnol.** v. 97. P. 7529-7541, 2013.

VILCÁEZ, J., YAMADA, R., CHIHIRO, I. Effect of pH reduction and ferric ion addition on the leaching of chalcopyrite at thermophilic temperatures. **Hydrometallurgy.** v. 96 p. 62-71, 2009.

VOGEL, A. I. **Análise inorgânica quantitativa.** Rio de Janeiro: Guanabara 2, 1981. p. 552-553.

WAKEMAN, K.; AUVINEN, H.; JOHNSON, D. B. Microbiological and geochemical dynamics in simulated-heap leaching of a polymetallic sulfide ore. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 101, n. 4, p. 739-750, Nov. 2008.

WAKSMAN, S. A. Microorganisms concerned in the oxidation of sulfur in the soil IV. A solid medium for the isolation and cultivation of *Thiobacillus thiooxidans*. **Journal of Bacteriology.** v. 7, n. 6, 1922.

WAKSMAN, S. A.; JOFFE, J. S. Microorganisms concerned in the oxidation of sulfur in the soil II. *Thiobacillus thiooxidans*, a new sulfur-oxidizing organism isolated from the soil. **Journal of Bacteriology**, v. 7, n. 2, p. 239-256, Mar 1922

WANG, J. QIU, G., QIN, W., ZHANG, Y. Microbial leaching of marmatite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China.** v. 16, p. 937-942, 2006.

WANG, W., CHEN, Z., AND FENG, S., Nanomaterial Applications in Photothermal Therapy for Cancer. **Materials (Basel)**, v. 12, p. 1, 2019.

Wang, X. Q. Xie, Y., Chen, K., Yi, L. K. X., Wang, Y. B., Zhang, Y. K. Bioleaching assisted conversion of refractory low-grade ferruginous rhodochrosite to Mn-Fe based catalysts for sulfathiazole degradation. **Chemical Engineering Journal.** v. 427, p. 1-11, 2022.

WANG, X.Y., LIU, J.M., LI, M., FAN, H.L., YANG, Q.S. Decomposition reaction kinetics of Baotou RE concentrate with concentrated sulfuric acid at low temperature. **Rare Met.** v. 29 n. 2, p. 121–125, 2010.

Weeks, M.E.; Discovery of the Elements, 6th ed., **Journal of Chemical Education: Easton**, 1956.

CHERNYSH, Y.; YAKHNENKO, O.; CHUBUR, V.; ROUBIK, H. Phosphogypsum Recycling: A Review of Environmental Issues, Current Trends, and Prospects. **Applied Sciences**, v. 11, p. 1575, 2021.

ZEZULKA, V.; STRAKA, P.; MUCHA, P. A magnetic filter with permanent magnets on the basis of rare earths. **J. Magn. Magn. Mater**, v. 268, p. 219, 2004.

ZHANG, L., DONG, H., LIU, Y., BIAN, L., WANG, X., ZHOU, Z., HUANG, Y. Bioleaching of rare earth elements from bastnaesite-bearing rock by *Actinobacteria*. **Chemical Geology**, v. 483, p. 544-557, 2018.

ZHUANMING, C., QIAN, L., YU, Y., JING, S., GUANGYUE, L., XIAOBEI, L., SHUXIA, S., XIN, L., HAOMING, L. Uranium removal from a radioactive contaminated soil by defined bioleaching bacteria. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**. v. 331, p. 439-449, 2021.

ZOU, Y., YAN, H., YU, B, AND HU, Z., Effect of rare earth Yb on microstructure and corrosion resistance of ADC12 aluminum alloy. **Intermetallics**, v. 110, p. 106487, 2019.