



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
UNESP – Instituto de Química/Campus Araraquara
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia



ANA LAURA ARAÚJO SANTOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**“EFEITO DO POTENCIAL DE ÓXIDO-REDUÇÃO NA BIOLIXIVIAÇÃO DA
CALCOPIRITA”**

ORIENTADORA

Profa. Dra. Denise Bevilaqua

Araraquara/SP

2014

ANA LAURA ARAUJO SANTOS

**“EFEITO DO POTENCIAL DE ÓXIDO-REDUÇÃO NA BIOLIXIVIAÇÃO DA
CALCOPIRITA”**

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

Orientadora: Prof^a Dr^a Denise Bevilaqua

Araraquara/SP

2014

ANA LAURA ARAÚJO SANTOS

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

Araraquara, 19 de fevereiro de 2014.

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a DENISE BEVILAQUA (Orientadora)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara



Prof. Dr. ASSIS VICENTE BENEDETTI
Instituto de Química / UNESP / Araraquara



Prof. Dr. PAULO TEIXEIRA LACAVAL
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde / UFSCar / São Carlos

DADOS CURRICULARES

ANA LAURA ARAÚJO SANTOS

1. DADOS PESSOAIS

Nascimento: 07/08/1989

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: São Paulo/SP

Filiação: João Carlos dos Santos e Magali Benjamim de Araújo

Estado Civil: Casada

Profissão: Biotecnologista

Documento de Identidade: 15.900.143 SSP/MG

Cadastro de Pessoa Física: 079.641.046-16

Endereço: Avenida Mauá, 906, apto 21

Araraquara/SP

14801-190

e-mail: analauraaraujo@yahoo.com.br

2. FORMAÇÃO ACADÊMICA

Bacharel em Biotecnologia pela Universidade Federal de Alfenas, Alfenas/MG, concluído em Dezembro de 2011.

3. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Apresentação de trabalhos em congressos científicos

SANTOS, A. L. A., ARENA, F. A., BENEDETTI, A. V., BEVILAQUA, D. Efeito do potencial de óxido-redução na biolixiviação de sulfetos de cobre. In: 27º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2013, Natal/RN.

3.2 Resumos publicados em anais de congressos científicos

SANTOS, A. L. A., ARENA, F. A., BENEDETTI, A. V., BEVILAQUA, D. Efeito do potencial de óxido-redução na biolixiviação de sulfetos de cobre. In: 27º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2013, Natal/RN.

3.3 Participação em eventos

- 27º Congresso Brasileiro de Microbiologia, Natal/RN, 2013.
- Agilent Road Show, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos/SP, 2013.
- I Workshop da Pós-Graduação em Química e Biotecnologia – IQ/UNESP, Araraquara/SP, 2012.
- XXI ALAM – Congresso Latino-americano de Microbiologia, Santos/SP, 2012.
- SIFEA – Simpósio de Fermentação Alcoólica, Santos/SP, 2012.
- III Jornada de Biotecnologia da UNIFAL-MG, Alfenas/MG, 2012.

3.4 Formação Complementar

- “Curso sobre Citometria de Fluxo”, oferecido pela BD-Biosciences em 13 de junho de 2012, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista, Campus de Araraquara/SP.
- Participação no “IX Curso Latinoamericano de Biotecnologia, CLAB 2012”, realizado entre 29 de julho e 4 de agosto de 2012, na Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, em Valparaíso, Chile.

3.5 Trabalhos científicos publicados e/ou submetidos a periódicos indexados

ARENA, F. A., SANTOS, A. L. A., BEVILAQUA, D., FUGIVARA, C. S., BENEDETTI, A. V. Electrochemistry with modified carbon paste electrode: Simulating the main stages of chalcopyrite bioleaching in ferrous ion solution. Aceito em: Journal of the Brazilian Chemical Society, 2013.

Dedico este trabalho aos meus exemplos de vida, João Carlos e Magali que sempre me estimularam a dar este grande passo. Estas duas pessoas com muita sabedoria, discernimento, bom senso e dedicação estiveram ao meu lado me encorajando nas horas difíceis e me aplaudindo nos momentos de glória. Obrigada por serem meus pais, minha fonte de inspiração, apoio e ensino diário.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus porque é a luz, fortaleza, proteção e sabedoria que me acompanha em cada caminhada. Sem Ele, não poderia estar aqui agradecendo a todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos meus pais pelo exemplo de vida, de honestidade e sabedoria. Deus me deu o maior dos presentes quando me colocou nesta família, é uma oportunidade inquestionável ser filha de vocês.

À minha orientadora Profa. Dra. Denise Bevilaqua pela oportunidade de desenvolver este trabalho, por todo empenho, sabedoria, competência e pela confiança em mim depositada.

Ao Prof. Dr. Assis Vicente Benedetti por todo conhecimento, interesse e indispensável colaboração.

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Marquez da Universidad de Medellin, Colômbia, pelo fornecimento da amostra de calcopirita que permitiu a realização do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do trabalho por meio da bolsa de pesquisa.

Ao meu querido e amado esposo, Anderson Júnior, por todo amor, apoio, compreensão e por acreditar em mim quando vezes eu já não mais cria e também por sempre me perguntar se eu já havia descoberto o segredo da calcopirita.

Às minhas lindas e amadas irmãs, Larissa e Rayssa, que sempre estiveram ao meu lado me fazendo sorrir, incentivando e aconselhando com carinho e atenção.

À minha querida amiga Fabiana Antônia Arena pelo incentivo, ensino, cuidado, carinho e atenção, por partilhar tantos momentos especiais e pela bela amizade que cultivamos. É um presente divino ter você como amiga, um verdadeiro anjo em minha vida.

Aos queridos membros e ex-membros do grupo de pesquisa Maiara Borges, Mariana Barbosa, Débora Viegas, Stella Maris, Jéssica Coco, Victor de Souza, Raul Paleuco e Maurício Palmieri por todos os momentos alegres e divertidos além da cumplicidade no trabalho e por sempre podermos contar uns com os outros. Que nunca percamos esta característica tão sublime. Levarei cada um dentro dos meus pensamentos e coração.

Em especial às colegas de trabalho que se tornaram grandes amigas, Íris Garcia, Renata Solcia, Mariana Araújo e Josiane Gaspar que sempre estiveram juntas em momentos de dificuldades e de vitórias. Passamos por tantas coisas: casamentos, separações, nascimentos e mudanças. Demos palpites na vida da outra, mas sempre pensando no melhor de cada uma. Deus já havia preparado tudo para que nós nos encontrássemos e seguíssemos em frente com essa duradoura união.

Ao querido Waldenir Aparecido Nunes de Menezes pela grande amizade conquistada e pelos esforços dispensados para o bom andamento do laboratório.

Ao Prof. Dr. Cecilio Sadao Fugivara pelo fornecimento de material eletroquímico para a realização dos ensaios e também pelas sugestões e conselhos.

Ao Grupo de Eletroquímica de Materiais pelo espaço físico, acompanhamento, contribuição científica para este trabalho e infinita ajuda dos colegas Adriano, Rodrigo, Fabíola, Jéssica, Alan e a todos que sempre estiveram a disposição.

Ao LMA-IQ pela disponibilidade de utilização do Microscópio Eletrônico de Varredura.

Ao GFQM-IQ pelas medidas de Difração de Raios X realizadas pelo Ricardo José Giagio.

Às meninas da Seção de Pós-Graduação, em especial a Célia Coelho e Wennia Limonti pelo grande trabalho realizado e pela amizade construída e por sempre estarem dispostas a responder nossas dúvidas.

Ao Instituto de Química da UNESP Araraquara por unir em um só lugar tanto conhecimento, aprendizado, estrutura e pessoas singulares.

Aos colegas e amigos como um todo pelo privilégio de termos vivido momentos ímpares.

Aos meus familiares que sempre valorizaram meu potencial e contribuíram com pensamentos positivos e muito carinho. Enfim, a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução desta dissertação de mestrado os meus sinceros agradecimentos.

*“O coração do homem traça o seu
caminho, mas o SENHOR lhe dirige
os passos.”*

Provérbios 16:9

RESUMO

As fontes naturais de minérios sulfetados vêm se esgotando rapidamente devido à demanda por metais nas indústrias de bens de produção e de consumo. O cobre é um dos metais de maior interesse econômico. Cerca de 70% deste metal é encontrado na natureza na forma de calcopirita (CuFeS_2), contudo é o mineral que possui maiores limitações em sua extração. Dentre os processos de extração têm-se a biolixiviação, que utiliza micro-organismos capazes de promoverem a solubilização de metais pela oxidação de sulfetos metálicos, apresentando vantagens em relação às técnicas já utilizadas, principalmente de cunho econômico e ambiental. Neste contexto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a influência do potencial de óxido-redução na solubilização de cobre a partir da calcopirita. Para isso, foram realizados ensaios de oxidação de íons ferrosos na presença e ausência do mineral. A bactéria utilizada nos ensaios foi a *Acidithiobacillus ferrooxidans* - LR, espécie acidófila mais estudada e mais encontrada em ambientes de mina. A amostra de calcopirita, proveniente da localidade de La Chorrera, na Colômbia, foi analisada por difração de raios-X (DRX) e evidenciou a presença dominante de calcopirita. Os ensaios de oxidação foram realizados em frascos, agitados a 150 rpm, a 30°C sob diferentes concentrações de íons ferrosos (100, 200 e 300 mmol L^{-1}) em meio T&K. Aos sistemas foram adicionados 2,5% (m/v) de calcopirita e 5% (v/v) do inóculo fresco de *A. ferrooxidans*. Nas condições abióticas, em todas as concentrações de Fe^{2+} , o potencial redox atingiu, em média, 420 mV ($\text{Ag|AgCl|KCl}_{(\text{sat})}$), e foram os sistemas que apresentaram as maiores porcentagens de recuperação de cobre, sendo elas 73%, 90% e 78%, respectivamente, após 100 dias de ensaio. Contudo, os sistemas que continham bactéria apresentaram uma recuperação ínfima de cobre, chegando a apenas 17%, em um potencial médio de 610 mV ($\text{Ag|AgCl|KCl}_{(\text{sat})}$). Os resíduos sólidos foram avaliados por DRX e apresentaram, na condição abiótica, formação de enxofre elementar, jarositas e uma diminuição expressiva nos picos de calcopirita que podem ser explicados pela alta recuperação de cobre nesses sistemas. Na condição inoculada houve apenas a formação de jarositas como nova fase cristalina. Os resíduos de cada

sistema também foram analisados por FEG-MEV que confirmaram os resultados obtidos por difração de raios X e ainda detalharam a formação das novas fases. Os resultados obtidos por este trabalho mostraram evidências conclusivas que a manutenção de baixos valores de potencial redox, obtidos pela adição de íons ferrosos, exerce uma influência positiva sobre a recuperação de cobre quando na ausência de bactérias e confirmam os dados da literatura, os quais determinam uma faixa de potencial crítico para uma lixiviação mais favorável desde mineral.

Palavras-chave: Calcopirita, biolixiviação, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, potencial redox.

ABSTRACT

Natural sources of sulfide ores come depleting rapidly due to the demand for metal goods industries in production and consumption. Copper is a metal of greater economic interest. About 70% of this metal is found in nature in the form of chalcopyrite (CuFeS_2), however it is the mineral that present a major limitations in its extraction. One of the extraction processes is bioleaching, which uses microorganisms capable of promoting the solubilization of metals by metal sulfides oxidation and presents advantages over the common techniques used, mainly for economic and environmental nature. In this context, the present work was carrying out to evaluate the influence of the redox potential in the solubilization of copper from chalcopyrite. For this, ferrous ions oxidation tests were conducted in the presence and absence of the mineral. The bacterium used in the tests was *Acidithiobacillus ferrooxidans* - LR, the acidophilic species most studied and most commonly found in mine environments. A sample of chalcopyrite from La Chorrera, Colombia, was analyzed by X-ray diffraction (XRD) and showed the dominant presence of chalcopyrite. Ferrous ions oxidation tests were carried out in shaken flasks at 150 rpm, at 30 °C using different concentrations of ferrous ions (100, 200, and 300 mmol L⁻¹) in T&K medium. The systems were supplied with 2,5% (w/v) of chalcopyrite and 5% (v/v) of *A. ferrooxidans* fresh inoculum. At the abiotic conditions, the redox potential achieved 420 mV ($\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$) in all ferrous ions concentrations. Besides, these systems showed the highest copper recovery concentrations, such 73%, 90% and 78%, respectively, after 100 days of testing. However, the bacterial systems showed a low copper recovery, about 17% in a redox potential of 610 mV ($\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$). The solid residues were evaluated by XRD and showed, at abiotic conditions the formation of elemental sulfur, jarositas and a significant decrease in chalcopyrite's peaks that could be explained to the high copper recovery in these systems. At inoculated conditions there was only the formation of jarosites as new crystalline phase. The residues of each system were also analyzed by FEG-SEM that confirmed the results obtained by XRD. In general, the results showed conclusive evidence that the maintenance of low redox potential, by the addition of ferrous

ions, has a positive influence on the copper recovery in absence of bacteria, and also confirmed the literature data, which determine a range of critical potential where chalcopyrite leaching is favorable.

Keywords: Chalcopyrite, bioleaching, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, redox potential.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Representação esquemática do processo de lixiviação em pilha. ... 30
- Figura 2 – Mecanismos propostos para a biolixiviação. (A) Adesão bacteriana sobre a superfície do mineral; (B) Dois modos de adesão bacteriana sobre a superfície do mineral; e (C) Esquema do mecanismo de lixiviação cooperativa. 34
- Figura 3 – Reserva brasileira de minério de cobre distribuída por estados..... 36
- Figura 4 – Distribuição do consumo de minério de cobre a nível mundial. 37
- Figura 5 – Estrutura da calcopirita. A estrutura cristalina consiste em uma rede tetragonal relativamente simples, próximo a um cubo. Cada íon de enxofre é rodeado por quatro íons de metal de cobre e/ou ferro localizados em ângulos tetraédricos..... 38
- Figura 6 – Imagem topográfica por microscopia de força atômica de *A. ferrooxidans*, linhagem LR, na superfície da calcopirita (A) e por microscopia eletrônica de varredura em calcopirita (B)..... 41
- Figura 7 - Fluxograma esquemático da realização da digestão ácida..... 50
- Figura 8 – Fluxograma esquemático da realização do ensaio de oxidação de íons ferrosos..... 52
- Figura 9 – Fluxograma esquemático da realização do ensaio de biolixiviação da calcopirita 53
- Figura 10 – Difratoograma de raios X da amostra de calcopirita original, utilizada nos experimentos de biolixiviação na presença e ausência de íons ferrosos. Símbolos: C, calcopirita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina. 58
- Figura 11 – Variação do pH no experimento de oxidação de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). 59
- Figura 12 – Variação do potencial redox (Eh) no experimento de oxidação de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). 61

Figura 13 – Variação da concentração de Fe^{2+} no experimento de oxidação de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). 62

Figura 14 – Variação do pH no experimento de biolixiviação na presença de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). As setas pretas indicam quando foram realizados os ajuste de pH. 66

Figura 15 – Variação da concentração de Fe^{2+} no experimento de biolixiviação na presença de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). 67

Figura 16 – Variação do potencial redox (Eh) no experimento de biolixiviação na presença de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). 69

Figura 17 – Variação da concentração de cobre solúvel no experimento de biolixiviação na presença de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). 70

Figura 18 – Variação da concentração de ferro total no experimento de biolixiviação na presença de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). 72

Figura 19 – Difrátogramas de raios X da amostra original de calcopirita (A) e dos resíduos abióticos finais do ensaio de biolixiviação na presença de íons ferrosos em diferentes concentrações: 100 (B), 200 (C) e 300 mmol L^{-1} (D). Símbolos: C, calcopirita; S, enxofre e J, jarosita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina. 73

Figura 20 – Difrátogramas de raios X da amostra original de calcopirita (A) e dos resíduos finais do ensaio de biolixiviação na presença de *A. ferrooxidans* e de íons ferrosos em diferentes concentrações: 100 (B), 200 (C) e 300 mmol L^{-1} (D). Símbolos: C, calcopirita e J, jarosita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina. 74

Figura 21 – Variação do pH no experimento de biolixiviação da calcopirita utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles abióticos (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 0 mmol L^{-1} (◆), 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). Experimento com durabilidade de 100 dias. Setas pretas indicam o ajuste de pH. 78

Figura 22 – Variação da concentração de Fe^{2+} no experimento de biolixiviação da calcopirita utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles abióticos (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 0 mmol L^{-1} (◆), 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). Experimento com durabilidade de 100 dias. 79

Figura 23 – Variação do potencial redox (Eh) no experimento de biolixiviação da calcopirita utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles abióticos (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 0 mmol L^{-1} (◆), 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). Experimento com durabilidade de 100 dias. 82

Figura 24 – Variação da concentração de ferro total no experimento de biolixiviação da calcopirita utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles abióticos (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 0 mmol L^{-1} (◆), 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). Experimento com durabilidade de 100 dias. 83

Figura 25 – Variação da concentração de cobre total no experimento de biolixiviação da calcopirita utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles abióticos (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 0 mmol L^{-1} (◆), 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). Experimento com durabilidade de 100 dias. 84

Figura 26 – Difractogramas de raios X da amostra original de calcopirita (A) e dos resíduos finais (42 dias) do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos: controle abiótico (B) e frascos inoculados com *A. ferrooxidans* (C). Símbolos: C, calcopirita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina. 88

Figura 27 – Difractogramas de raios X da amostra original de calcopirita (A) e dos resíduos abióticos finais (100 dias) do ensaio de biolixiviação na presença de íons ferrosos em diferentes concentrações: 100 (B), 200 (C) e 300 mmol L^{-1} (D). Símbolos: C, calcopirita; S, enxofre e J, jarosita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina. 89

Figura 28 – Difrátogramas de raios X da amostra original de calcopirita (A) e dos resíduos finais (100 dias) do ensaio de biolixiviação na presença de <i>A. ferrooxidans</i> e de íons ferrosos em diferentes concentrações: 100 (B), 200 (C) e 300 mmol L ⁻¹ (D). Símbolos: C, calcopirita e J, jarosita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina.....	90
Figura 29 – Valores finais de recuperação de cobre e de potencial redox em cada um dos tratamentos estudados. As barras representam a recuperação final de cobre pelos sistemas estudados e a linha contínua os valores de potencial final em cada um dos tratamentos.	94
Figura A1 – Microscopia eletrônica de varredura da amostra de calcopirita original.....	103
Figura A2 – Microscopia eletrônica de varredura da amostra de calcopirita original – 2000x (A) e o respectivo espectro de energia de dispersão de raios X (B).	104
Figura A3 – Mapas de cobre, ferro, enxofre, sílica, alumínio e potássio para a amostra de calcopirita original – 2000x.	105
Figura A4 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos.....	106
Figura A5 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos – 2000x (A) e o respectivo espectro de energia de dispersão de raios X (B).	107
Figura A6 – Mapas de cobre, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos – 2000x.....	108
Figura A7 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos.....	109
Figura A8 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos – 5000x (A) e o respectivo espectro de energia de dispersão de raios X (B).	110
Figura A9 – Mapas de cobre, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos – 2000x.	111
Figura A10 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 100 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos.	112

Figura A11 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 100 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos – 5000x (A) e os respectivos espectros de energia de dispersão de raios X (B).	113
Figura A12 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 100 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos – 3500x (A) e os respectivos espectros de energia de dispersão de raios X (B).	114
Figura A13 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 100 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos.	115
Figura A14 – Mapas de cobre, ferro, enxofre, sílica, oxigênio e potássio para o resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 100 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos – 1500x.	116
Figura A15 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 200 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos.	117
Figura A16 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 200 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos – 5000x (A) e os respectivos espectros de energia de dispersão de raios X (B).	118
Figura A17 – Mapas de oxigênio, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 200 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos – 5000x.	119
Figura A18 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 200 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos.	120
Figura A19 – Mapas de cobre, oxigênio, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 200 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos – 6500x.	121
Figura A20 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos.	122
Figura A21 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos – 7500x (A) e os respectivos espectros de energia de dispersão de raios X (B).	123
Figura A22 – Mapas de oxigênio, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos – 7500x.	124
Figura A23 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L ⁻¹ de íons ferrosos.	125

Figura A24 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L⁻¹ de íons ferrosos – 5000x (A) e os respectivos espectros de energia de dispersão de raios X (B). 126

Figura A25 – Mapas de cobre, oxigênio, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L⁻¹ de íons ferrosos – 5000x..... 127

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição da Solução A.	51
Tabela 2 – Composição da Solução B.	51
Tabela 3 – Composição da solução de 1,10-fenantrolina.	55
Tabela 4 – Composição da solução-padrão de íons ferrosos.	55
Tabela 5 – Características observadas pelas micrografias eletrônicas de varredura de cada condição estudada do ensaio de biolixiviação da calcopirita.	93

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	27
2.1 A Hidrometalurgia	27
2.1.1 História da Hidrometalurgia.....	27
2.1.2 Uma nova tecnologia: Biolixiviação.....	28
2.1.3 Mecanismos envolvidos na oxidação dos sulfetos metálicos.....	31
2.2 O cobre.....	34
2.3 O sulfeto mineral: calcopirita	37
2.4 A bactéria Acidithiobacillus ferrooxidans	40
2.5 O efeito do potencial de óxido-redução	42
3 OBJETIVOS	48
3.1 Objetivo Geral	48
3.2 Objetivos Específicos	48
4 MATERIAIS E MÉTODOS	49
4.1 Calcopirita.....	49
4.2 Material Biológico.....	49
4.3 Digestão ácida (EMPRESAS NUCLEARES BRASILEIRAS – modificado)	49
4.4 Meio de cultura	51
4.5 Ensaio de oxidação de íons ferrosos	52
4.6 Ensaio de biolixiviação da calcopirita	53
4.7 Procedimentos analíticos	54
4.7.1 Medidas de pH e potencial redox (Eh)	54
4.7.2 Determinação de íons ferrosos (Fe ²⁺).....	54
4.7.3 Determinação de ferro total e cobre total	55

4.8 Análises na fase sólida	56
4.8.1 Difração de Raios-X (DRX)	56
4.8.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (FEG/MEV).....	56
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1 Ensaio de oxidação de íons ferrosos	57
5.2 Ensaio de biolixiviação da calcopirita	63
6 CONCLUSÕES	95
REFERÊNCIAS	96
APÊNDICE A – Análises microscópicas da amostra de calcopirita original e dos resíduos sólidos finais dos ensaios de biolixiviação.	102

1 INTRODUÇÃO

As reservas mundiais de minérios de alto teor estão diminuindo em uma taxa alarmante devido ao aumento da demanda dos bens minerais (DEVASIA e NATARAJAN, 2004). Dessa forma é imprescindível o desenvolvimento de métodos alternativos para o tratamento de minérios que contêm baixos teores desses materiais.

Dentre os processos de extração de metais têm-se principalmente a pirometalurgia e a hidrometalurgia. Os processos pirometalúrgicos são baseados no uso de altas temperaturas para obtenção do metal livre (BROWN et al., 2005). Esses processos demandam alto gasto energético gerando custos adicionais expressivos ao produto final, além do potencial contaminante dos produtos gerados nessa atividade como é o caso da formação de gases poluentes. Além disso, estes processos são considerados economicamente viáveis apenas em situações onde o metal se apresenta em altas concentrações no minério, também chamado de minérios de alto teor. Pode ser citado o caso dos minérios de alto teor de cobre, nos quais cerca de 80 a 85% da produção ocorre por meio de processos pirometalúrgicos (HARMER et al., 2006).

Contudo, essas jazidas de alto teor de minério estão se esgotando e, para isso, têm-se desenvolvido processos alternativos às técnicas pirometalúrgicas denominados processos hidrometalúrgicos que consistem na utilização de soluções ácidas, básicas ou soluções oxidantes fortes para o tratamento dos minérios e a recuperação desses metais de interesse, sendo necessário um gasto energético muito inferior ao aplicado nas técnicas convencionais.

A hidrometalurgia possui um ramo biotecnológico denominado biohidrometalurgia que se subdivide em dois grandes grupos: a bio-oxidação e a biolixiviação. Este último, foco do presente trabalho, utiliza micro-organismos, principalmente bactérias acidófilas, capazes de promover a solubilização de metais pela oxidação de sulfetos metálicos (GAHAN et al., 2012).

Recentemente, o interesse no desenvolvimento de métodos biohidrometalúrgicos para a extração de metais tem aumentado por

apresentarem certas vantagens em relação às técnicas pirometalúrgicas tradicionais, incluindo a redução das emissões de gases para a atmosfera, a simplicidade de operação, baixo custo e, principalmente, aplicabilidade em minérios de baixo teor ou em recursos minerais que não podem ser tratados por meio de técnicas de extração convencionais por se tornarem inviáveis nestes casos (KARIMI, 2010).

Com o conhecimento dessas vantagens, inúmeros estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de conhecer mais profundamente os processos de interação micro-organismo/metal, assim como as limitações que o processo apresenta.

Os micro-organismos mais comumente encontrados em ambientes de mina são bactérias capazes de suportar condições extremas de pH, concentração de metais e temperatura como as do gênero *Acidithiobacillus*, *Leptospirillum*, *Sulfolobus* e *Sulfobacillus* (RODRÍQUEZ et al., 2003). Tais bactérias possuem o papel de criar um ambiente propício para as reações de lixiviação e gerar os respectivos produtos do processo.

A *Acidithiobacillus ferrooxidans* é a espécie acidófila mais importante na biolixiviação de metais e na dissolução oxidativa dos sulfetos minerais (GARCIA JÚNIOR e URENHA, 2001). Esta bactéria tem a capacidade de obter energia para seu crescimento através da oxidação de íons ferrosos, além das formas reduzidas de enxofre e sulfetos metálicos insolúveis (BEVILAQUA et al., 2003).

Dentre os minérios sulfetados, a calcopirita (CuFeS_2) é o sulfeto de cobre mais abundante, aproximadamente 70% do cobre existente na natureza se encontra na forma de calcopirita (CÓRDOBA et al., 2008a). É também considerado o mais refratário aos ataques químicos e biológicos, por isso a necessidade de um processo alternativo, já que os processos pirometalúrgicos convencionais não são aplicáveis economicamente.

Além disso, a calcopirita é o mais complexo dos sulfetos minerais estudados até hoje, pois, apresenta inicialmente uma dissolução, porém por razões ainda não estabelecidas ocorre uma espécie de bloqueio e a dissolução segue uma cinética muito lenta. Segundo alguns autores, este bloqueio está relacionado à formação de uma camada que impossibilitaria a dissolução do

sulfeto. Esta camada tem sido amplamente estudada e alguns autores relataram que a sua formação impede a contínua oxidação do sulfeto pela formação de produtos que se depositam na sua superfície (WATLING, 2006; CÓRDOBA et al., 2008b) podendo ser: precipitados de ferro, enxofre elementar, sulfetos deficientes em metais, polissulfetos dentre outros materiais (HACKL et al., 1995; HARMER et al., 2006; CÓRDOBA et al., 2008).

A maioria dos trabalhos publicados ultimamente focou principalmente no aumento da taxa de dissolução da calcopirita no intuito de favorecer e/ou melhorar a recuperação do metal visto que a biolixiviação da calcopirita se mostra tão limitada. A seguir estão destacados alguns parâmetros e reagentes que têm sido estudados para o melhoramento e controle da biolixiviação da calcopirita (LI et al., 2013):

- Altas temperaturas;
- Baixo potencial de óxido-redução;
- Adição de cloreto;
- Íons prata, como catalisador;
- Baixa granulometria da amostra mineral, aumentando a área superficial, além de parâmetros como pH e a atividade bacteriana.

Apesar das empresas Mintek e BacTech juntamente com as Indústrias Peñoles S.A. terem conseguido, em 2001, demonstrar com sucesso a biolixiviação de um concentrado polimetálico contendo calcopirita, esfalerita, galena, prata e ouro em uma planta de demonstração integrada comissionada e operada em Monterrey, México (GERICKE et al., 2009), o estudo da calcopirita abrangendo estes parâmetros ainda não tornou praticável a sua aplicação em escala comercial, a partir de um processo que possa recuperar cobre dos minérios calcopiríticos de baixos teores. As pesquisas nesta área visam, portanto, entender e aperfeiçoar o processo no intuito de alcançar um melhor aproveitamento na extração do metal de interesse.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A Hidrometalurgia

2.1.1 História da Hidrometalurgia

Há milhares de anos atrás, as pessoas aprenderam a construir fornos e a usar o fogo para derreter rochas e produzir metais, porém o uso de soluções aquosas para processamento de minérios veio muito mais tarde quando, na época dos alquimistas, os ácidos e bases foram conhecidos.

O primeiro relato de um método hidrometalúrgico veio com a transmutação de metais inferiores em ouro, pois algumas dessas operações envolviam soluções aquosas. Um exemplo do uso deste método foi exposto quando um alquimista mergulhou um pedaço de ferro em uma solução de vitríolo azul, ou seja, sulfato de cobre, e o ferro foi imediatamente recoberto por uma camada de cobre metálico, todavia naquela época não se sabia que o vitríolo azul continha cobre (HABASHI, 2005).

No século XVI, a extração de cobre por métodos envolvendo soluções aquosas passou a receber atenção. A chamada lixiviação em pilhas foi praticada em uma área montanhosa de Harz, na Alemanha, e em minas na região do Rio Tinto, na Espanha (HABASHI, 2005).

Nestas operações o minério contendo minerais de sulfeto de cobre foi empilhado ao ar livre e deixado por meses sob a ação da chuva e do ar dando lugar à oxidação e dissolução de cobre. A partir da pilha, foi drenada e recolhida uma solução de sulfato de cobre e, posteriormente, o cobre metálico foi precipitado a partir desta solução por um processo que ficou conhecido como processo de cementação ou fechamento de poros do minério pela precipitação de minerais. Este é o mesmo processo que já era conhecido dos alquimistas e ainda está em operação, porém hoje são conhecidos, de maneira mais aprofundada, os detalhes deste processo. (HABASHI, 2005).

O nascimento da hidrometalurgia moderna pode ser rastreado até o final do século XIX quando dois importantes processos foram inventados: o

processo de cianidação ou cianetação para o tratamento de minérios de ouro e o processo Bayer para a produção de alumina (HABASHI, 2005).

No início do século XX a hidrometalurgia de cobre recebeu uma atenção particular. No Chile, minérios contendo oxigênio em sua composição foram lixiviados em larga escala com ácido sulfúrico diluído e, ao invés de precipitar cobre por cementação, foi utilizada a técnica de eletrodeposição (HABASHI, 1998 apud HABASHI, 2005). Sulfetos de cobre foram então solubilizados devido à presença de íons de ferro que agiram como agentes oxidantes.

O papel das bactérias na lixiviação tornou-se conhecido nos anos 50 e seu uso em pilhas e em lixiviação *in situ* foi praticado de forma generalizada para extração de cobre na década de 1980. A mesma técnica foi adotada para urânio de baixo grau de lixiviação e minérios sulfetados refratários de ouro (OSLON et al., 2003).

Desde então, este processo vem avançando progressivamente e até mesmo substituindo alguns processos pirometalúrgicos, como é o caso do cobre que, atualmente, cerca de um quinto da produção mundial é obtido pela técnica hidrometalúrgica (CÓRDOBA, 2008a).

2.1.2 Uma nova tecnologia: Biolixiviação

Após a descoberta, entre as décadas de 1940 e 1960, que a drenagem ácida de mina era principalmente uma consequência do metabolismo dos micro-organismos quimiolitotróficos capazes de oxidar sulfetos metálicos, principalmente pirita, inúmeros estudos têm sido realizados para compreender a ecologia e a fisiologia dos micro-organismos envolvidos (MALKI et al., 2006).

Nasceu assim a biohidrometalurgia, também conhecida como lixiviação bacteriana de metais, sendo definida como uma técnica que utiliza micro-organismos capazes de promoverem a solubilização de metais pela oxidação de sulfetos metálicos podendo atuar de forma alternativa ou complementar à recuperação e obtenção de metais de minérios de teores reduzidos (GAHAN et al., 2012).

A biohidrometalurgia é dividida basicamente em dois processos principais, a biolixiviação e a bio-oxidação. Ambos envolvem micro-organismos

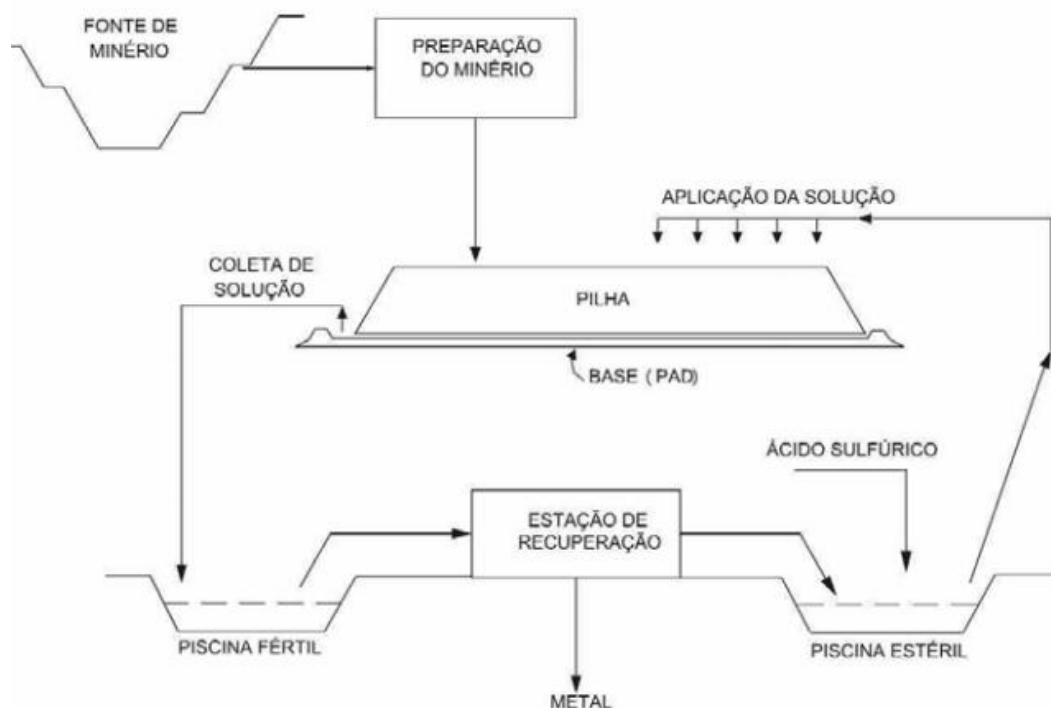
capazes de utilizar minérios como forma de obtenção de energia para o seu metabolismo, porém eles se divergem em relação à matriz onde permanece o metal de interesse, ou seja, na biolixiviação o metal sofre um processo de extração e torna-se um componente da fase líquida, já na bio-oxidação o metal permanece na fase sólida, tornando-o enriquecido (BRIERLEY, J. A. e BRIERLEY, C. L., 2001).

Na biohidrometalurgia existem dois processos que são principalmente empregados para a recuperação de metais a partir de minérios de baixos teores, em rejeitos de processos mineral ou ainda para recuperar metais de baixo valor econômico, sendo eles processos que envolvem tanto leitos estáticos assim como tanques agitados.

Os processos que utilizam leito estático podem ser denominados “dump leaching” ou “heap leaching” (RAWLING e JOHNSON, 2007). Na operação “heap leaching” (Figura 1), aplicável a minérios de baixo teor, o material é extraído, moído em diversas etapas e empilhado sobre uma base impermeabilizada. São utilizados pulverizadores ou irrigação por gotejamento para aspergir a solução ácida que pode estar inoculada ou não com micro-organismos capazes de lixiviar os sulfetos minerais. Esta solução ácida é percolada através da pilha lixiviando tanto o metal de interesse como também outros que estejam presentes no mineral.

A solução de lixiviação que contém os metais dissolvidos é então recolhida e tratada numa unidade de processamento para recuperá-los. Em seguida esta solução, já sem os metais, é reciclada após o ajuste dos níveis de reagentes e novamente utilizada na irrigação da pilha.

Figura 1 – Representação esquemática do processo de lixiviação em pilha.



Fonte: DOREY et al. (1988).

A operação “dump leaching” é também adequada para minérios de baixo teor por possuir baixo custo de operação, contudo é pouco rentável em relação à extração de metal, pois é um processo que demora meses ou até anos para a recuperação do metal de interesse por trabalhar com uma cinética lenta.

O material de interesse é, na maioria das vezes, o rejeito gerado dos processos de mineração convencionais. Este material possui geralmente um tamanho de partícula grande o qual é então processado por um longo período, sendo aspergida sobre sua superfície uma solução aquosa acidificada, a qual percola através do material gerando uma lixívia ácida que é recolhida em reservatórios localizados na base do “dump leaching”. A partir desta lixívia o metal poderá ser recuperado.

Esta operação pode ser considerada uma versão bruta da operação “heap leaching”, pois não são levados em consideração parâmetros para aumentar a taxa de dissolução do metal. Tem sido discutido o impacto que este tipo de operação pode causar ao meio ambiente quando do preparo da base do despejo, pois, se não preparada adequadamente para receber a lixívia ácida,

pode-se perder esta solução tornando-se uma fonte de poluição ambiental se desaguados, por exemplo, em fontes naturais de fornecimento de água (HEARN e HOYE, 1988).

As operações em tanques agitados são mais utilizadas na obtenção de metais de elevado valor econômico, como por exemplo, o ouro, principalmente por se tratar de um método que exige maiores investimentos. Este método torna-se caro devido ao controle da aeração, do fluxo de nutrientes, da temperatura, do pH e do fluxo de gases necessários durante o processo (RAWLINGS e JOHNSON, 2007).

Em escala laboratorial, a biolixiviação também pode ser estudada através da utilização de reatores agitados ou colunas. A biolixiviação em frascos agitados utiliza menor quantidade de minério, favorece uma avaliação mais rápida da capacidade oxidativa da bactéria e, em caso de resultados promissores, fornece parâmetros para o aumento de escala (GARCIA JÚNIOR e URENHA, 2001).

As configurações dinâmicas envolvendo biorreatores se destacam pela utilização de maior quantidade da proporção minério/solução lixiviante e pelo controle dos parâmetros do processo em tempo real. Este controle dos parâmetros em tempo real possibilita a obtenção de uma porcentagem economicamente viável de extração do metal (ACEVEDO, 2000).

É válido salientar que em ambas as operações ocorre a ação dos micro-organismos como catalisadores da dissolução dos metais, estando eles já presentes nos minerais ou adicionados aos sistemas na solução percoladora. O principal micro-organismo envolvido nestes processos é a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, uma espécie acidófila que para obter energia lança mão da oxidação de sulfetos metálicos, enxofre elementar, compostos reduzidos de enxofre e também íons ferrosos (LEDUC e FERRONI, 1994).

2.1.3 Mecanismos envolvidos na oxidação dos sulfetos metálicos

Os mecanismos pelos quais os micro-organismos podem obter energia a partir de um mineral, um processo de interesse para a biohidrometalurgia, tem muita controvérsia na literatura. Três mecanismos básicos que apontam a

relação entre o substrato (mineral) e o catalisador microbiano têm sido considerados a fim de explicar observações contraditórias: o mecanismo de contato, também conhecido como direto, o indireto e o cooperativo. (RODRÍGUEZ et al., 2003 e ROHWERDER et al., 2003)

O mecanismo indireto ocorre por meio de células planctônicas que estão principalmente envolvidas na regeneração dos íons férricos, um agente de oxidação forte presente na solução. Este ferro solúvel é responsável pela oxidação de sulfetos minerais expostos e outros compostos reduzidos (MALKI et al., 2006).

Em relação aos outros mecanismos citados é essencial que aconteça a adesão das células bacterianas sobre a superfície do mineral. Zeng et al. (2011) e Rohwerder et al. (2003) acreditam que o contato bacteriano ocorre através da secreção, pela bactéria, de uma substância polimérica extracelular (EPS) como demonstrado na Figura 2A. O EPS é constituído principalmente por proteínas, lipídeos, açúcares e Fe^{3+} e esta combinação aumenta o ambiente de reação da bactéria e é o sítio da dissolução do mineral (LI et al., 2013).

Rohwerder et al. (2003) sugeriram que o ataque dos íons férricos dentro do EPS extrai elétrons da superfície mineral os quais reduzem moléculas de oxigênio através de uma cadeia redox complexa dentro das membranas bacterianas. De acordo com Rodríguez et al. (2003) podem haver dois modos de adesão das bactérias, o reversível e o irreversível, como apresentado na Figura 2B. A interação reversível resulta na formação de um complexo estável entre o mineral e a superfície bacteriana e pode se tornar uma célula livre novamente, enquanto que no contato irreversível este complexo se forma sob a secreção do EPS (LI et al., 2013).

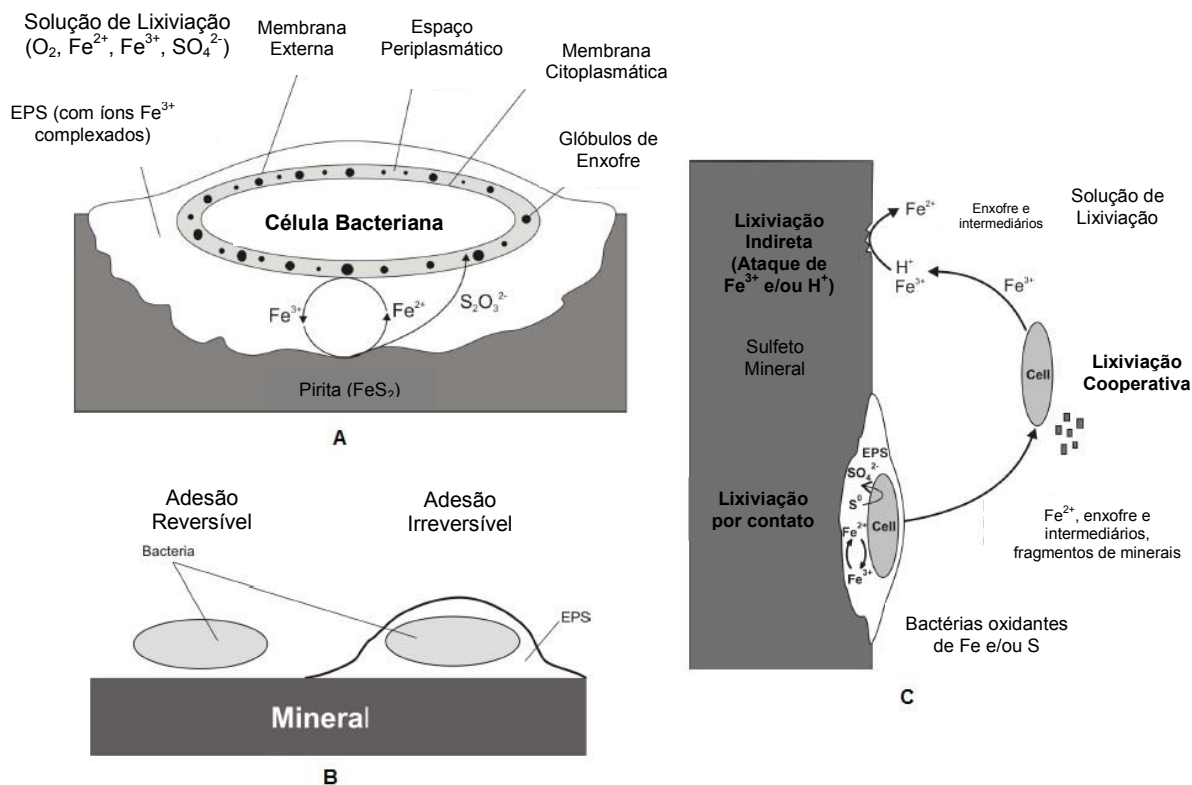
O mecanismo cooperativo (Figura 2C) é estabelecido entre as células aderidas e as planctônicas quando as células aderidas fornecem Fe^{2+} e enxofre para as células livres como fonte de energia. O resultado deste balanço é uma fonte eficiente de oxidantes (Fe^{3+}) para a oxidação e remoção de produtos de superfície.

Gautier et al. (2008) demonstraram que quando havia uma relação de cooperação entre as células aderidas e planctônicas a eficiência da lixiviação da calcopirita era muito melhor.

Rodríguez et al. (2003) revelaram ainda que a fixação bacteriana foi indispensável para obtenção de altas taxas de lixiviação e que a lixiviação bacteriana ocorreu de três estágios: a primeira envolvia fixação bacteriana extensiva, a segunda etapa envolveu uma diminuição da fixação bacteriana devido à saturação da superfície, enquanto que na terceira etapa é atingido um equilíbrio entre as células livres e aderidas.

Como há esta transferência de elétrons do mineral para o micro-organismo pode-se dizer que, além de ser um processo químico, envolve também a eletroquímica. Existe ainda muita controvérsia na literatura quanto aos mecanismos envolvidos, mas é fundamental que se orientem estudos visando aperfeiçoar os processos de recuperação de metais, principalmente na lixiviação de cobre.

Figura 2 – Mecanismos propostos para a biolixiviação. (A) Adesão bacteriana sobre a superfície do mineral; (B) Dois modos de adesão bacteriana sobre a superfície do mineral; e (C) Esquema do mecanismo de lixiviação cooperativa.



Fonte: Modificado de LI et al., 2013.

2.2 O cobre

Metais têm sido amplamente utilizados desde milhares de anos, começando com a Idade do Bronze que teve lugar cerca de 3000 a 100 anos a.C. Hoje, é vivenciada a Idade do Ferro, que presumivelmente substituiu a do Bronze, apesar de se usar ainda uma quantidade considerável deste (SCHWEITZER, 2003a).

Tradicionalmente, os metais foram classificados como metais ferrosos e não-ferrosos. O primeiro se refere aos metais a base de ferro, enquanto que o segundo são livres de ferro (SCHWEITZER, 2003a).

Entre os metais não-ferrosos encontra-se o cobre (Cu) que tem sido utilizado desde o início da história, quando os povos primitivos descobriram o metal vermelho. O cobre é um material altamente útil por possuir excelente condutividade térmica e elétrica além de ser maleável, contudo não possui propriedades mecânicas suficientes. Para tanto, ligas de cobre com diferentes materiais são as alternativas para garantir uma maior dureza do material.

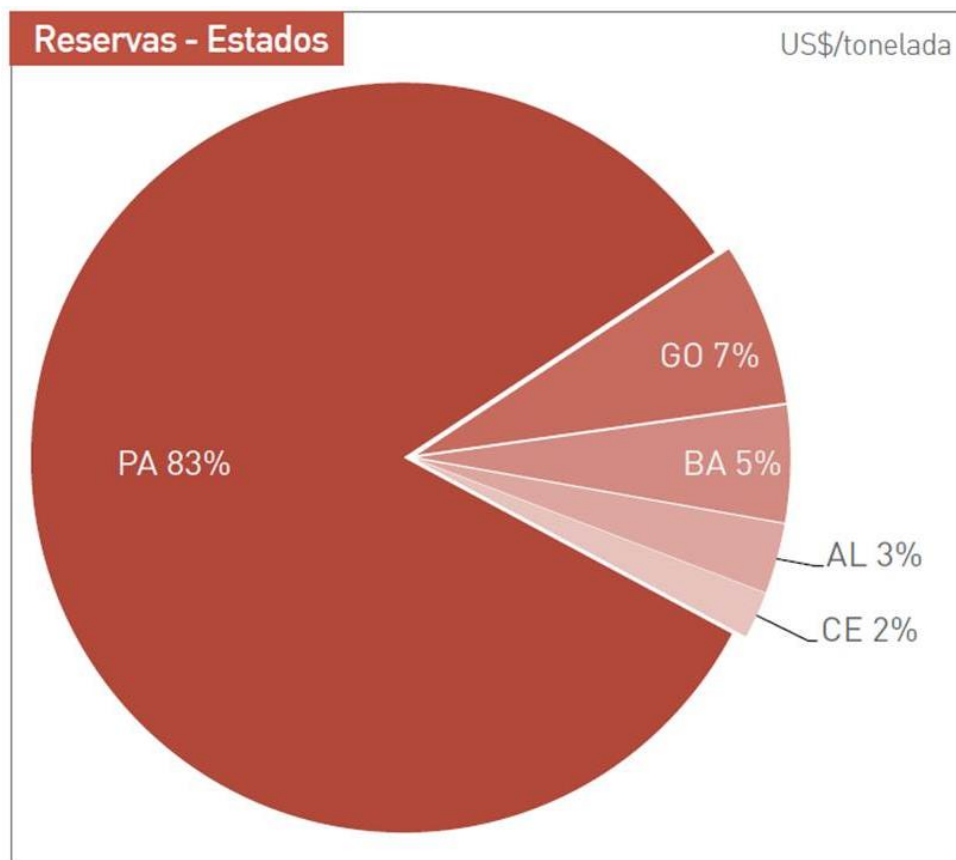
Os artesãos que construíram a grande pirâmide para o faraó egípcio Quéops utilizaram tubos de cobre para transportar a água do banho real. Um remanescente deste tubo foi descoberto há alguns anos, ainda em condições de uso, uma prova irrefutável da durabilidade do cobre e resistência à corrosão. Hoje, quase 5000 anos depois de Quéops, o cobre ainda é usado para transportar água e é um material excelente para este fim (SCHWEITZER, 2003b).

O Brasil é o décimo quinto maior produtor de minério de cobre, com produção em 2011 de 400 mil toneladas. Em 2012, o país atingiu 450 mil toneladas segundo o Instituto Brasileiro de Mineração (IBRAM). Até 2015 espera-se um crescimento mais significativo na produção, de modo a atingir 600 mil toneladas com o início das operações de novos projetos (INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO, 2012).

O Chile é o maior produtor mundial, com 33,66% do total, seguido pelo Peru, com 7,58%, China com 7,5% e EUA com 6,96% (INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO, 2012).

As reservas de cobre somam 690 milhões de toneladas em âmbito mundial, sendo que 2,5% (17,3 milhões de toneladas) se encontram em território brasileiro, e se distribuem da maneira representada na Figura 3.

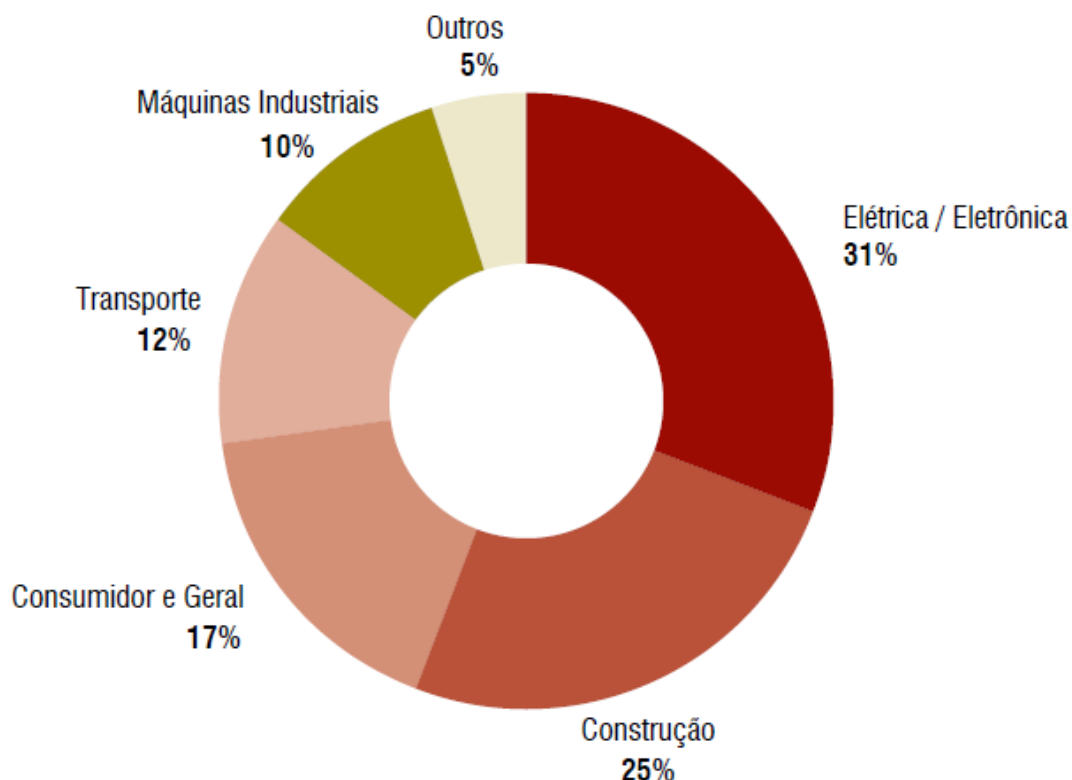
Figura 3 – Reserva brasileira de minério de cobre distribuída por estados.



Fonte: INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO, 2011.

As principais empresas produtoras de cobre no Brasil são a Vale com 46% da produção, Mineração Maracá (Yamana) com 39%, Mineração Caraíba com 14% e Votorantim Metais Níquel e Prometálica Mineração Centro-Oeste com 1% (INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO, 2012). A produção industrial de cobre está voltada principalmente para a indústria metalúrgica, sobretudo na área de construção civil e de cabos e fios, conforme apresentado na Figura 4.

Figura 4 – Distribuição do consumo de minério de cobre a nível mundial.



Fonte: INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO, 2012.

Segundo o INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO (2011), a demanda por cobre para a produção de fios e cabos deve crescer 39% até 2016 no Brasil, podendo atingir 295 mil toneladas do metal por ano ao final deste período. Além do *boom* da construção civil alavancado pelo projeto do Governo em habitação (PAC – Programa de Aceleração do Crescimento) a realização da Copa do Mundo e dos Jogos Olímpicos no Brasil ajudará a aquecer o setor.

2.3 O sulfeto mineral: calcopirita

O principal grupo de minerais (bio)lixiviáveis é o dos sulfetos. Entre eles, os de maior relevância econômica são: os sulfetos de cobre e os sulfetos de ferro com ouro ocluído na sua estrutura cristalina.

Segundo Garcia Júnior e Urenha (2001), as aplicações industriais da lixiviação bacteriana de minérios são realizadas principalmente na recuperação

de cobre de minérios sulfetados de baixo teor ou de jazidas de pequeno porte, na lixiviação de urânio por sulfato férrico ácido e na liberação de ouro ocluído em sulfetos.

A calcopirita (CuFeS_2) é a principal fonte de cobre e também o mineral de cobre mais amplamente utilizado na indústria (Al et al., 2011). Há várias décadas a lixiviação e a biolixiviação da calcopirita vem sendo extensivamente estudada por diversos fatores, entre os quais a possibilidade de recuperação do cobre a partir de minérios de baixos teores (GARCIA JÚNIOR e URENHA, 2001).

A estrutura cristalina da CuFeS_2 (Figura 5) foi primeiramente determinada em 1917, como sendo um sulfeto de cobre covalente e possuindo a forma estrutural semelhante a da esfalerita. Em relação às propriedades elétricas, a calcopirita é considerada um semicondutor degenerado, que é um semicondutor com alto nível de dopagem, começando a atuar mais como metal.

Em relação ao estado de oxidação é mais frequentemente considerado o estado de valência $\text{Cu}^+\text{Fe}^{3+}(\text{S}_2)^{-2}$ ao invés de $\text{Cu}^{2+}\text{Fe}^{2+}(\text{S}_2)^{-2}$. Contudo, Mikhlin et al. (2005) realizaram análises e as interpretaram sugerindo que algumas partes do Cu e Fe podem ser bivalentes. No entanto, a possibilidade de estados de oxidação variáveis para Cu e Fe em idênticas posições cristalográficas parece improvável (LI et al., 2013).

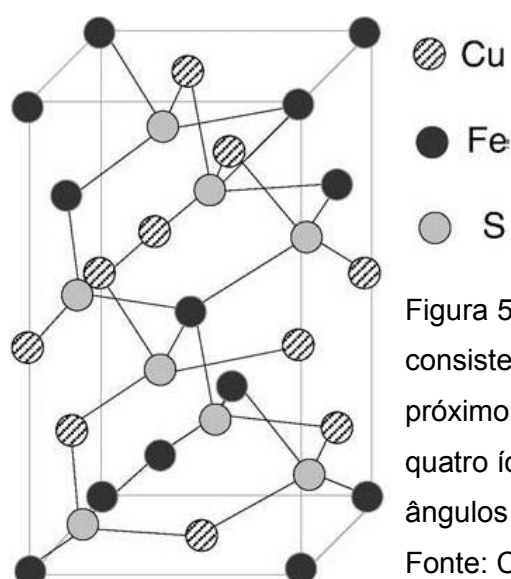
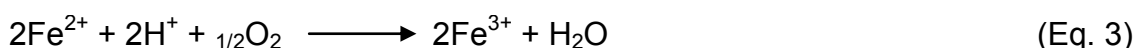
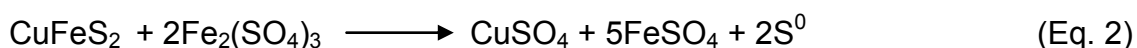
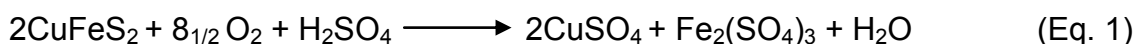


Figura 5 – Estrutura da calcopirita. A estrutura cristalina consiste em uma rede tetragonal relativamente simples, próximo a um cubo. Cada íon de enxofre é rodeado por quatro íons de metal de cobre e/ou ferro localizados em ângulos tetraédricos.

Fonte: CÓRDOBA, 2008a.

A recuperação do cobre a partir da calcopirita enfrenta os empecilhos relacionados à sua baixa taxa de dissolução (PRADHAN et al., 2008) e a elevada refratariedade desse sulfeto mineral sob condições hidrometalúrgicas convencionais devido a estabilidade de sua configuração estrutural. Esses obstáculos têm sido atribuídos a uma transformação na superfície da calcopirita que gera produtos muito estáveis sob condições de oxidação (CÓRDOBA et al., 2009).

A dissolução da calcopirita ocorre, em uma primeira etapa, por ataque bacteriano (Eq. 1). É provável ocorrer também um ataque químico no qual o sulfato férrico, formado na oxidação do sulfeto pela bactéria, oxida diretamente a calcopirita possibilitando uma maior solubilização de cobre com produção de Fe^{2+} e S^0 (Eq. 2). Estes produtos são posteriormente oxidados pela bactéria com produção de Fe^{3+} e ácido sulfúrico (Eq. 3 e 4). (GARCIA JÚNIOR E BEVILAQUA, 2005).



A lenta cinética de oxidação da calcopirita pode ser atribuída a sua refratariedade. É possível que este fato esteja associado à alta energia de formação da rede cristalina do sulfeto (~ 17000 kJ/mol), bem como à formação de um filme, que limita a reação de dissolução com o meio lixiviante (HACKL et al., 1995; VILCÁEZ et al, 2008).

Esta camada limitante e as condições nas quais ela é formada têm sido investigadas, porém a natureza desta camada ainda não foi totalmente esclarecida (KLAUBER, 2003; KLAUBER, 2008). Entretanto, alguns autores

afirmaram que a formação do filme pode ser atribuída principalmente a formação de polissulfetos, enxofre elementar e ainda de precipitados de ferro.

Para tornar possível o aumento da produção através de processos hidrometalúrgicos economicamente viáveis é de grande importância a realização de estudos básicos que esclareçam os aspectos químicos e eletroquímicos que governam a biolixiviação. (CÓRDOBA et al., 2008a)

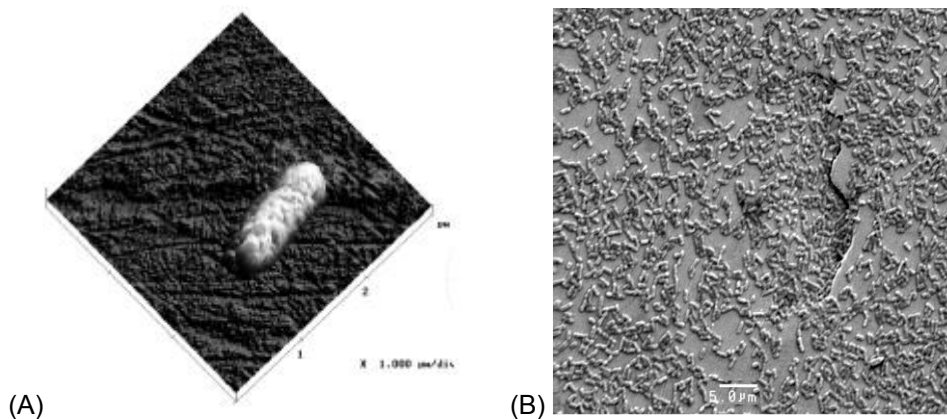
2.4 A bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*

A *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Figura 4) é o micro-organismo mesófilo mais importante na biomineração principalmente de minérios de baixo teor para os quais a extração de metais pelo método físico-químico convencional é economicamente inviável.

Esta espécie pode ser classificada como acidófila quimiolitotrófica e autotrófica, ou seja, capaz de obter energia a partir da oxidação de íons ferrosos ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$) e de compostos reduzidos de enxofre. Além disso, a bactéria pode realizar a fixação atmosférica de CO_2 para utilização como fonte de carbono (LEDUC e FERRONI, 1994).

A *A. ferrooxidans* é uma espécie não patogênica, gram-negativa, que se apresenta na forma de bastonetes com flagelo polar e cílios e com capacidade de se reproduzir por divisão binária (GARCIA JÚNIOR e URENHA, 2001). As condições de crescimento dessa bactéria são extremas, pois se desenvolvem em ambientes de elevada acidez e altas concentrações de metais potencialmente tóxicos (GARCIA JÚNIOR e BEVILAQUA, 2008).

Figura 6 – Imagem topográfica por microscopia de força atômica de *A. ferrooxidans*, linhagem LR, na superfície da calcopirita (A) e por microscopia eletrônica de varredura em calcopirita (B).



Fonte: BEVILAQUA (2003).

Com respeito ao pH, *A. ferrooxidans* é uma acidófila estrita e os autores convergem para um pH ótimo de crescimento e oxidação de íons ferrosos próximo a 2,0, podendo variar entre 1,5-6,0. Em valores de pH maiores que 7,0, a bactéria não é capaz de se desenvolver (LEDUC e FERRONI, 1994).

Em relação à temperatura de crescimento, a espécie tem sido tradicionalmente considerada como um micro-organismo mesófilo, com uma temperatura mínima de crescimento próximo a 15 °C, ótima em torno de 30 °C e máxima em aproximadamente 37 °C (SILVERMAN e LUNDGREN, 1959).

A *A. ferrooxidans*, apesar de ser um aeróbio obrigatório, pode reduzir o íon férrico anaerobicamente durante a oxidação do enxofre para a produção de energia utilizada no crescimento bacteriano (GARCIA JÚNIOR e BEVILAQUA, 2008).

Esta bactéria apresenta certa desvantagem quando do cultivo laboratorial, pois por ser quimiolitotrófica cresce mais lentamente que os micro-organismos heterotróficos. Outro problema relacionado ao seu crescimento está na obtenção de suas colônias em meio sólido, porque o agente geleificante, ágar bacteriológico, contém impurezas, como traços de compostos orgânicos, que inibem o crescimento da bactéria (MANNING, 1975).

Em linhas gerais, a atividade bacteriana na biolixiviação é benéfica se as condições químicas e bioquímicas são ótimas. Segundo Li et al. (2013), os fatores chaves para uma biolixiviação otimizada são baixos valores iniciais de Fe^{3+} , baixo valor de potencial redox, concentrações suficientes de Fe^{2+} , uso de altas temperaturas e micro-organismos termofílicos moderados e extremos.

Embora a utilização de micro-organismos para a lixiviação de minerais, tais como calcocita, covelita e pirita tenha demonstrado ter um efeito benéfico definido, em contrapartida, a calcopirita tem causado certa discussão. Third et al. (2000) realizaram uma série de experimentos com e sem bactérias e concluíram que o potencial redox (Eh) é mais significativo para a elevação das taxas de lixiviação de calcopirita do que o número ou a atividade das bactérias.

Com isso, em estudos recentes foi dada maior atenção para o efeito que o potencial redox causa em sistemas de biolixiviação para entender e aperfeiçoar processos de recuperação de cobre a partir de calcopirita (CÓRDOBA et al., 2008b-c; HIROYOSHI et al., 2008; GERICKE et al., 2010; KHOSHKHOO et al. 2014).

2.5 O efeito do potencial de óxido-redução

O potencial de óxido-redução ou potencial redox quantifica a existência de oxidantes ou agentes redutores em uma solução, contudo sua medição não determina seletivamente o tipo de agente oxidante ou redutor presentes no meio reacional. Seu valor pode ser calculado segundo a equação de Nernst (Eq. 5).

$$E = E_{Fe^{2+}, Fe^{3+}}^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a(Fe^{3+})}{a(Fe^{2+})} \quad (\text{Eq. 5})$$

onde,

E: potencial de óxido-redução do meio, V;

E^0 : potencial de óxido-redução padrão, 0,77V para Fe^{3+}/Fe^{2+} ;

R: constante dos gases perfeitos, 8,314 J/mol K;

T: temperatura, K;

n: número de moles de elétrons trocados na equação global;

F: constante de Faraday, 96,485 C/mol e⁻;

a: atividade iônica das espécies iônicas.

Na biolixiviação, o par mais comumente encontrado é o Fe²⁺ e Fe³⁺ que age como agente redutor e oxidante, respectivamente. Como todos os termos são constantes é a relação da atividade dos íons Fe³⁺ sobre a atividade dos íons Fe²⁺ que influencia a variação do potencial redox (Eh) desde que não haja outros reagentes/produtos capazes de participar do processo redox. O potencial redox permite ainda inferir, assim como o pH, sobre a atividade metabólica bacteriana. Nos sistemas contendo bactéria o potencial da solução se dá, principalmente, em função do par Fe³⁺/Fe²⁺, já em condições abióticas o potencial redox se dá pelo potencial eletroquímico dos íons hidratados.

Estudos comprovam que a lixiviação bacteriana de sulfetos metálicos, incluindo os sulfetos secundários de cobre é possível, contudo existem ainda dúvidas e incertezas em relação à biolixiviação da calcopirita (OSLON et al., 2003).

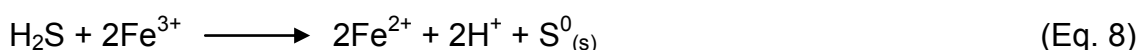
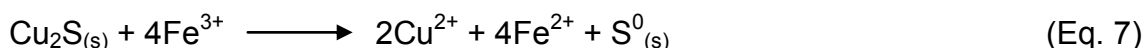
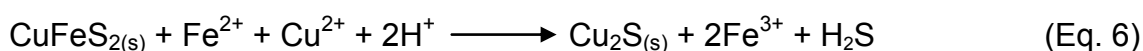
Diversos autores (STOTT et al., 2000; WATLING, 2006; CÓRDOBA et al., 2008b-c) têm reportado sobre a baixa taxa de dissolução da calcopirita e atribuem este fenômeno à formação de um filme na superfície do mineral durante a lixiviação, que inibe a corrosão e o ataque.

Apesar desta camada ainda não possuir características plenamente definidas é sabido que se semelha a estrutura original do mineral, porém possui características elétricas diferentes e, além disso, protege o mineral, impedindo o ataque químico e bacteriano (PINCHES et al., 2001).

Nas últimas décadas, várias hipóteses têm sido propostas tratando da morfologia e das possíveis causas para formação dessa camada. Alguns pesquisadores consideram que a dissolução da calcopirita não é completamente bloqueada, mas sim dificultada por alguns produtos da oxidação deste mineral, portanto o filme formado na superfície da calcopirita não poderia ser denominado de “filme passivante” ou “camada passivadora” (KLAUBER, 2008).

Assim, surgem diversas propostas referentes aos agentes que dificultam a dissolução da calcopirita, como por exemplo, o enxofre elementar, os sulfetos deficientes em metais, os polissulfetos, outros alótropos de enxofre elementar e a formação de jarositas. Zeng et al. (2010) apontam ainda que o EPS pode ser uma forma de dificultar a lixiviação favorecendo este bloqueio de superfície, podendo estar relacionado com a limitação da transferência de carga e massa da solução para a superfície do mineral e vice-versa.

O enxofre elementar pode ser formado na superfície da calcopirita pela sua oxidação (Eq. 2) ou redução, especialmente em condições com baixos valores de potencial. A redução da calcopirita pode levar à formação de calcocita (Cu_2S) e sulfeto de hidrogênio (H_2S) que são prontamente oxidados a enxofre elementar (Eq. 6-8). (LI et al., 2013)

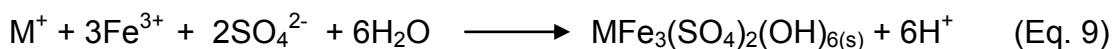


A camada de enxofre elementar sobre a superfície da calcopirita pode impedir o processo de lixiviação pela inibição do fluxo de elétrons e oxidantes que chegam e saem de sua superfície (PRADHAN et al., 2008). As bactérias oxidantes de enxofre oxidam este material com produção de sulfato.

No processo de biolixiviação, os íons férricos formados pela ação bacteriana agem como um agente oxidante mantendo o potencial redox alto. Este alto valor de potencial redox é preferencial para a dissolução de minerais, mas, eventualmente, este se torna prejudicial, pois ocorre a elevação dos valores de pH, pela reação de oxidação dos íons ferrosos, que favorece a precipitação de jarositas (Eq. 9) e de hidroxí-sulfatos férricos, os quais interferem na dissolução (WATLING, 2006).

As jarositas $[\text{MFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6]$ são formadas pela precipitação do íon férrico em meios que contém sulfato e cátions alcalinos monovalentes, como os encontrados na lixiviação bacteriana de sulfetos minerais (AHONEN e

TUOVINEN, 1992; DAOUD e KARAMANEV 2006) e, além disso, sua formação é dependente da temperatura e do pH, sendo que sua formação é facilitada em altas temperaturas e pH na faixa de 2 a 3 (NEMATl et al., 1998).



onde, $M = K^+, Na^+, H_3O^+$ ou NH_4^+

Córdoba et al. (2008b) afirmaram que a precipitação e nucleação de jarositas em partículas de calcopirita é a principal causa do bloqueio de superfície da calcopirita em meio contendo íons férricos. Os autores afirmaram ainda que a formação desses precipitados depende dos valores de potencial redox da solução de lixiviação acima do qual a precipitação é acelerada devido à tendência dos íons Fe^{3+} e Fe^{2+} atingirem um equilíbrio químico no qual a atividade de ambos é a mesma.

Vários autores têm evidenciado que o bloqueio de superfície está relacionado ao alto potencial de oxidação-redução, ou seja, alta razão de Fe^{3+}/Fe^{2+} , pois este par é o principal responsável pelo potencial redox da solução de lixiviação (Hackl et al. (1995), Hiroyoshi et al. (1997, 2000, 2001), Sandström et al. (2005), Klauber (2008), Córdoba et al. (2008b), Gericke et al. (2010)). A faixa de potencial que compreende 400-450 mV (vs. $Ag|AgCl|KCl_{(sat)}$) tem sido considerada como sendo a faixa crítica e dentro deste intervalo a dissolução da calcopirita é favorecida. Contudo, o potencial crítico pode estar acima ou abaixo desta faixa, pois seu valor depende das condições em que o processo está sendo realizado, como por exemplo, o tipo de amostra mineral, presença de oxigênio ou utilizando atmosfera de nitrogênio (HIROYOSHI et al., 2008) e a realização de ensaios estáticos ou agitados.

Segundo Córdoba et al. (2008c) para que ocorra o aumento da taxa de dissolução da calcopirita é necessário evitar a formação da camada sobre a superfície do mineral. Uma das soluções para minimizar essa questão seria o controle do potencial redox durante o processo de (bio)lixiviação que pode ser obtido eletroquimicamente, pela aplicação de potencial a partir de uma fonte

elétrica externa por meio de um eletrodo, ou quimicamente pela adição de concentrações combinadas de íons ferrosos e férricos.

Estudo anterior (DUTRIZAC, 1981) relatou que a formação de jarositas pode ser significativamente reduzida também pela passagem de corrente pelo sistema enquanto a taxa de lixiviação da calcopirita aumenta de forma gradativa.

Velásquez-Yévenes et al. (2010) também discutiram o efeito do potencial médio na lixiviação da calcopirita. Os autores conduziram experimentos a potenciais controlados em meio contendo 200 mmol L^{-1} de HCl com $0,5 \text{ g/L}$ de Cu^{2+} a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ e concluíram que os produtos de lixiviação são altamente dependentes do potencial da solução. A taxa de dissolução foi melhorada significativamente quando os valores de potencial permaneciam entre 340 e 380 mV (vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$) sendo a faixa 350-420 mV sugerida como janela de potencial ativo. Quando o potencial atingiu valores maiores do que 430 mV a taxa de dissolução foi diminuída.

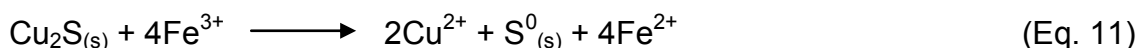
Um eletrodo de calcopirita foi utilizado por Velásquez et al. (1998) para confirmar os produtos de lixiviação através de voltametria cíclica (CV) e XPS. Os dados mostraram a formação de CuS_2 e $\text{CuFe}_{1-x}\text{S}$ em valores de potencial abaixo de 440 mV (vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$) enquanto que em intervalos de 440-740 mV ocorreu a formação de Fe_2O_3 e CuO e em 740-840 mV formou-se goetita (FeOOH) e delafossita (CuFeO_2).

Hiroyoshi et al. (2008) descreveram uma recuperação de metal superior em soluções com diferentes concentrações de íons ferrosos, férricos e cúpricos. A presença de certas concentrações desses íons em solução permite a manutenção de um valor de potencial ótimo para a recuperação de cobre pela provável formação de intermediários menos refratários que a calcopirita, principalmente calcocita.

Em experimentos de lixiviação de calcopirita sob condições oxidativas com O_2 e Fe^{3+} dissolvidos em solução de sulfato ácida, Hiroyoshi et al. (2001) verificaram que a taxa de lixiviação em soluções de sulfato férrico ácido foi significativamente aumentada através da adição de concentrações significativas de Fe^{2+} (500 mmol L^{-1}) e Cu^{2+} (10 mmol L^{-1}), juntamente com 30 mmol L^{-1} de Fe^{3+} . A fim de se entender esse fenômeno, um modelo de

reação de duas etapas foi proposto por Hiroyoshi et al. (2008) baseado em experimentos de polarização anódica utilizando-se um eletrodo massivo de calcopirita contra um eletrodo de $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$.

A Eq. 10 indica que na presença de Fe^{2+} , obtendo assim um baixo potencial redox e Cu^{2+} a calcopirita é reduzida a calcocita (Cu_2S). Em comparação com a calcopirita a calcocita (Cu_2S) é um intermediário mais facilmente oxidado pelo Fe^{3+} (Eq. 11) e isto resultou na melhora da taxa de lixiviação de cobre observado em baixos valores de potencial 360-400 mV, enquanto que uma taxa máxima de lixiviação foi obtida em 430 mV vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$ (HIROYOSHI et al., 2008). Assim, uma faixa de potencial redox ideal está implícita por este modelo já que os processos de redução e oxidação acontecem simultaneamente.



Levando em consideração todos os fatores citados até agora, estudos vêm sendo conduzidos, nas mais diversas áreas, de maneira a aperfeiçoar o aproveitamento das ocorrências minerais, sobretudo as de baixo teor, destacando-se a principal fonte de cobre no mundo, a calcopirita. Este mineral é o grande gargalo para o aproveitamento de minérios de baixos teores.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo proposto foi avaliar a atividade de lixiviação da calcopirita pela bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* linhagem LR na ausência e presença de diferentes concentrações de íons ferrosos como fonte de energia.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito do potencial de oxido-redução na biolixiviação da calcopirita na presença de íons ferrosos;
- Analisar a capacidade de solubilização de cobre pelos sistemas dispostos;
- Estudar o comportamento do sistema e a composição dos resíduos sólidos gerados após o ensaio de lixiviação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Calcopirita

Foi utilizado como fonte de calcopirita (CuFeS_2) o sulfeto mineral proveniente da localidade de La Chorrera, no município de Cisneros, na Antioquia, Colômbia, cedido gentilmente pelo Prof. Dr. Marco Antonio Marquez da Universidad de Medellin, Colômbia.

O minério recebido foi inicialmente processado em moinho de bola (MLW – KM1) até atingir uma granulometria de $100\% < 125 \mu\text{m}$ (120 mesh). A fim de se conhecer as fases cristalinas e a quantidade dos principais metais presentes na amostra, foram realizadas, respectivamente, a análise de difratometria de raios X e espectrometria de absorção atômica após a digestão ácida.

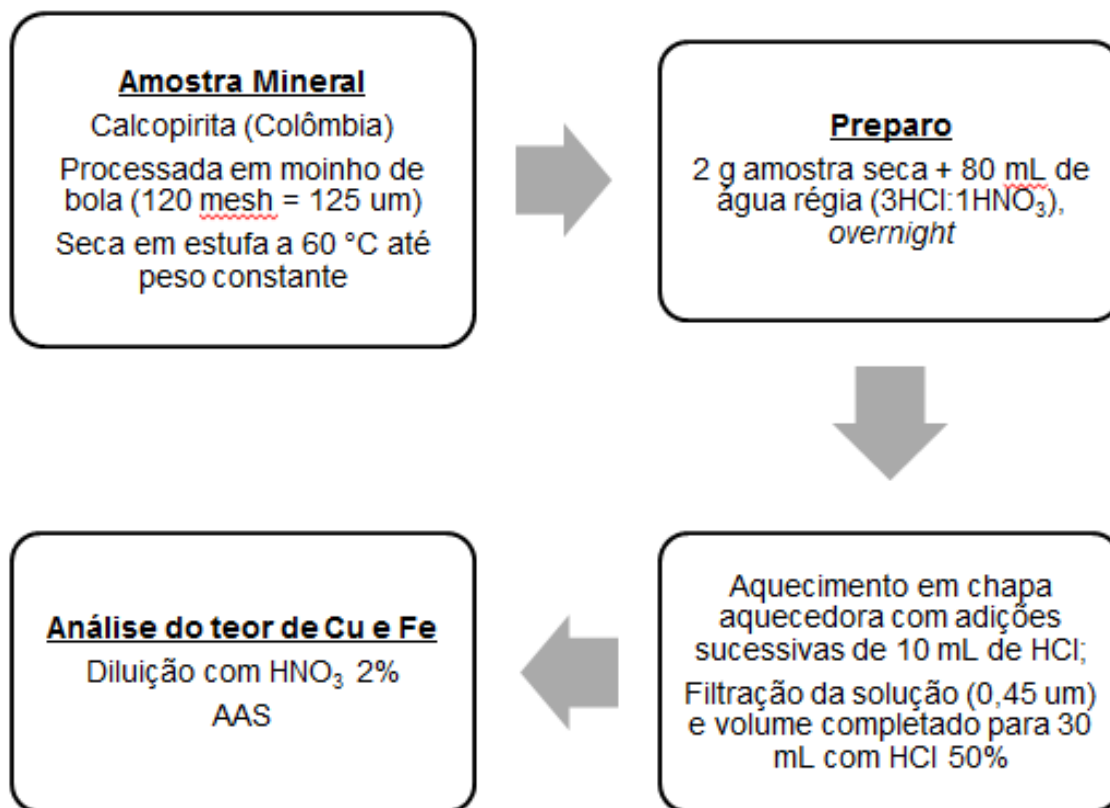
4.2 Material Biológico

A bactéria acidófila *Acidithiobacillus ferrooxidans*, linhagem LR, isolada de uma lixívia ácida de mineral de urânio de Lagoa Real – BA. (GARCIA JÚNIOR, 1991) foi utilizada na realização dos ensaios.

4.3 Digestão ácida (EMPRESAS NUCLEARES BRASILEIRAS – modificado)

A Figura 7 apresenta um fluxograma esquemático para a realização da digestão ácida e em seguida a metodologia é descrita em maiores detalhes.

Figura 7 - Fluxograma esquemático da realização da digestão ácida.



Fonte: Autor

Para a digestão ácida, o material foi seco em estufa a 60 °C até atingir peso constante. Posteriormente, adicionou-se às 2,0 g de amostra, 80 mL de uma mistura de ácido clorídrico e ácido nítrico concentrados numa proporção de 3 partes de HCl e 1 de HNO₃, *overnight*.

A mistura foi então aquecida em chapa aquecedora (Nova Ética, modelo 114) com adições sucessivas de 10,0 mL de HCl até diminuição expressiva de volume, porém sem calcinar. Por fim, foi adicionada à mistura 30 mL de uma solução de HCl 50% e filtrou-se em membrana de acetato de celulose (0,45 µm de porosidade – Milipore).

Esta solução contendo os metais extraídos da matriz de calcopirita foi diluída adequadamente e submetida à análise por Espectrometria de Absorção Atômica para determinação do teor de cobre e ferro.

4.4 Meio de cultura

O meio de cultura T&K, desenvolvido por Tuovinen e Kelly (1973) foi utilizado para a manutenção periódica da linhagem bacteriana e para a obtenção de suspensões celulares de *A. ferrooxidans* - LR.

Este meio contém sais minerais (Solução A) e sulfato ferroso como fonte de energia (Solução B), sua composição e o modo de preparo estão descritos nas Tabelas 1 e 2, abaixo:

Tabela 1 – Composição da Solução A.

Componentes	Quantidade
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,5 g
K_2HPO_4	0,5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 g
Água destilada	800 mL

Fonte: Autor

Tabela 2 – Composição da Solução B.

Componentes	Quantidade
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	33,3 g
Água destilada	200 mL

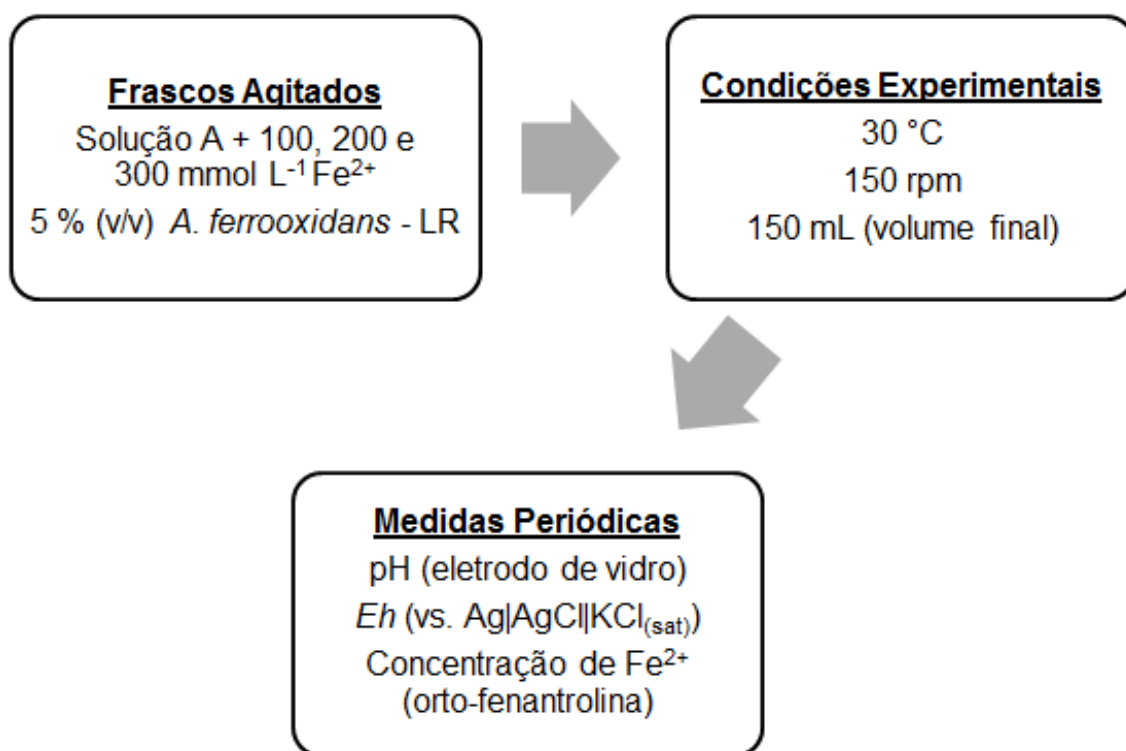
Fonte: Autor

O pH das soluções A e B foi ajustado a 1,8 com ácido sulfúrico 50%. A solução A foi então esterilizada por calor úmido em autoclave a 121 °C por 20 minutos, e a solução B por filtração em membrana de acetato de celulose (0,45 µm de porosidade – marca Milipore). No momento da utilização, a mistura seguiu uma proporção de quatro partes da solução A e uma parte da solução B.

4.5 Ensaio de oxidação de íons ferrosos

A Figura 8 apresenta um fluxograma esquemático para a realização do ensaio de oxidação de íons ferrosos e em seguida a metodologia é descrita mais detalhadamente.

Figura 8 – Fluxograma esquemático da realização do ensaio de oxidação de íons ferrosos.



Fonte: Autor

Para realização de todos os ensaios foram utilizados 5 % (v/v) de inóculo de *A. ferrooxidans* - LR proveniente de uma cultura fresca totalmente oxidada em 48 horas ($\sim 10^8$ células/mL).

Os materiais utilizados nos ensaios foram lavados previamente com ácido clorídrico (1:1) para a eliminação de resíduos de metais, principalmente o ferro, posteriormente foram lavados com água destilada e secos em estufa até sua utilização.

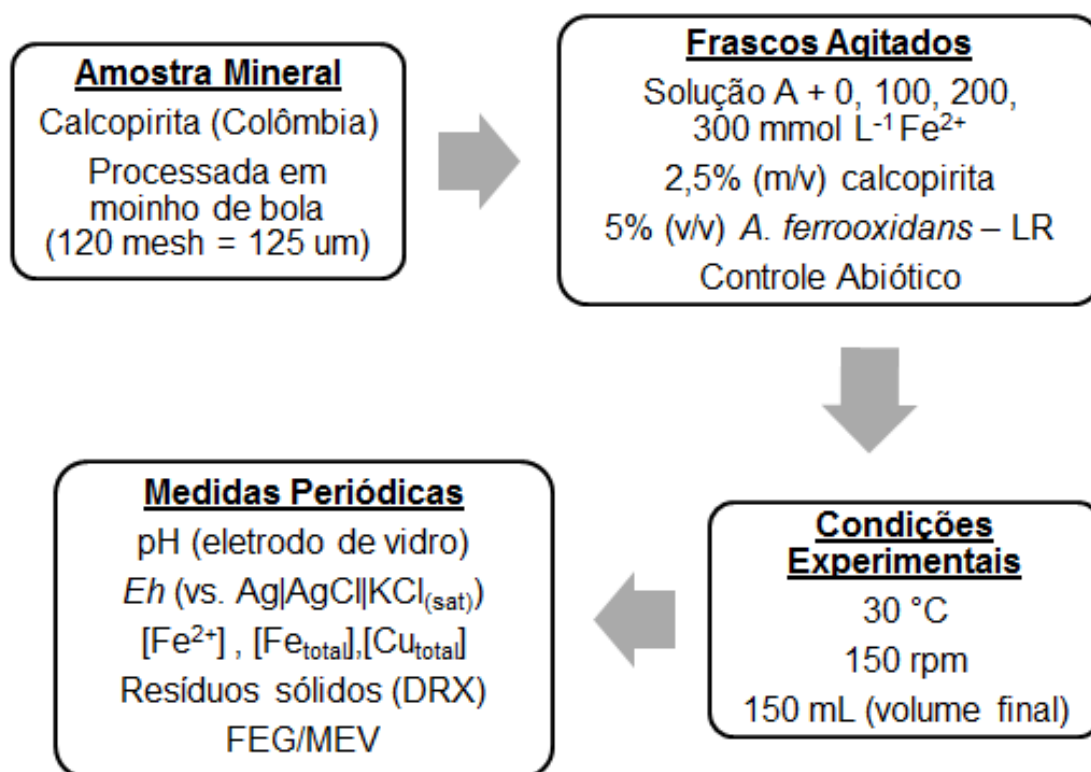
Os ensaios foram realizados em duplicata utilizando frascos erlenmeyer de 250 mL contendo a solução A do meio T&K e concentrações de 100, 200 e

300 mmol L⁻¹ de Fe²⁺ na presença de *A. ferrooxidans* e seus respectivos controles abióticos. O experimento foi conduzido em agitação a 150 rpm e a uma temperatura controlada de 30 °C. Periodicamente foram retiradas alíquotas das polpas dos frascos para medidas de pH, Eh e concentração de íons ferrosos. O volume final dos frascos correspondia a 150 mL.

4.6 Ensaio de biolixiviação da calcopirita

A Figura 9 apresenta um fluxograma esquemático para a realização do ensaio de biolixiviação da calcopirita e em seguida a metodologia é descrita em maiores detalhes.

Figura 9 – Fluxograma esquemático da realização do ensaio de biolixiviação da calcopirita



Fonte: Autor

Os ensaios foram realizados em duplicata durante 21 dias em frascos erlenmeyer de 250 mL, sob agitação 150 rpm a 30 °C, contendo solução A do

meio T&K, concentrações de íons ferrosos de 0, 100, 200 e 300 mmol L⁻¹, 2,5% (m/v) de calcopirita na presença de 5 % (v/v) de *A. ferrooxidans* com os respectivos controles abióticos. O volume final dos frascos correspondia a 150 mL.

A evaporação de meio líquido de cada frasco foi estimada pela perda de massa e compensada pela adição de água destilada esterilizada. Alíquotas das polpas dos frascos foram retiradas periodicamente para análises da fase líquida e da fase sólida. Tais fases foram separadas por centrifugação a 4000 rpm, a 4 °C por 10 minutos (Centrífuga Eppendorf 5702 R).

No sobrenadante foram realizadas medidas de pH, Eh, concentração de íons ferrosos além de ferro e cobre total. Os resíduos sólidos foram analisados por difratometria de raios X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (FEG/MEV).

4.7 Procedimentos analíticos

4.7.1 Medidas de pH e potencial redox (Eh)

O pH foi mensurado com o auxílio do pHmetro Corning 430 e o potencial de óxido-redução da solução (Eh) foi medido contra o eletrodo de Ag|AgCl|KCl_(sat) equipamento Micronal B374. Ambas as medidas foram realizadas no sobrenadante das amostras em intervalos de tempo pré-determinados.

4.7.2 Determinação de íons ferrosos (Fe²⁺)

Um parâmetro do crescimento bacteriano, quando as linhagens utilizam como fonte energética íons ferrosos (Fe²⁺), é o monitoramento da oxidação desses íons. Com isso foi realizado o ensaio descrito por Vogel (1981), que consiste em um método colorimétrico para determinação da concentração de íons ferrosos a partir da medida de absorvância do complexo Fe²⁺ - 1,10 fenantrolina, de cor alaranjada.

Foram utilizadas as soluções descritas nas Tabelas 3 e 4 abaixo.

Tabela 3 – Composição da solução de 1,10-fenantrolina.

Componentes	Quantidade
1,10-fenantrolina	2,0 g
Água destilada	1000 mL

Fonte: Autor

Tabela 4 – Composição da solução-padrão de íons ferrosos.

Componentes	Quantidade
$\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,07 g
H_2SO_4 concentrado	2,50 mL
Água destilada	q.s.p. 1000 mL

Fonte: Autor

Para a obtenção da curva de calibração foram preparadas soluções padrão de concentrações crescentes variando entre 0 e 20 mg L⁻¹ de íons ferrosos. A estas soluções foram adicionados 10,0 mL de tampão acetato de amônio, 20,0 mL da solução de 1,10-fenantrolina (2,0 g L⁻¹), 1,0 mL de ácido clorídrico concentrado. O volume de todas as soluções foi completado para 50 mL em balões de diluição com água destilada.

Como o objetivo era monitorar o crescimento bacteriano foi utilizada uma alíquota de 1,0 mL da amostra diluída e adicionados 2,0 mL de solução de 1,10-fenantrolina, 1,0 mL de tampão acetato de amônio, 100 µL de ácido clorídrico concentrado e água destilada suficiente para se completar um volume total de 5,0 mL. As leituras das absorvâncias foram efetuadas em espectrofotômetro 600S Femto utilizando o comprimento de onda de 510 nm.

4.7.3 Determinação de ferro total e cobre total

A concentração de cobre e ferro total solúveis nas amostras foi determinada por Espectroscopia de Absorção Atômica utilizando o equipamento Agilent Technologies modelo 200 series AA. É válido destacar que as amostras foram estocadas em torno de 5 °C em ácido nítrico 2 % numa

proporção de 1:1 e, anteriormente às análises, as amostras foram diluídas adequadamente em ácido nítrico 2 %.

4.8 Análises na fase sólida

4.8.1 Difração de Raios-X (DRX)

Foram realizadas análises de difratometria de raios X na amostra original de calcopirita e também nos resíduos sólidos de cada tratamento. Antes de serem submetidos às análises, os resíduos foram lavados exaustivamente com água ácida (pH 1,8), filtrados e secos em estufa a 60 °C.

O equipamento utilizado para a obtenção dos difratogramas e o software utilizado para análise dos mesmos foi um difratômetro de raios-X SIEMENS modelo D5000 e o Crystallographica Search-Match (versão 2.1.1.1), respectivamente. Os seguintes parâmetros foram considerados para aumentar a resolução da análise: corrente de 30 mA e diferença de potencial (DDP) de 40 kV (valores operacionais do equipamento), linha de base inferior 0,520 V, linha de base superior 1,620 V, tempo de contagem 2 s, passo 0,05 ° e ângulo de varredura de 10 a 70 ° (2θ).

4.8.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (FEG/MEV)

A amostra original de calcopirita e os resíduos do processo de biolixiviação foram também submetidos à análise por microscopia eletrônica de varredura. As amostras foram analisadas por Espectroscopia de Energia de Dispersão de Raios X (EDXS) acoplado ao Microscópio Eletrônico de Varredura de alta resolução (FEG/MEV), modelo JSM – 7500F, com EDXS Scientific – Noran System.

As análises por EDXS foi realizada para verificar a eventual presença de outros elementos em concentrações reduzidas que não foram detectados por DRX assim como confirmar os elementos detectados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente a amostra recebida foi submetida à análise de difratometria de raios X, onde foi possível observar sua pureza devido ao alto grau de compatibilidade com o difratograma de calcopirita (CuFeS_2), ficha nº 35-752 (Figura 10). Com isso foi realizada a digestão ácida do minério no intuito de quebrar sua matriz cristalina e liberar os metais para determinação, principalmente, do teor de cobre e ferro. Face ao exposto foram obtidos 30,86 % (m/m) de cobre e 24,04 % (m/m) de ferro.

5.1 Ensaio de oxidação de íons ferrosos

O ensaio de oxidação de íons ferrosos foi realizado para determinar o comportamento cinético de crescimento da bactéria em um sistema com condições totalmente favoráveis ao seu desenvolvimento a título de comparação com os ensaios de biolixiviação subsequentes.

Nas Figuras 11 a 13 estão apresentados os valores de pH, de potencial de óxido-redução (potencial redox) e o perfil de oxidação dos íons ferrosos, respectivamente.

Como pode ser observado pela Figura 11, nas primeiras 10 horas de ensaio o pH de todas as amostras sofreu uma ligeira queda, não ultrapassando o valor de 1,7. Contudo, após as 10 primeiras horas, os valores de pH aumentaram exponencialmente devido a oxidação bacteriana, chegando a atingir 2,3 como observado na amostra biótica de 300 mmol L^{-1} de íons ferrosos.

Este aumento representa o consumo dos íons ferrosos e a formação dos íons férricos (Eq. 12) os quais, em valores de pH superiores a 2,0, precipitam, na forma de jarositas (Eq. 9), cuja reação produz ácido novamente. Este fato pode ser confirmado observando a diminuição dos valores de pH de todas as amostras ao final da cinética de oxidação, aproximadamente em 50 horas.

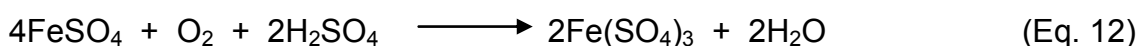
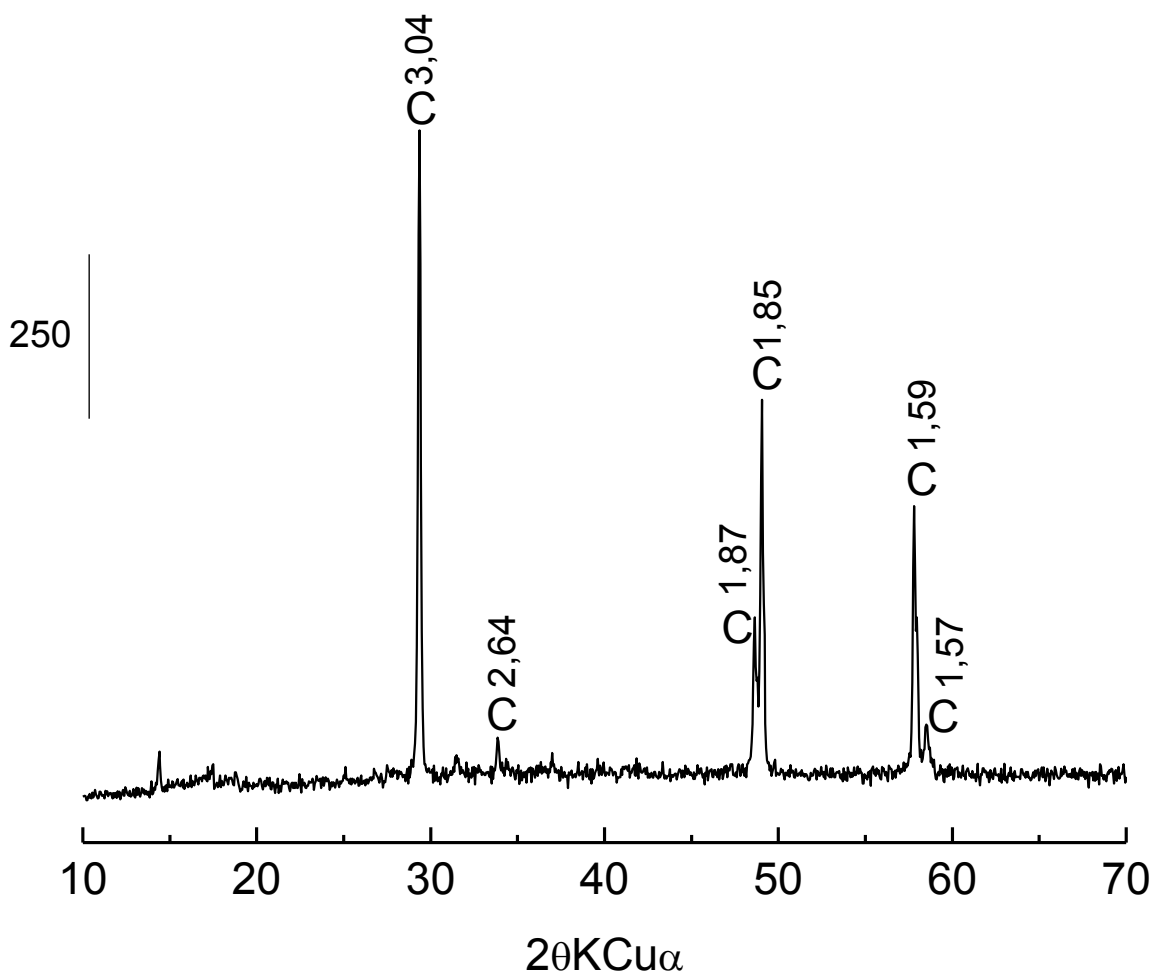
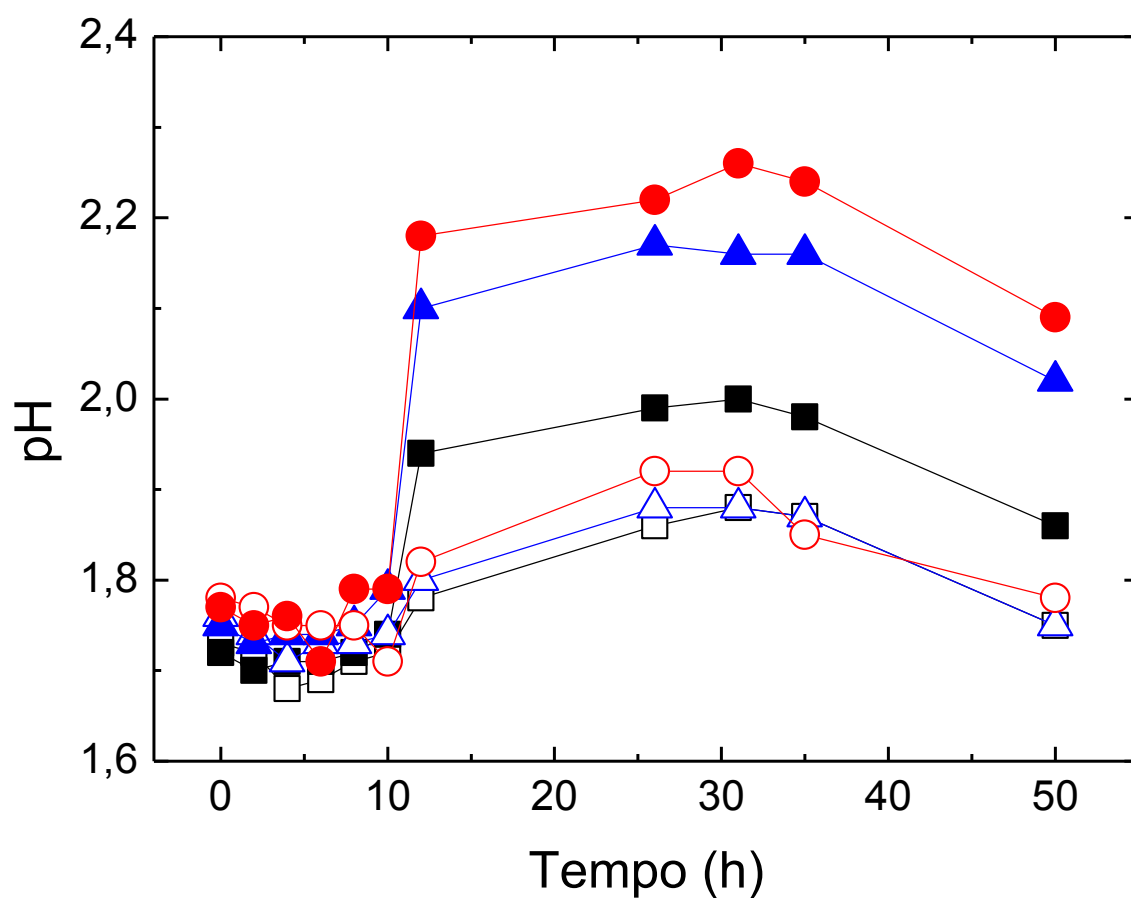


Figura 10 – Difratoograma de raios X da amostra de calcopirita original, utilizada nos experimentos de biolixiviação na presença e ausência de íons ferrosos. Símbolos: C, calcopirita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina.



Fonte: Autor

Figura 11 – Variação do pH no experimento de oxidação de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●).



Fonte: Autor

A cerca das medidas de potencial de óxido-redução (Figura 12) foi claramente observado que, os frascos inoculados, após cerca de 24 horas, alcançaram valores ao redor de 600 mV em todas as concentrações de íons ferrosos. A amostra na concentração de 100 mmol L⁻¹ foi a que atingiu altos valores de potencial mais rapidamente, seguida da amostra de 200 mmol L⁻¹ e, por fim a de 300 mmol L⁻¹, evidenciando diferenças quanto à cinética de oxidação dos íons ferrosos dependente da concentração de íons ferrosos.

Um fato interessante para ressaltar é que o potencial redox é independente da concentração de íons ferrosos em solução, como observado nos dados obtidos. Na verdade, o potencial depende da atividade iônica desses íons e da relação do par Fe³⁺/Fe²⁺ que, neste caso, se mostrou alta, por isso que em todas as concentrações estudadas é atingida uma mesma faixa de potencial redox.

As amostras abióticas mantiveram seu potencial em torno de 320 mV, garantindo que não houve ação bacteriana, pois esta é considerada um catalisador da reação de oxidação de Fe²⁺ a Fe³⁺, portanto, esta relação se deve somente aos fatores químicos que regem o sistema.

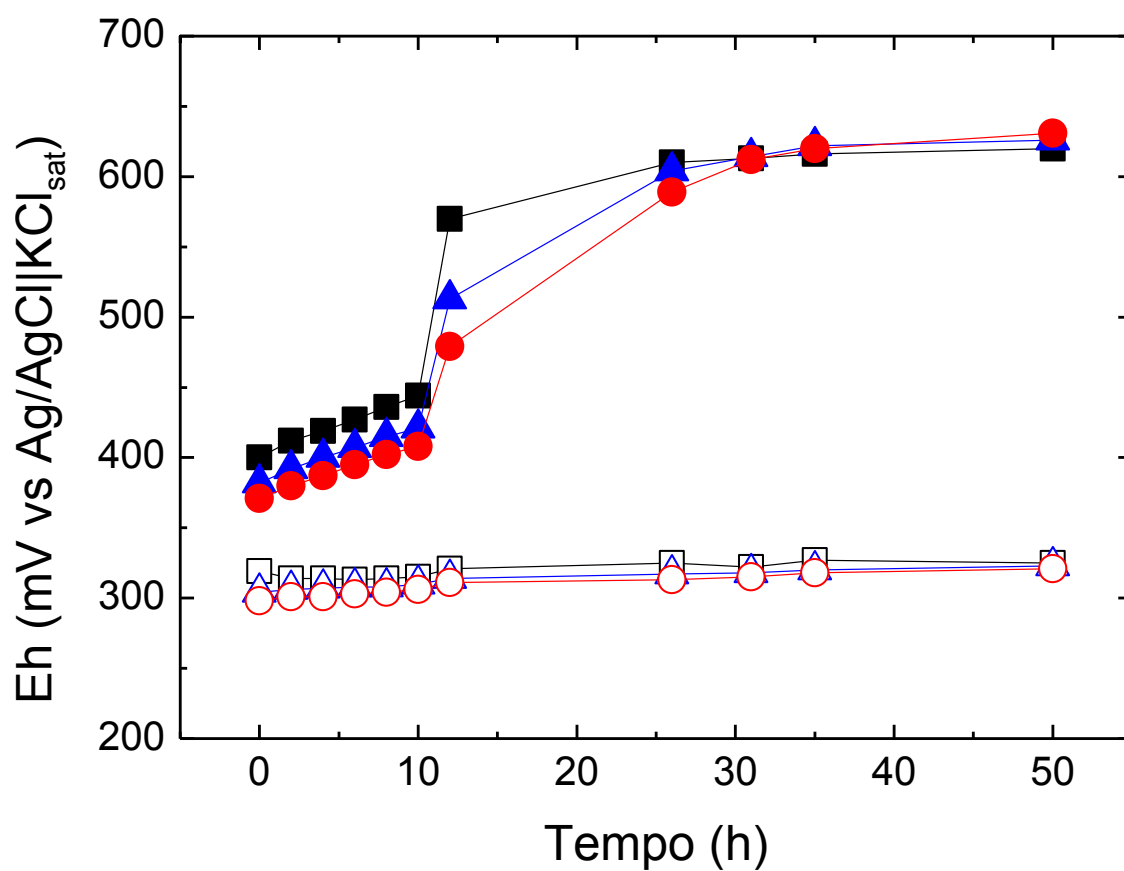
Finalmente, a Figura 13 descreve o perfil de oxidação em relação ao consumo de íons ferrosos representado pela porcentagem da concentração do mesmo.

Como observado, no início havia 100% de fonte de íons ferrosos que, com o tempo, foi se esgotando nas amostras que continham bactéria, onde consumiram todo Fe²⁺ gerando Fe³⁺, evidenciando a ação bacteriana.

Dentro do esperado, os controles abióticos mantiveram sua concentração total de Fe²⁺, porém, nas concentrações de 200 e 300 mmol L⁻¹ houve um aumento desta porcentagem por motivos ainda não bem entendidos.

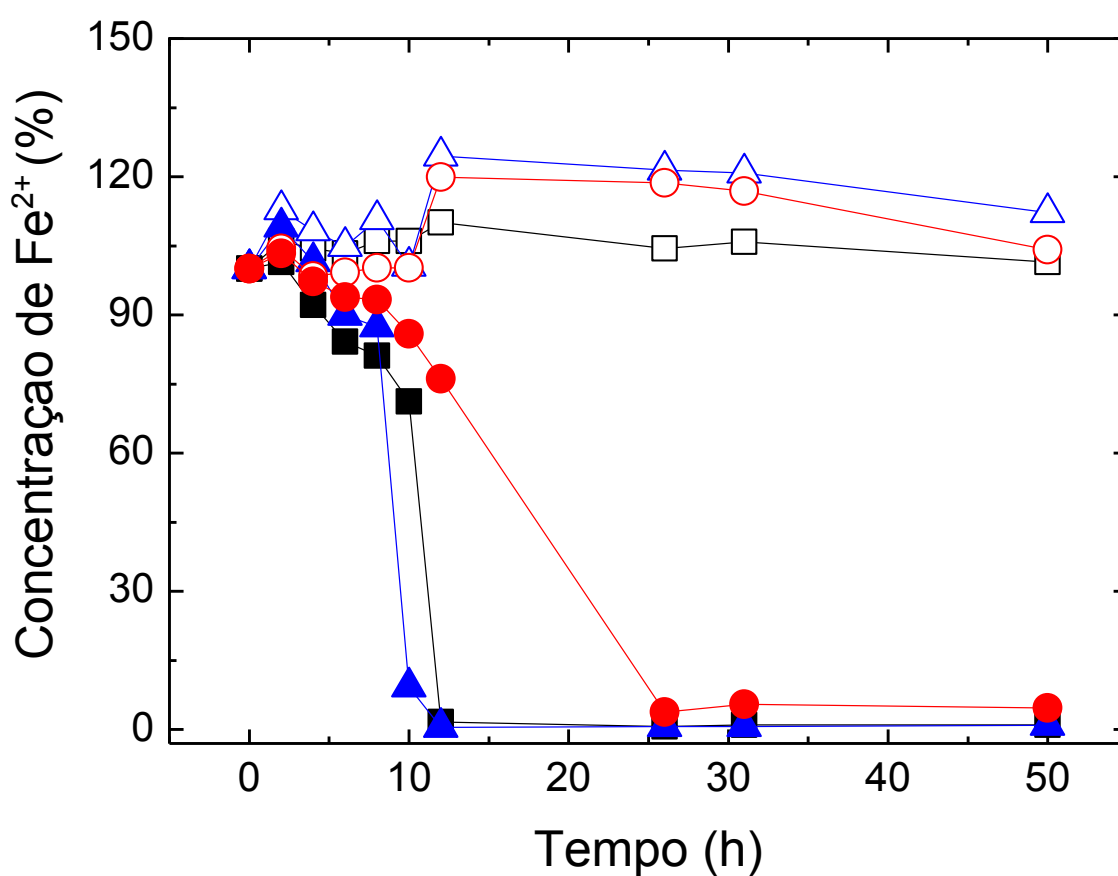
Em linhas gerais, a bactéria *A. ferrooxidans* apresenta a capacidade de oxidar íons ferrosos de maneira bem rápida e eficiente. Como observado, em todas as concentrações de íons ferrosos foram necessárias aproximadamente 25 horas para o total consumo da fonte de energia.

Figura 12 – Variação do potencial redox (Eh) no experimento de oxidação de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●).



Fonte: Autor

Figura 13 – Variação da concentração de Fe^{2+} no experimento de oxidação de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●).



Fonte: Autor

Levando-se em consideração o mecanismo indireto de biolixiviação, aquele no qual ocorre a conversão por oxidação microbiana do íon ferroso para o íon férrico, seguido de uma oxidação química do sulfeto mineral pelo íon férrico, foi realizado este mesmo ensaio de oxidação, porém com a adição do sulfeto mineral de calcopirita a fim de analisar o comportamento da bactéria, a ação dos íons ferrosos nos sistemas abióticos e a porcentagem de recuperação de cobre em ambos os sistemas.

5.2 Ensaio de biolixiviação da calcopirita

Em relação aos ensaios em frascos agitados na presença de calcopirita, estes também foram conduzidos com medidas periódicas de pH, potencial redox e porcentagem de oxidação de íons ferrosos, além da determinação de cobre e ferro total em solução, como apresentado nas Figuras 14 a 18.

Analisando as figuras apresentadas foi possível observar que, em relação ao pH (Figura 14), nos primeiros dias todas as amostras apresentaram pequenas alterações nos valores de pH e, portanto, necessitaram da correção ácida para pH em torno de 2,0 com ácido sulfúrico 50 %. Após o 9° dia de ensaio não foram mais necessárias correções ácidas nos frascos inoculados. Os frascos abióticos foram corrigidos novamente no 13° dia, não sendo necessárias adições posteriores.

O pH é afetado por diversos fatores na biolixiviação. Um deles é que a dissolução do mineral pode ser tanto produtora como consumidora de ácido, e, no caso da calcopirita, a oxidação bacteriana de íons ferrosos consome ácido aumentando o pH e, em valores de pH entre 2 e 3 os íons férricos precipitam produzindo ácido (Eq. 9). Portanto, a elevação do pH pode indicar o consumo de ácido pela amostra (Eq. 1), e sua diminuição (Eq. 3) pela geração do mesmo através das reações bacterianas de oxidação do sulfeto (BEVILAQUA, 1999). Uma variação brusca de pH pode levar a uma diminuição da atividade de oxidação da bactéria e, conseqüentemente, uma diminuição da solubilização do metal de interesse.

Para tanto foram realizados ajustes dos valores de pH (setas pretas) de forma a minimizar a precipitação de ferro na forma de jarositas, o que pode

interferir na solubilização do metal de interesse por se depositar na superfície do minério, e também manter condições ótimas para o crescimento e atividade bacteriana.

Além do pH, medidas periódicas da fonte de energia foram realizadas e estão apresentadas na Figura 15. Foi observada a oxidação dos íons ferrosos nos frascos inoculados, enquanto que nos frascos abióticos estes permaneceram em solução durante todo o tempo de ensaio. A condição de 100 mmol L^{-1} foi a que apresentou maior taxa de consumo de íons ferrosos (5-6 dias), as demais seguiram um mesmo perfil de oxidação, onde todo o íon ferroso foi consumido em torno de 7-8 dias.

Este perfil de oxidação dos íons ferrosos na presença de calcopirita se difere do perfil anteriormente citado, aquele sem a presença de sulfeto. Esta diferença se dá no tempo de oxidação, onde toda a fonte de energia está esgotada após, aproximadamente, 25 horas em todas as condições no ensaio sem o sulfeto, porém este esgotamento da fonte de energia é atingido somente após 7 dias no ensaio com a presença do mesmo.

Contudo, esta diferença ainda não é bem entendida devido ao fato de em ambas as situações o meio conter ferro solúvel, fonte de energia prontamente utilizável pela bactéria, não havendo a necessidade desta ter que se adaptar ao uso do ferro presente no sulfeto, fato que justificaria a diferença entre as cinéticas.

Gómez et al. (1996) notaram que concentrações de Fe^{2+} podem acarretar efeitos prejudiciais aos sistemas de biolixiviação. Ensaio inoculados com adição suplementar de Fe^{2+} em um meio contendo amostra massiva de calcopirita foram realizados e observaram uma diminuição expressiva do crescimento bacteriano após a total oxidação dos íons ferrosos a íons férricos, atingindo potenciais ao redor de 550 mV ($\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$).

Estudos anteriores (Relatório Técnico VALE 2010, comunicação pessoal) em que a oxidação dos íons ferrosos foi avaliada na presença de diferentes sulfetos minerais revelaram diferenças significativas entre eles. Neste estudo foram utilizados diferentes sulfetos minerais como, calcocita (Cu_2S), covelita (CuS), bornita (Cu_5FeS_4) e pirita (FeS_2) na presença de íons ferrosos em concentrações de 100, 200 e 300 mmol L^{-1} . O crescimento da *A.*

ferrooxidans foi consideravelmente inibido na presença de calcocita chegando a oxidar somente 2 % da fonte de energia nas diferentes concentrações. Nos minerais covelita e bornita foram atingidos 100% de oxidação em todas as concentrações de íons ferrosos, porém com um aumento da fase lag. No caso da pirita, um sulfeto mineral de ferro, em todas as condições também foram atingidos os 100 % de oxidação e, além disso, a adição de 100 mmol L⁻¹ apresentou cinética comparável à situação sem presença de pirita.

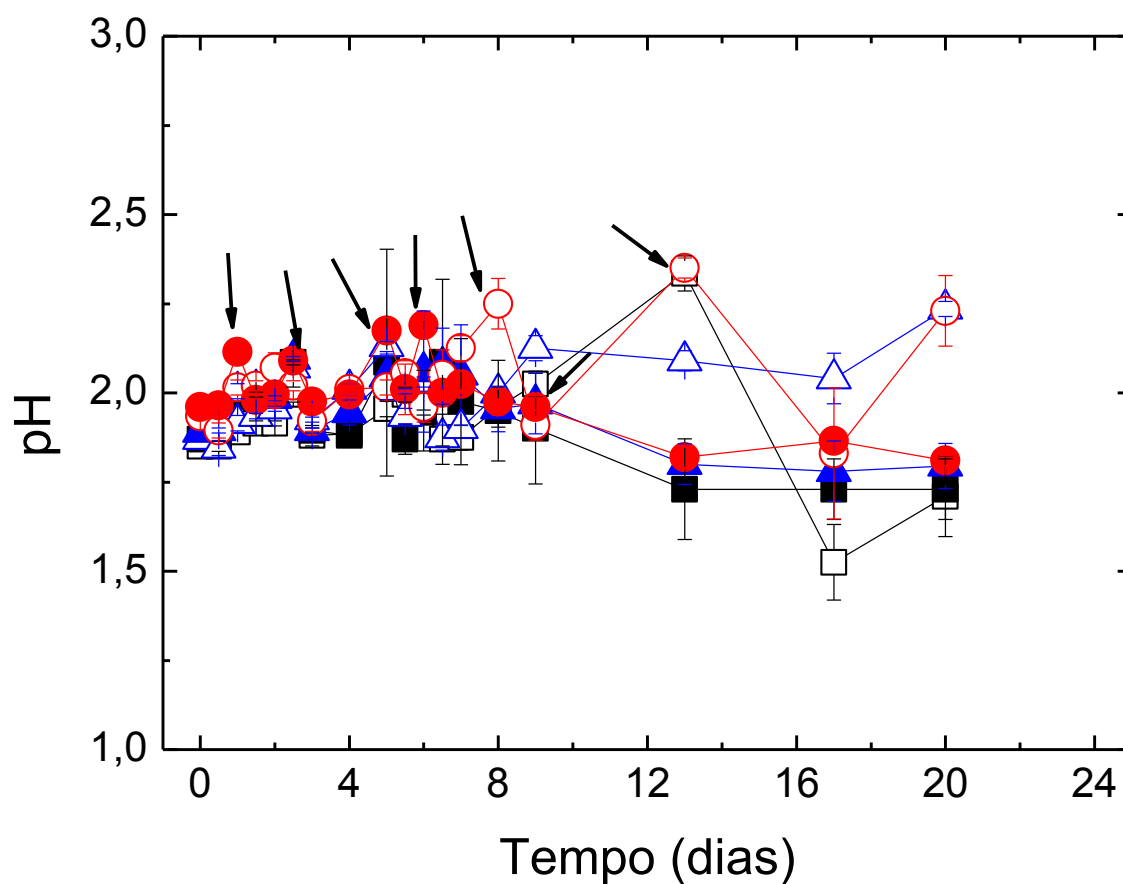
A partir dos resultados do relatório VALE 2010 e levando em consideração os resultados obtidos nos experimentos do presente trabalho utilizando a calcopirita é possível inferir que a concentração de ferro não é inibitória para a bactéria, ou seja, ela é capaz de oxidar todo o ferro solúvel presente no meio, porém esta afirmação não é válida quando na presença de íons cobre, pois, em alguns casos, a cinética de oxidação se torna mais demorada ou não há a total oxidação do ferro solúvel como no caso da calcocita.

Esta facilidade de oxidar a pirita (único sulfeto testado sem cobre na estrutura) e a dificuldade de oxidar os outros sulfetos, que contém cobre, leva ao questionamento da interferência do cobre na ação bacteriana. É sabido que alguns íons monovalentes são inibidores de micro-organismos e, no caso da oxidação dos íons ferrosos na presença de calcopirita, é possível a formação de Cu⁺ durante a biolixiviação, ainda que estes íons não sejam estáveis nestas condições.

Em sequência estão apresentados na Figura 16 os dados obtidos em relação ao potencial redox. Em condições abióticas, o potencial se manteve constante durante todo o tempo de ensaio, ao redor de 360 mV, contudo uma pequena elevação nos três primeiros dias foi observada e pode ser explicada pela oxidação química dos íons ferrosos presentes em solução.

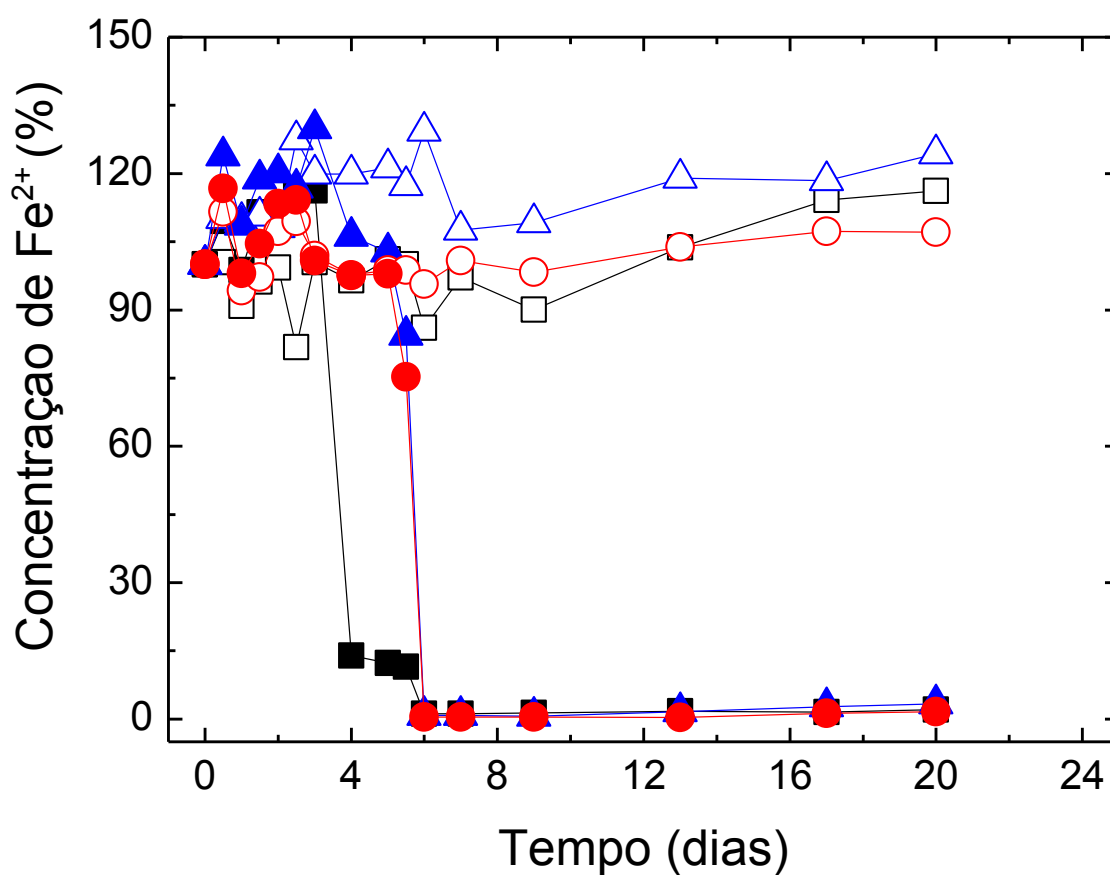
Nos frascos inoculados houve um aumento significativo do potencial a partir do sétimo dia de ensaio em todas as concentrações de íons ferrosos. Isto se deve à oxidação continuada desses íons pela bactéria que mantém alta a relação do par Fe³⁺/Fe²⁺. Altos valores de potencial são considerados uma afirmação da atividade bacteriana, uma vez que a cinética bacteriana é cerca de 500.000 vezes maior que a cinética química.

Figura 14 – Variação do pH no experimento de biolixiviação na presença de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). As setas pretas indicam o momentos dos ajustes de pH.



Fonte: Autor

Figura 15 – Variação da concentração de Fe^{2+} no experimento de biolixiviação na presença de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●).



Fonte: Autor

Analisando a Figura 16 é possível afirmar que a concentração de íons ferrosos não inibiu a atividade microbiana, já que o potencial de todas as soluções alcançou valores próximos a 610 mV, e como os valores de potencial de óxido-redução estão relacionados a sua atividade iônica e a relação do par redox, portanto, mesmo se houver a precipitação de ferro na forma de jarositas o potencial se mantém o mesmo.

Alguns autores (THIRD et al., 2002; HIROYOSHI et al., 2001) observaram que soluções com alto potencial redox afetaram a recuperação de cobre e, além disso, Gericke et al. (2010) afirmaram que existe uma faixa de potencial ótima para sua melhor solubilização, sendo esta em torno de 420 mV a uma temperatura de 45 °C. Os dados obtidos neste ensaio corroboram estas afirmações.

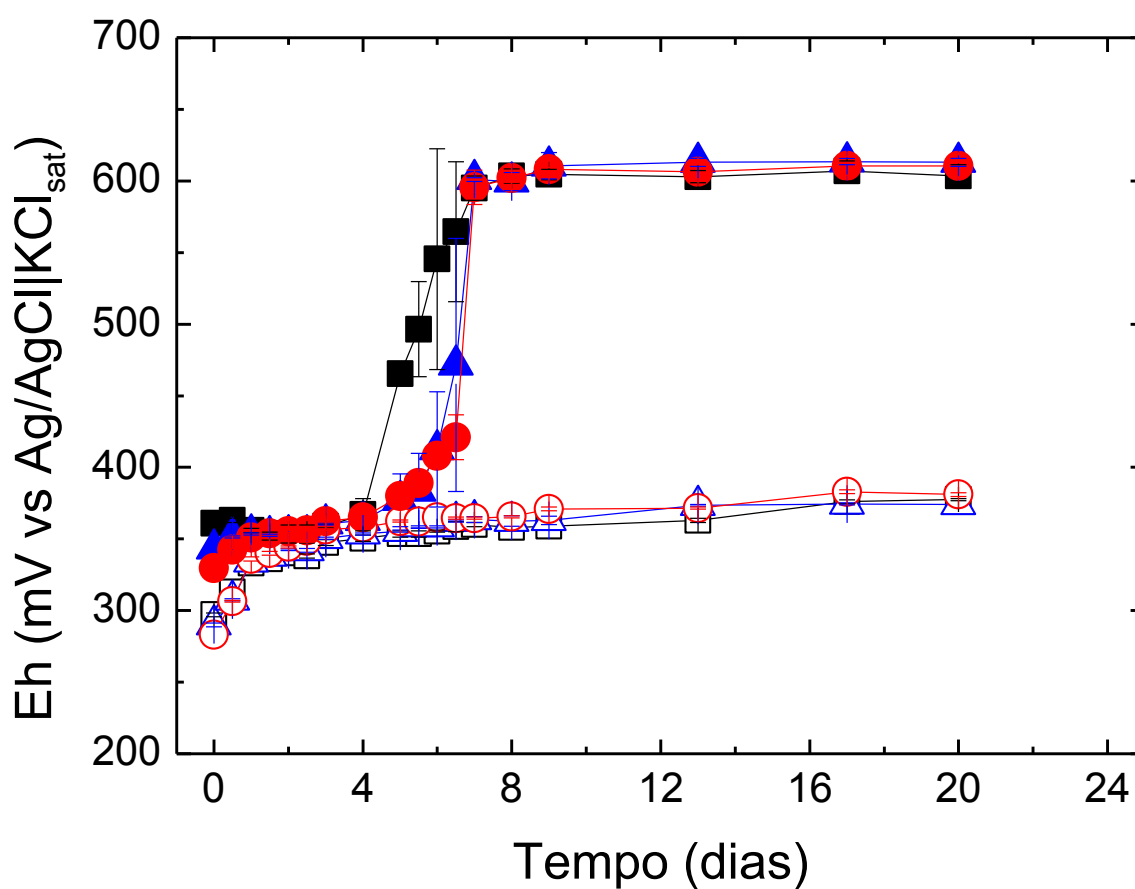
Na Figura 17 verifica-se que a concentração de cobre solúvel nas amostras que continham bactéria foi consideravelmente baixa quando comparada com os controles abióticos. Tais valores representam para 100, 200 e 300 mmol L⁻¹, uma concentração de aproximadamente 12 mmol L⁻¹ de cobre solúvel. Apesar das diferenças de concentração de ferro em cada uma das condições, o total de cobre solubilizado foi praticamente o mesmo em todas elas.

É possível analisar por esta mesma figura o ponto de inflexão onde a concentração de cobre nas amostras bióticas deixa de aumentar e atinge um *plateau*, sendo este ponto próximo ao sétimo dia, justamente quando o potencial redox atinge valores mais altos.

Interessante notar que nas condições abióticas a concentração de íons ferrosos determinou diferença significativa entre os frascos de 100, 200 e 300 mmol L⁻¹, atingindo-se 17, 27 e 35% respectivamente de solubilização de cobre. Os frascos inoculados, em qualquer uma das condições analisadas solubilizaram cerca de 10% do teor de cobre presente no sistema.

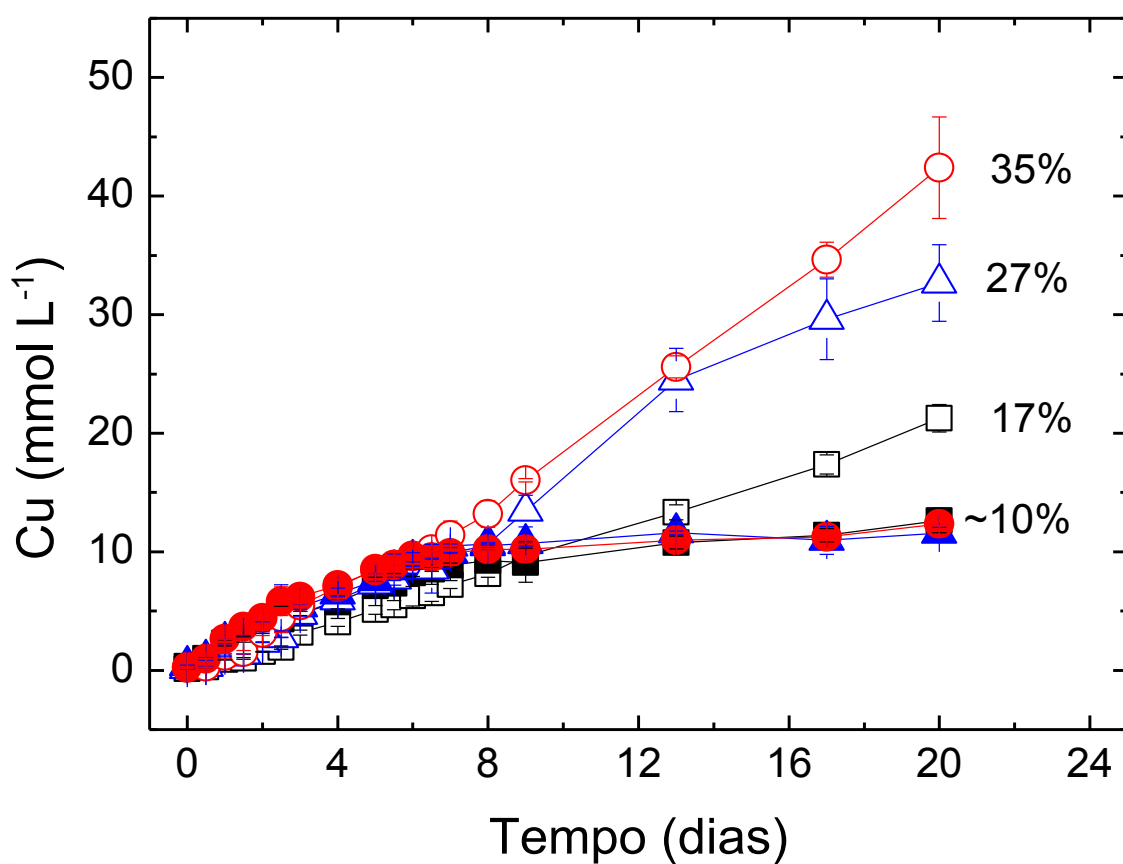
Com as informações destacadas até agora pode-se confirmar as premissas dos demais autores que, em altos valores de potencial, a solubilização de cobre é estritamente limitada. Já em relação aos controles abióticos foi possível observar que há uma solubilização progressiva em todas as concentrações, sendo mais expressiva em 300 mmol L⁻¹.

Figura 16 – Variação do potencial redox (Eh) no experimento de biolixiviação na presença de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●).



Fonte: Autor

Figura 17 – Variação da concentração de cobre solúvel no experimento de biolixiviação na presença de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●).



Fonte: Autor

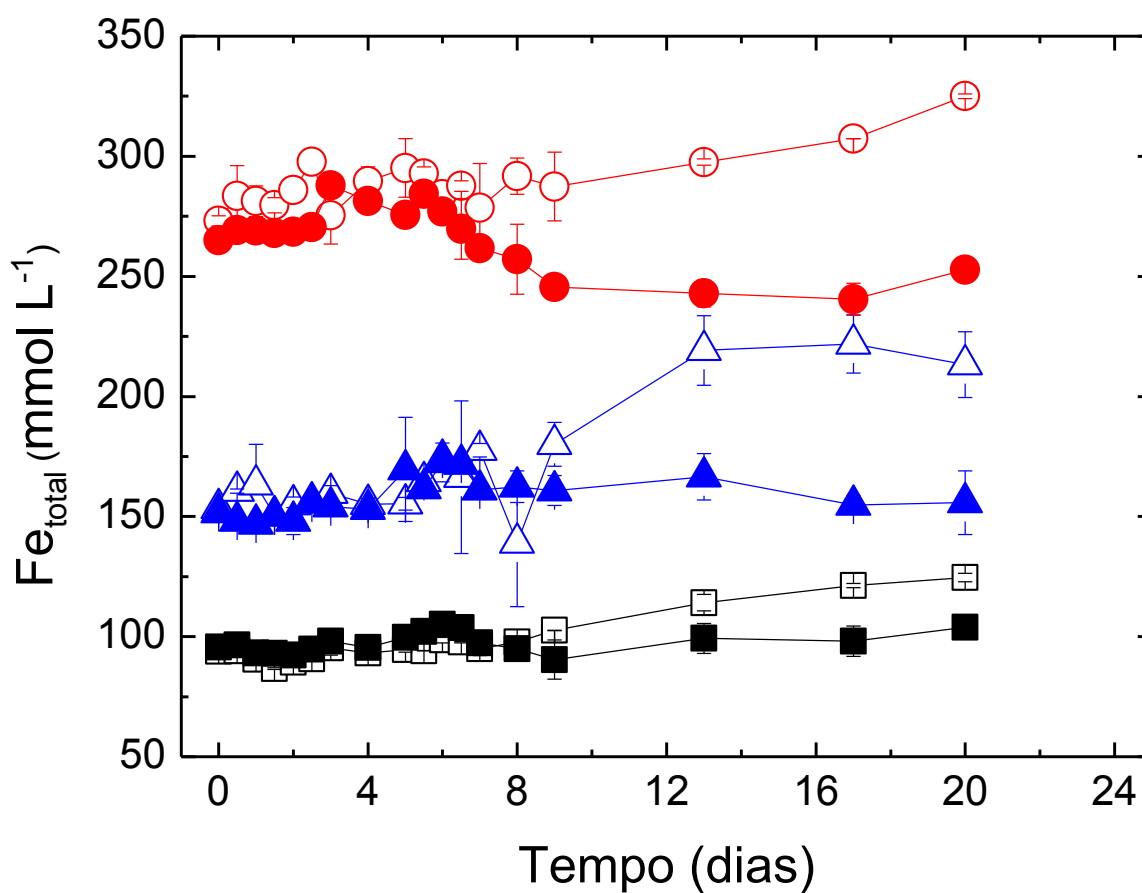
Em relação à concentração de ferro total (Figura 18), nas concentrações de 100 e 200 mmol L⁻¹ os frascos inoculados não apresentaram variações significativas durante o tempo de ensaio, enquanto que os frascos abióticos apresentaram elevação a partir do 9º dia de ensaio. Na concentração de 300 mmol L⁻¹ a concentração de ferro total diminuiu no frasco inoculado a partir da primeira semana e o frasco abiótico apresentou elevação gradativa até o final do ensaio

Esta diferença na quantidade de ferro total solúvel pode ser atribuída, principalmente, pela ação catalisadora da bactéria que ao converter o Fe²⁺ a Fe³⁺, consome ácido, aumenta o pH da solução e favorece a formação de precipitados de ferro que, portanto, não são contabilizados como ferro total solúvel.

Finalizado o experimento, os resíduos finais de cada sistema foram analisados quanto à formação de novas fases cristalinas e comparados com a amostra inicial. Os difratogramas dos sistemas abiótico e inoculado estão apresentados nas Figuras 19 e 20, respectivamente.

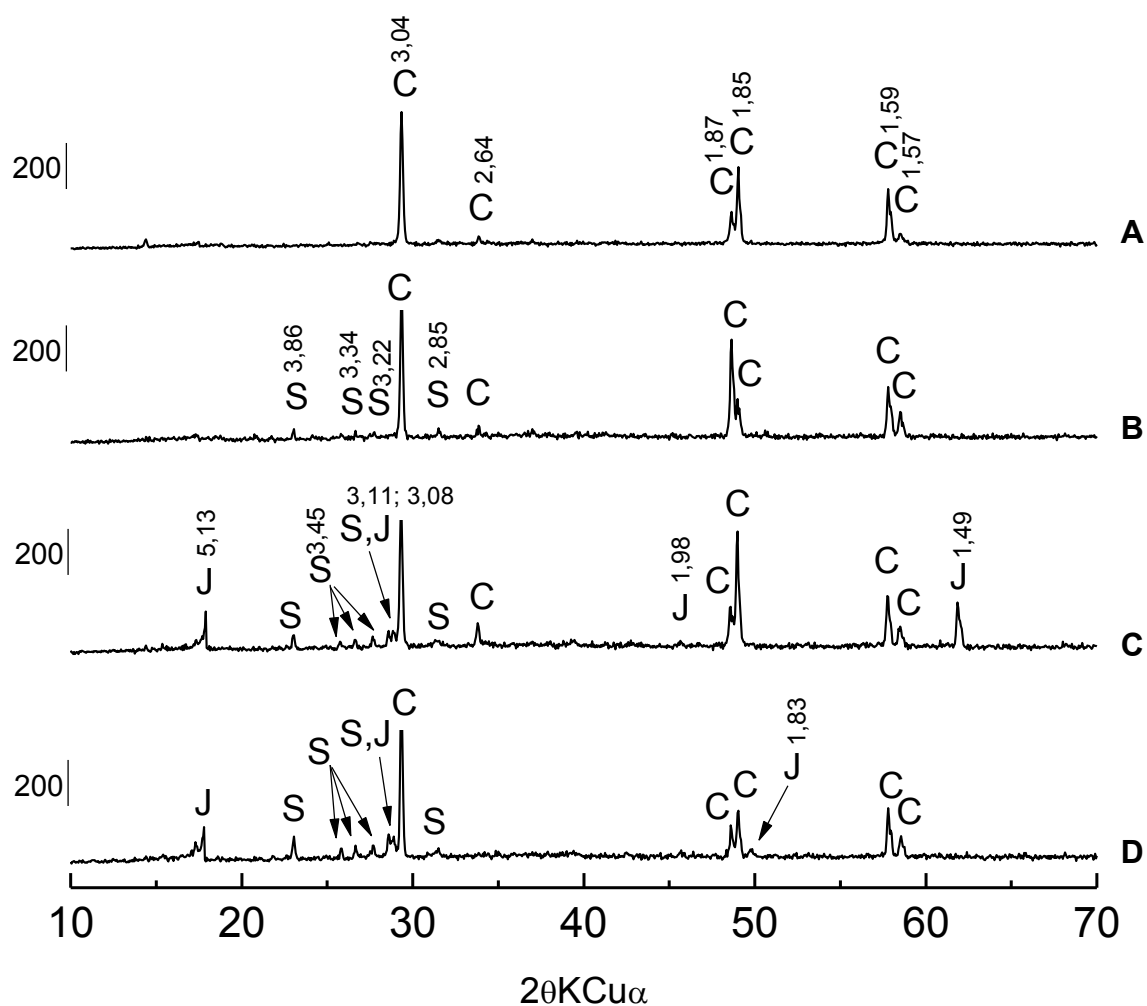
Observando-se os difratogramas de raios X no sistema abiótico (Figura 19) é possível afirmar que houve a formação de novas fases cristalinas, sejam elas, jarosita e enxofre. Como descrito anteriormente, existem tipos diferentes de jarositas (K, Na, H₃O, NH₄-jarosita), contudo elas se assemelham em relação às análises de DRX o que dificulta saber se só existe um tipo de jarosita no resíduo sólido ou se os picos no difratograma estão sobrepostos. Por isso foi utilizada a nomenclatura “jarosita” que representa a fase formada de maneira geral.

Figura 18 – Variação da concentração de ferro total no experimento de biolixiviação na presença de íons ferrosos utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●).



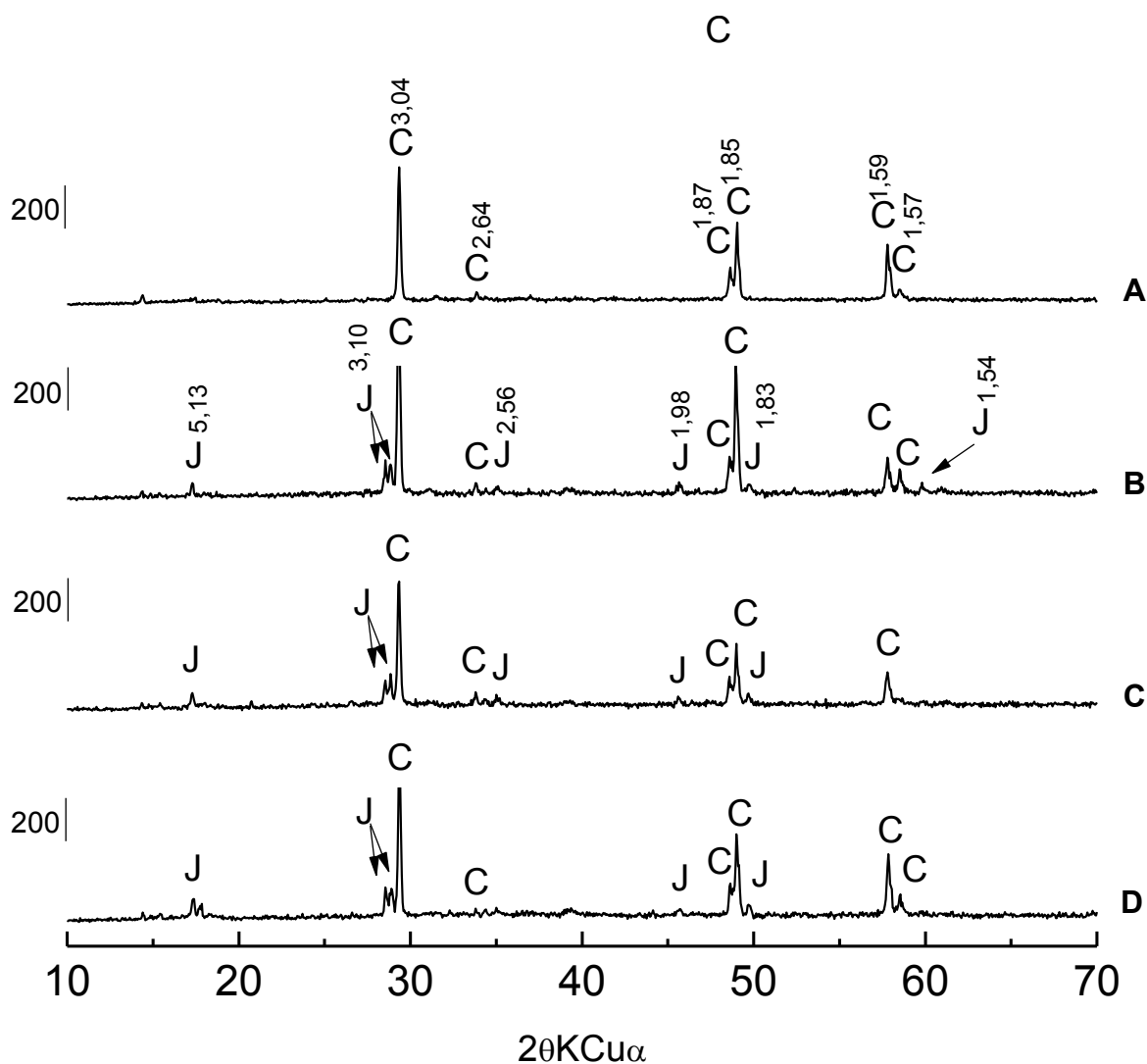
Fonte: Autor

Figura 19 – Difrátogramas de raios X da amostra original de calcopirita (A) e dos resíduos abióticos finais do ensaio de biolixiviação na presença de íons ferrosos em diferentes concentrações: 100 (B), 200 (C) e 300 mmol L⁻¹ (D). Símbolos: C, calcopirita; S, enxofre e J, jarosita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina.



Fonte: Autor

Figura 20 – Difratoogramas de raios X da amostra original de calcopirita (A) e dos resíduos finais do ensaio de biolixiviação na presença de *A. ferrooxidans* e de íons ferrosos em diferentes concentrações: 100 (B), 200 (C) e 300 mmol L⁻¹ (D). Símbolos: C, calcopirita e J, jarosita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina.



Fonte: Autor

Formou-se também no sistema abiótico o enxofre elementar, o qual pode ser observado no próprio frasco devido sua coloração e aspecto característicos. A formação do enxofre se baseia na Eq. 2 e este permanece em estado coloidal no sistema, uma vez que a bactéria que é capaz de converter este enxofre a sulfato (Eq. 4) não está presente nesta condição.

Em relação aos difratogramas do sistema inoculado (Figura 20) foi detectada apenas a formação de jarositas como nova fase cristalina. Tanto no sistema abiótico quanto no inoculado os picos referentes à calcopirita permaneceram em todos os resíduos.

É válido elucidar que existem hipóteses argumentando que a formação do enxofre elementar e dos precipitados de ferro prejudica a recuperação do metal de interesse por estes recobrirem a superfície do sulfeto e impedirem os ataques químicos e biológicos (CÓRDOBA et al., 2009). Contudo foi possível observar pela Figura 17 que nos sistemas abióticos a recuperação de cobre foi maior do que nos frascos inoculados apesar da formação de enxofre e jarosita.

Klauber et al. (2001) e Klauber (2008) relataram as espécies predominantemente formadas na superfície da calcopirita em condição de lixiviação com adição de Fe^{3+} em solução ácida, sendo elas, S^0 e S^{2-}_2 , contudo sem traços de S_n . Os autores identificaram o principal componente na camada bloqueadora formada na superfície do minério como sendo enxofre elementar. Contudo, outros estudos relataram que a presença de uma camada de S^0 porosa pode não impedir a taxa de lixiviação em uma extensão significativa (HAVLÍK et al., 1995; PARKER et al., 1981), como foi observado no sistema acima discutido.

Chegou-se, portanto, à conclusão que se fazia necessário repetir o experimento com maior durabilidade para analisar até que ponto ocorreria a recuperação de cobre pelos frascos abióticos e, em adição, avaliar os resíduos sólidos, por meio dos difratogramas e análises microscópicas, em busca da formação de novas fases que poderiam explicar a baixa recuperação de cobre nos frascos inoculados.

Um novo ensaio foi realizado considerando todas as etapas e condições seguidas anteriormente para garantir reprodutibilidade do mesmo. Os

resultados obtidos passados 100 dias de ensaio estão apresentados nas Figuras 21 a 25.

Os valores de pH apresentados na Figura 21 se mantiveram dentro da faixa ótima para a (bio)lixiviação ($1,7 < \text{pH} < 2,5$) tanto na condição abiótica quanto na inoculada. Contudo foram necessários ajustes de pH em todas as condições avaliadas neste ensaio (Figura 18), representados pelas setas pretas. Os frascos inoculados foram ajustados até o vigésimo dia e a partir deste ajuste o pH se manteve ao redor de 1,6. Não foi mais necessário ajustar o pH após o vigésimo dia devido a estabilização do sistema, não havendo mais reações capazes de alterar o seu valor. Nos frascos abióticos a correção da acidez se estendeu até o final do experimento, com exceção da condição onde não foram adicionados íons ferrosos devido à estabilização do pH em valor ao redor de 1,9.

O ajuste do valor de pH foi feito de forma a evitar a precipitação de ferro na forma de jarositas, podendo interferir na solubilização do metal de interesse por se depositar na superfície do minério, e também manter condições ótimas para o crescimento e atividade bacteriana.

Além do pH, também foram realizadas medidas do consumo da fonte de energia, apresentadas na Figura 22, onde observou-se o consumo total dos íons ferrosos nos frascos inoculados, enquanto que nos frascos abióticos mantiveram-se presentes e praticamente constantes durante todo tempo de ensaio. Entretanto, nas concentrações iniciais de 200 e 300 mmol L^{-1} houve uma redução significativa na quantidade de Fe^{2+} presente em solução após 70 dias. Esta diminuição pode ser explicada pela oxidação natural dos íons ferrosos devido ao longo período de ensaio, como também pela reação de redução da calcopirita que na presença de íons Cu^{2+} e H^+ é convertida em calcocita devido à atmosfera redutora formada pela presença dos íons ferrosos, consumindo esses íons. (Eq. 10 e 11).

Em relação aos frascos sem adição suplementar de íons ferrosos foi observada nos primeiros 7 dias de ensaio uma elevação nos valores de Fe^{2+} como resultado da redução do Fe^{3+} adicionado no momento do inóculo atingindo valores em torno de 9 mmol L^{-1} e, em seguida, um decréscimo brusco na concentração devido a oxidação deste íon, agora solúvel, pela bactéria. A

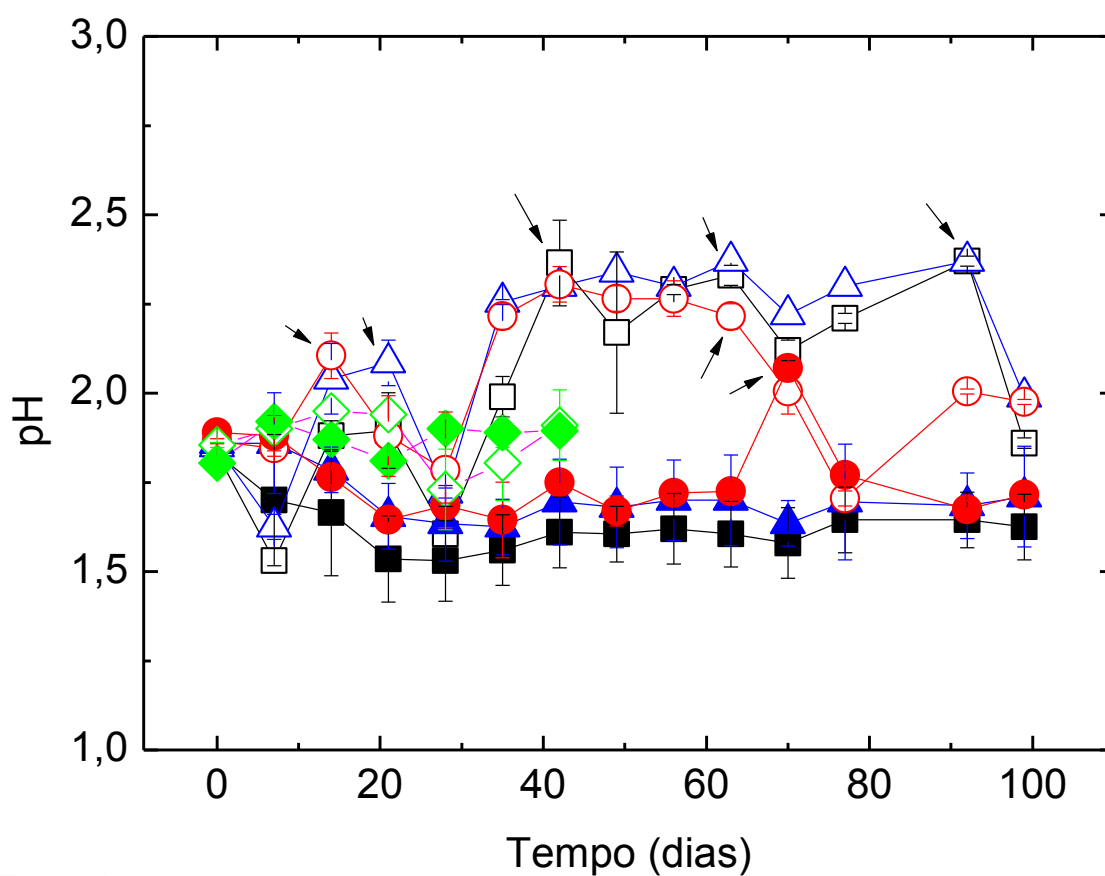
partir do décimo dia de ensaio não foi possível detectar íons ferrosos nos frascos inoculados.

Nos frascos abióticos desta mesma condição a concentração de íons ferrosos atingiu 7 mmol L^{-1} ao final do ensaio. Este fato ocorreu devido à dissolução química da calcopirita, levando a liberação dos íons ferrosos que, na ausência da bactéria, permaneceram em solução.

O perfil de oxidação dos íons ferrosos na presença de calcopirita observado neste ensaio ocorreu de forma semelhante ao já discutido no ensaio preliminar de 21 dias. Toda a fonte de energia está esgotada após 7-8 dias de ensaio contra as 25 horas do ensaio sem sulfeto, este resultado é equivalente aos resultados destacados anteriormente nestas mesmas condições experimentais.

O mesmo perfil em relação ao potencial redox foi observado neste ensaio de longa duração (Figura 23) no qual os frascos inoculados apresentaram um aumento do potencial redox a partir do sétimo dia de ensaio em todas as condições de adição suplementar de íons ferrosos. Os frascos abióticos mantiveram um intervalo de potencial entre 300 e 470 mV (vs. $\text{Ag|AgCl|KCl}_{(\text{sat})}$). Este maior valor destacado pode ser reflexo da queda da concentração de Fe^{2+} na condição inicial de 300 mmol L^{-1} , observada na Figura 22.

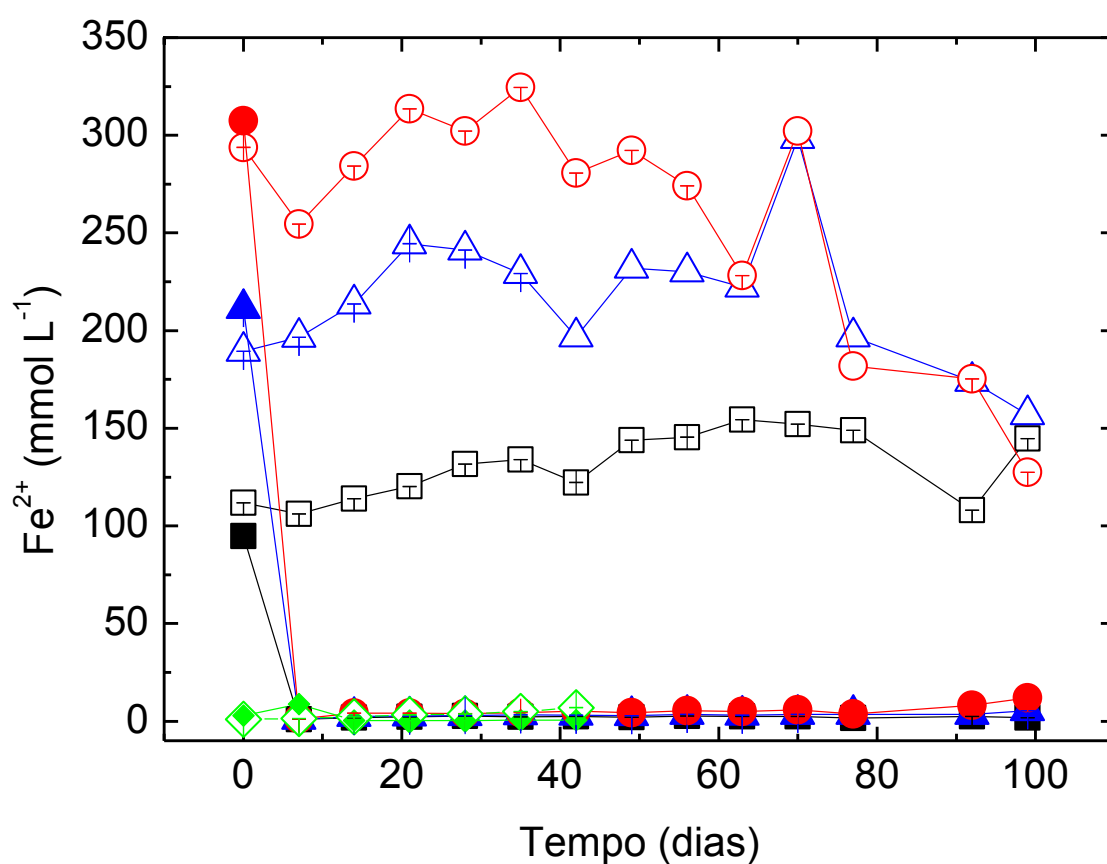
Figura 21 – Variação do pH no experimento de biolixiviação da calcopirita utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles abióticos (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 0 mmol L^{-1} (◆), 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). Experimento com durabilidade de 100 dias. Setas pretas indicam o ajuste de pH.



Fonte: Autor

Abiotico
Bacteria
Abiotico
Bacteria
Abiotico
Bacteria
Fe (A)
Fe (B)

Figura 22 – Variação da concentração de Fe^{2+} no experimento de biolixiviação da calcopirita utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles abióticos (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 0 mmol L^{-1} (◆), 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). Experimento com durabilidade de 100 dias.



Fonte: Autor

Na condição de ausência de íons ferrosos, as medidas iniciais do potencial redox dos frascos inoculados se mantiveram em torno de 460 mV, valor tal considerado alto quando comparado com os valores iniciais obtidos nos ensaios anteriores, ao redor de 360 mV. Isto pode ser explicado pelo fato do inóculo fresco conter Fe^{3+} ($\sim 6 \text{ mmol L}^{-1}$) o que interferiu diretamente no valor do potencial inicial. Nas condições inoculadas com adição de íons ferrosos (100, 200 e 300 mmol L^{-1}) esta adição inicial não foi relevante. Na primeira semana este valor de potencial diminuiu, quando começou subir progressivamente, atingindo cerca de 600 mV após 10 dias de ensaio.

Na condição de ausência de íons ferrosos, a concentração de ferro total nos tratamentos inoculados (Figura 24) aumentou progressivamente com o tempo de ensaio, atingindo ao final do experimento aproximadamente 25 mmol L^{-1} , enquanto que nos tratamentos abióticos alcançou apenas 6 mmol L^{-1} . É válido salientar que todo o ferro presente em solução é resultante da oxidação do sulfeto, pois não houve adição suplementar da fonte de energia no sistema.

Em relação à concentração de ferro total solúvel nas condições de adição de Fe^{2+} (Figura 24), os frascos inoculados apresentaram uma diminuição com o tempo de experimento. Esta diferença na quantidade de ferro total solúvel pode ser atribuída, mais uma vez, à ação catalizadora da bactéria que ao converter o Fe^{2+} a Fe^{3+} , consome ácido, aumenta o pH da solução e favorece a formação de precipitados de ferro que, portanto, não são contabilizados como ferro total solúvel.

Nos frascos abióticos, na concentração de 100 mmol L^{-1} houve uma ligeira elevação com o tempo devido à dissolução do mineral que libera ferro para a solução. Nas concentrações de 200 e 300 mmol L^{-1} foi observada uma variação com o tempo de ensaio, porém a concentração final de ferro total não foi considerada discrepante do valor inicial, pois ocorre simultaneamente a liberação de ferro da calcopirita e a formação dos precipitados de ferro.

A correção de pH nos frascos abióticos teve que ser realizada até o final do experimento, sendo este um ajuste semanal, variações de pH neste intervalo de tempo justificam esta flutuação nos valores de ferro total.

Na Figura 25 o mesmo comportamento em relação à concentração de cobre solúvel foi observado. Nas amostras que continham bactéria, esta recuperação foi bastante baixa quando comparada aos controles abióticos. Tais valores representam para 100, 200 e 300 mmol L⁻¹ de íons ferrosos, uma concentração de aproximadamente 21 mmol L⁻¹ de cobre solúvel, depois de decorridos os 100 dias de ensaio. Apesar das diferenças de concentração de ferro em cada uma das condições, o total de cobre solubilizado foi praticamente o mesmo em todas elas.

Contudo, nas condições abióticas, a concentração de íons ferrosos determinou diferença significativa entre os frascos de 100, 200 e 300 mmol L⁻¹, atingindo 73, 90 e 78 %, respectivamente, de solubilização de cobre. Os frascos inoculados, todavia, em qualquer uma das condições analisadas solubilizaram cerca de 17 % do teor de cobre presente no sistema.

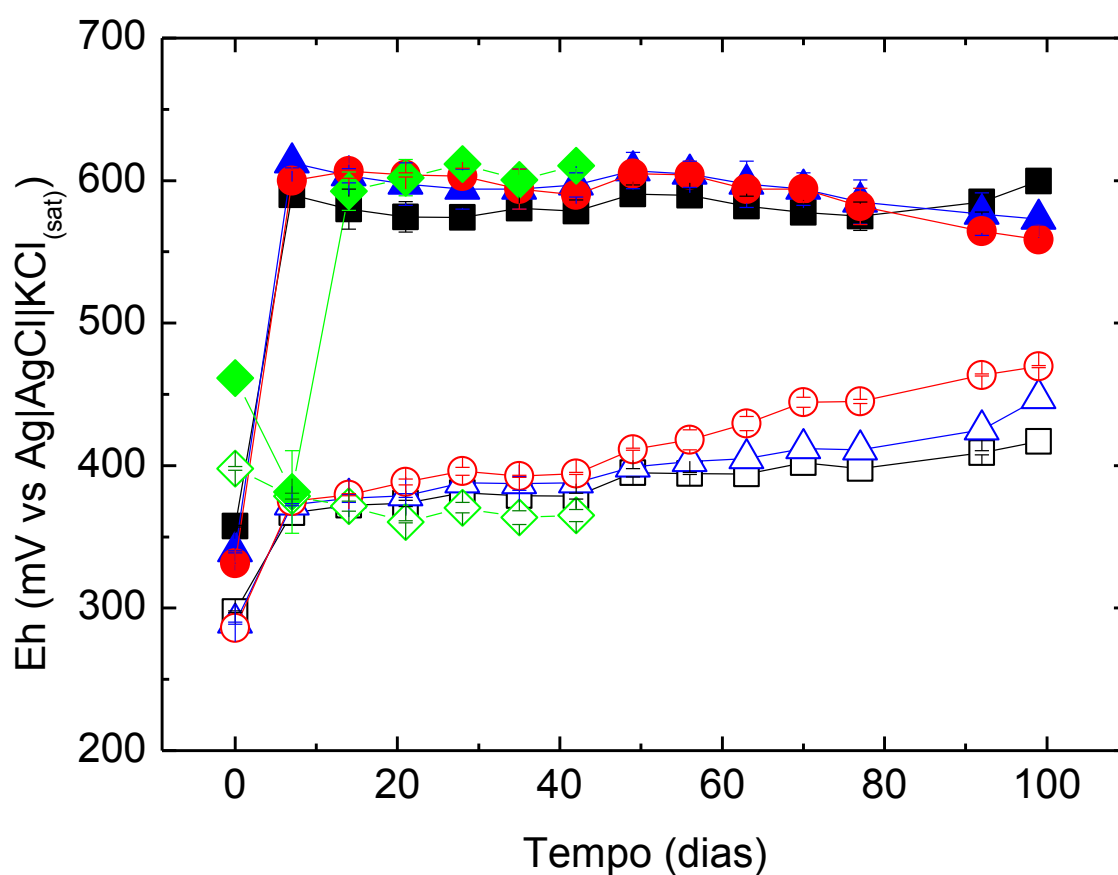
É possível afirmar que, nestas condições de ensaio, o uso de micro-organismos para a dissolução da calcopirita não foi eficiente quanto à recuperação de cobre.

Os valores de recuperação de cobre no ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos se mostraram diferentes dos obtidos quando estes íons foram adicionados. No primeiro, a bactéria foi capaz de solubilizar cerca de 20 mmol L⁻¹ de cobre contra 6 mmol L⁻¹ na condição abiótica, representando 19% de recuperação contra 5%.

Verificando-se os valores de recuperação de cobre obtidos no ensaio de biolixiviação na presença de Fe²⁺ tem-se que o sistema inoculado recuperou em torno de 10 % dentro do mesmo período de tempo (42 dias) do ensaio sem adição suplementar de íons ferrosos (~ 20 %).

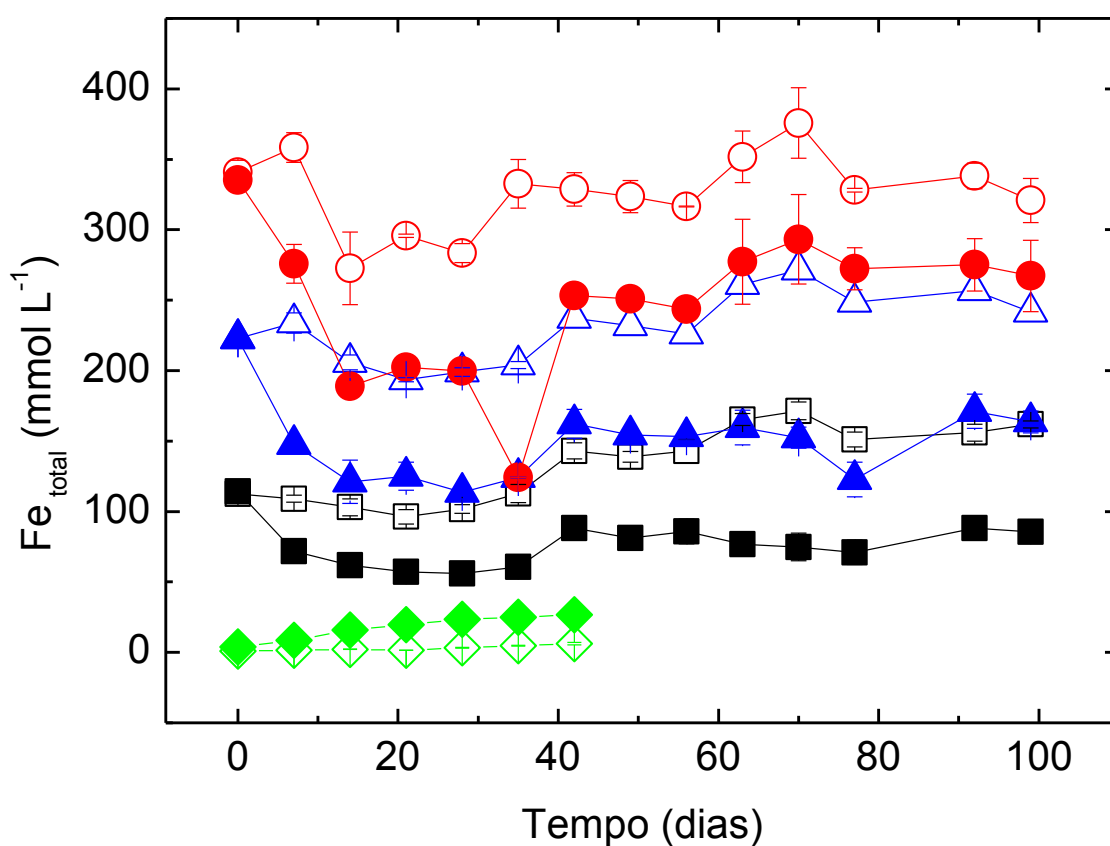
A diferença na porcentagem de recuperação de cobre nos ensaios inoculados na presença e ausência de íons ferrosos (10 e 20 %, respectivamente) pode ser atribuída à adição suplementar destes íons no meio reacional, que, apesar de ser uma fonte de energia prontamente disponível para a bactéria, possibilitou uma rápida oxidação a íons férricos, aumentando o potencial redox do meio que inviabilizou a contínua oxidação da calcopirita.

Figura 23 – Variação do potencial redox (Eh) no experimento de biolixiviação da calcopirita utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles abióticos (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 0 mmol L^{-1} (◆), 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). Experimento com durabilidade de 100 dias.



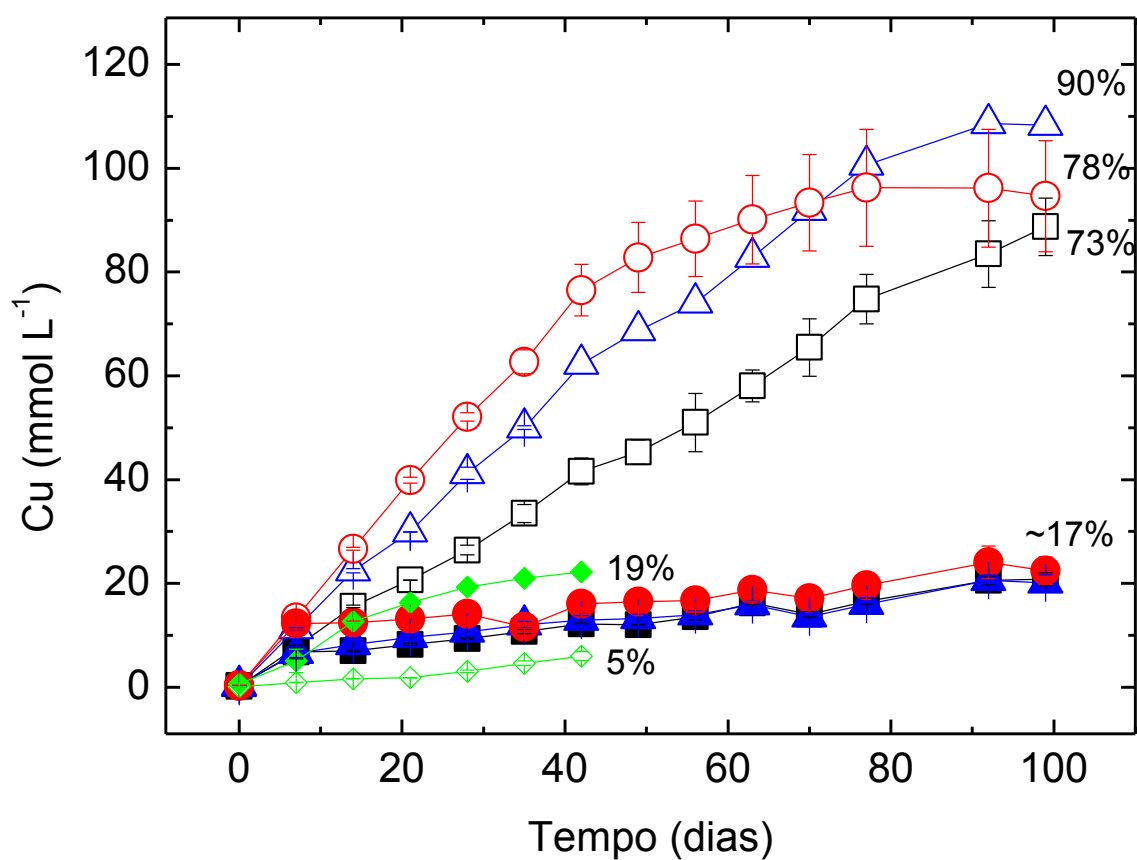
Fonte: Autor

Figura 24 – Variação da concentração de ferro total no experimento de biolixiviação da calcopirita utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles abióticos (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 0 mmol L^{-1} (◆), 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). Experimento com durabilidade de 100 dias.



Fonte: Autor

Figura 25 – Variação da concentração de cobre total no experimento de biolixiviação da calcopirita utilizando *A. ferrooxidans* – LR (símbolos cheios) e controles abióticos (símbolos vazios) em diferentes concentrações de Fe^{2+} : 0 mmol L^{-1} (◆), 100 mmol L^{-1} (■), 200 mmol L^{-1} (▲) e 300 mmol L^{-1} (●). Experimento com durabilidade de 100 dias.



Fonte: Autor

Em relação aos frascos abióticos de ambos os ensaios, considerando 42 dias, houve uma recuperação de cobre muito mais expressiva (50%, em média) quando foram adicionados íons ferrosos do que no ensaio sem adição (5%).

Third et al. (2000) conduziram vários experimentos na presença e ausência de bactéria e concluíram que o potencial redox (Eh) é mais significativo para determinar a taxa de lixiviação de calcopirita do que o número de bactérias ou sua atividade. Neste mesmo estudo os autores observaram que com adição de 100 mmol L^{-1} de íons ferrosos a taxa de liberação de cobre é 2,7 vezes maior que com a adição da mesma quantidade de íons férricos, indicando que este último pode realmente inibir a lixiviação da calcopirita.

Com as afirmações destacadas da literatura e os resultados obtidos pelos experimentos realizados no presente trabalho é possível alegar que dissolução da calcopirita foi favorecida nos sistemas abióticos com adição suplementar de íons ferrosos por terem sido submetidos a uma atmosfera redutora, formada pela adição dos íons ferrosos, conforme destacado pelo mecanismo desenvolvido por Hiroyoshi et al. (2008). Segundo esses autores, a calcopirita na presença de Cu^{2+} e Fe^{2+} é rapidamente convertida em calcocita, sulfeto secundário menos refratário, em uma reação de redução. A calcocita secundária é posteriormente oxidada com liberação de íons cobre. Estas reações ocorrem se a faixa crítica de potencial redox contiver um valor suficientemente baixo para que ocorra a redução da calcopirita e também suficientemente alto para que a calcocita formada seja oxidada.

As reações de oxidação dos íons ferrosos (Eq. 10) e posterior redução dos férricos (Eq. 11) confirmam as pequenas diferenças observadas nas concentrações de ferro total iniciais e finais (Figura 24), pois nos sistemas ocorreu simultaneamente a formação e consumo desses íons, demonstrando, portanto, que a lixiviação permaneceu ativa.

O sistema submetido a uma atmosfera oxidante, através da formação de íons férricos pela bactéria, foi prejudicial para a recuperação de cobre, provocando a elevação do potencial devido à alta relação do par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ obtida nesta condição.

Finalizado o experimento, os resíduos finais de cada sistema foram analisados quanto à formação de novas fases cristalinas e comparados com a amostra inicial tanto por análises de difratometria de raios X quanto pela microscopia eletrônica de varredura. Os difratogramas de cada sistema estão apresentados nas Figuras 26 a 28.

Pelas análises dos resíduos finais do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos (Figura 26) não foi possível observar a formação de novas fases cristalinas como visto nos difratogramas anteriores, pois como não houve adição de íons ferrosos no meio reacional, não foi favorecida a formação de fases como jarositas e enxofre elementar (BEVILAQUA, 1999).

Em linhas gerais, as micrografias destes resíduos finais mostram a formação de partículas de calcopirita com tamanhos e formatos variados. Não foi observado recobrimento das partículas de calcopirita por outros tipos de partículas. Na condição inoculada é possível observar um aspecto de corrosão na superfície das partículas de calcopirita proveniente da ação bacteriana.

Em contrapartida, as análises dos resíduos finais da condição abiótica do ensaio com adição de íons ferrosos (Figura 27) revelaram a formação das mesmas fases cristalinas observadas no ensaio preliminar de 21 dias, ou seja, enxofre e jarosita. No entanto, em relação aos picos referentes à calcopirita foi observada uma diminuição significativa destes quando comparados com a calcopirita original. Por mais que a técnica de análise por difração de raios X empregada neste estudo não seja considerada quantitativa, é possível inferir sobre os picos relacionando sua intensidade com a quantidade presente na amostra.

Com o propósito de se confirmar a expressiva solubilização da calcopirita neste ensaio de longa duração, o resíduo do tratamento abiótico com 200 mmol L^{-1} de íons ferrosos, o qual apresentou cerca de 90 % de solubilização de cobre, foi submetido à digestão ácida e posterior análise por absorção atômica.

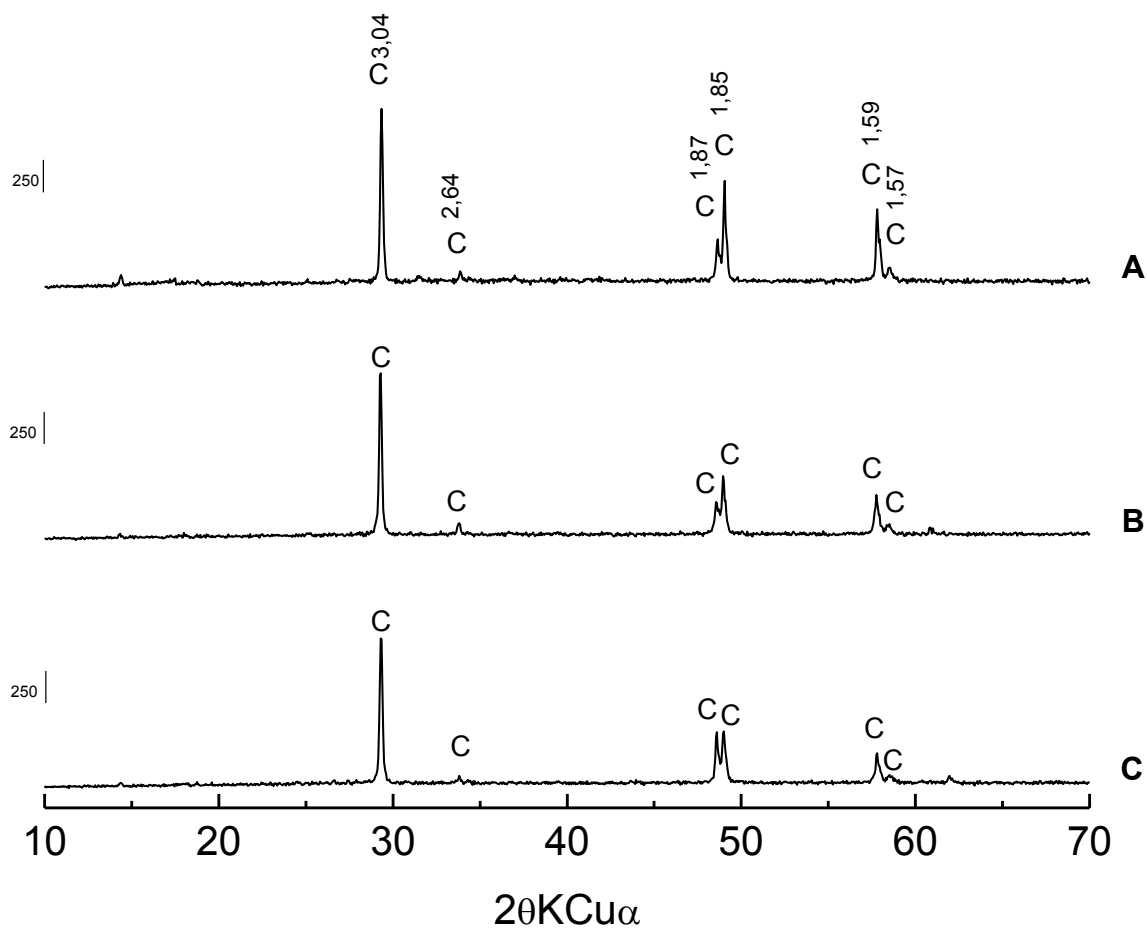
Os resultados confirmaram a expressiva solubilização da calcopirita, atingindo 98 % de extração do cobre presente na amostra original de calcopirita, restando, portanto, somente 2 % do metal na estrutura da calcopirita.

Em relação aos difratogramas do sistema inoculado (Figura 28) houve a formação de precipitados de ferro que podem estar relacionados à baixa recuperação de cobre pelo sistema e a permanência da fase de calcopirita, resultados estes muito semelhantes ao observado no ensaio de 21 dias.

Córdoba et al. (2009) afirmaram que a formação de enxofre elementar e de precipitados de ferro prejudicam a recuperação do metal de interesse por estes recobrirem a superfície do sulfeto e impedir os ataques químicos e biológicos.

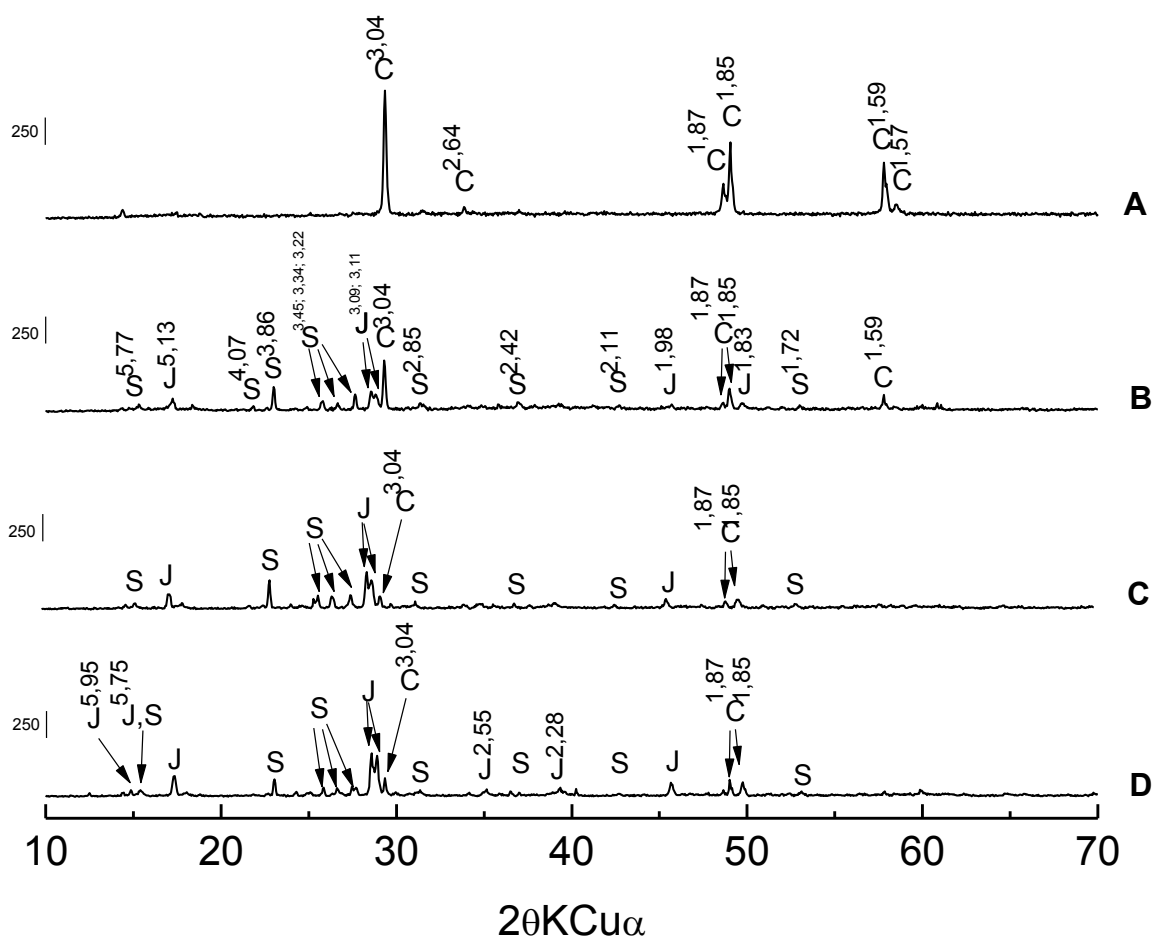
Entretanto, Gu et al. (2013) realizaram experimentos de biolixiviação com a bactéria *Leptospirillum ferriphilum* a fim de avaliar a dissolução da calcopirita. Os autores relataram que a maior taxa de lixiviação foi alcançada nos primeiros dias de ensaio, quando os valores de potencial redox eram baixos. As análises microscópicas dos resíduos finais mostraram a formação

Figura 26 – Difratomogramas de raios X da amostra original de calcopirita (A) e dos resíduos finais (42 dias) do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos: controle abiótico (B) e frascos inoculados com *A. ferrooxidans* (C). Símbolos: C, calcopirita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina.



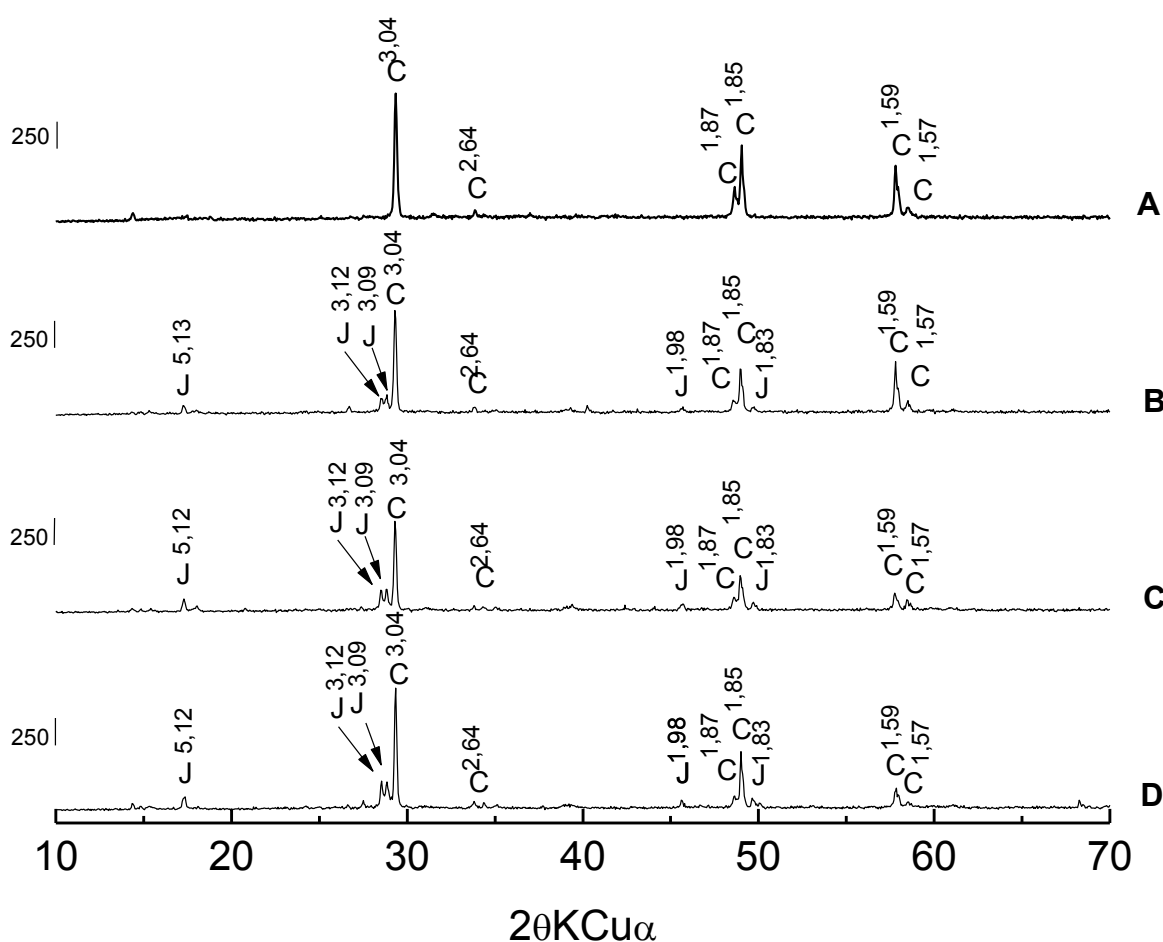
Fonte: Autor

Figura 27 – Difratomogramas de raios X da amostra original de calcopirita (A) e dos resíduos abióticos finais (100 dias) do ensaio de biolixiviação na presença de íons ferrosos em diferentes concentrações: 100 (B), 200 (C) e 300 mmol L⁻¹ (D). Símbolos: C, calcopirita; S, enxofre e J, jarosita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina.



Fonte: Autor

Figura 28 – Difratomogramas de raios X da amostra original de calcopirita (A) e dos resíduos finais (100 dias) do ensaio de biolixiviação na presença de *A. ferrooxidans* e de íons ferrosos em diferentes concentrações: 100 (B), 200 (C) e 300 mmol L⁻¹ (D). Símbolos: C, calcopirita e J, jarosita. A barra lateral indica a intensidade dos picos e os números acima da identificação dos picos, indica a distância “d” (em Ångstrons) característica de cada fase cristalina.



Fonte: Autor

de uma quantidade considerável de produtos porosos, enxofre e jarosita, que cobriram quase completamente a superfície da calcopirita.

Os autores Gu et al. (2013) afirmaram neste mesmo estudo que a baixa taxa de extração de cobre não foi devida à formação de jarositas, pois esses precipitados não foram considerados como componentes da camada bloqueadora devido a sua característica porosa, a qual não impediu a difusão dos reagentes para a superfície do mineral.

Os dados obtidos nos experimentos do presente trabalho também revelaram que mesmo com a formação de precipitados de ferro e enxofre a extração de cobre nos frascos abióticos não foi comprometida, em valores de potencial abaixo de 420 mV (vs. Ag|AgCl|KCl_(sat)). Nos frascos inoculados também houve a formação de jarositas, porém a extração de cobre foi altamente afetada, sob potencial de 610 mV (vs. Ag|AgCl|KCl_(sat)). Portanto, as altas taxas de recuperação de cobre podem estar atreladas a baixos valores de potencial e não ao comprometimento da superfície do mineral.

É válido ressaltar que houve apenas o acúmulo dessas fases durante o tempo de ensaio, ou seja, não foi detectada nenhuma nova fase após o 14º dia de ensaio além das que já se apresentavam e estas foram apenas se acumulando nas outras análises visto pelo aumento do pico destes elementos.

Contudo, esta técnica possui uma limitação de que materiais cristalinos somente podem ser detectados em níveis superiores a 1-2 %. Com isso, foram realizadas análises microscópicas nos resíduos finais dos ensaios de biolixiviação para detectar qualquer outra fase ou elemento existente na amostra.

Os resíduos sólidos finais foram submetidos a análises de espectroscopia de energia de dispersão de raios X (EDXS) além de micrografias por microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (FEG/MEV) apresentadas pelo Apêndice A. É válido destacar que a presença de silício (Si) nos mapeamentos realizados é referente ao substrato sobre o qual as amostras foram depositadas.

Em linhas gerais, as micrografias dos resíduos finais do ensaio de biolixiviação na presença de íons ferrosos mostram a formação de partículas com tamanhos e formatos variados recobrando, na maioria dos casos, a superfície das partículas de calcopirita.

Em condições abióticas, houve a formação de partículas de enxofre em formatos característicos de bipirâmides além de pequenas partículas em formatos cúbicos e esféricos que podem estar atreladas a formação de jarositas. Nas condições inoculadas houve apenas a formação de pequenas partículas de formatos cúbicos e a superfície da calcopirita apresentou aspecto de corrosão quando comparado com a amostra original, possivelmente devido à ação bacteriana.

É interessante notar que as análises por difração de raios X foram confirmadas pelo mapeamento dos elementos e pelas análises de EDXS e complementam os resultados por apresentar os detalhes em relação ao tamanho, formato e localização das partículas.

Córdoba et al. (2008b) observaram claramente por meio de micrografias o recobrimento de uma partícula de calcopirita pela jarosita em um sistema de lixiviação em frascos agitados a 68 °C num potencial inicial de 400 mV, assim como demonstrado no presente trabalho.

A fim de facilitar a visualização e entendimento das micrografias realizadas, a Tabela 5 apresenta um resumo das características observadas em cada um dos tratamentos.

Tabela 5 – Características observadas pelas micrografias eletrônicas de varredura de cada condição estudada do ensaio de biolixiviação da calcopirita.

AMOSTRA	CARACTERÍSTICAS PRINCIPAIS	APÊNDICE A
Calcopirita Original	Aglomerado de partículas de tamanhos variados	Figura A1
Abiótico + 0 mmol L ⁻¹ Fe ²⁺	Aglomerado de pequenas partículas homogêneas	Figura A4
Bactéria + 0 mmol L ⁻¹ Fe ²⁺	Partículas grandes com aspecto de corrosão	Figura A7
Abiótico + 100 mmol L ⁻¹ Fe ²⁺	Partículas esféricas com recobrimento da superfície	Figura A10
Bactéria + 100 mmol L ⁻¹ Fe ²⁺	Partículas de calcopirita recobertas com grandes aglomerados cúbicos e com aspecto de corrosão	Figura A13
Abiótico + 200 mmol L ⁻¹ Fe ²⁺	Partículas em formato bipirâmide e esféricas. Não foram observadas partículas de calcopirita.	Figura A15
Bactéria + 200 mmol L ⁻¹ Fe ²⁺	Partículas de tamanhos e formatos variados recobertos com partículas cúbicas e esféricas	Figura A18
Abiótico + 300 mmol L ⁻¹ Fe ²⁺	Partículas de calcopirita recobertas com grandes aglomerados cúbicos e esféricos	Figura A20
Bactéria + 300 mmol L ⁻¹ Fe ²⁺	Partículas de calcopirita recobertas com grandes aglomerados cúbicos	Figura A23

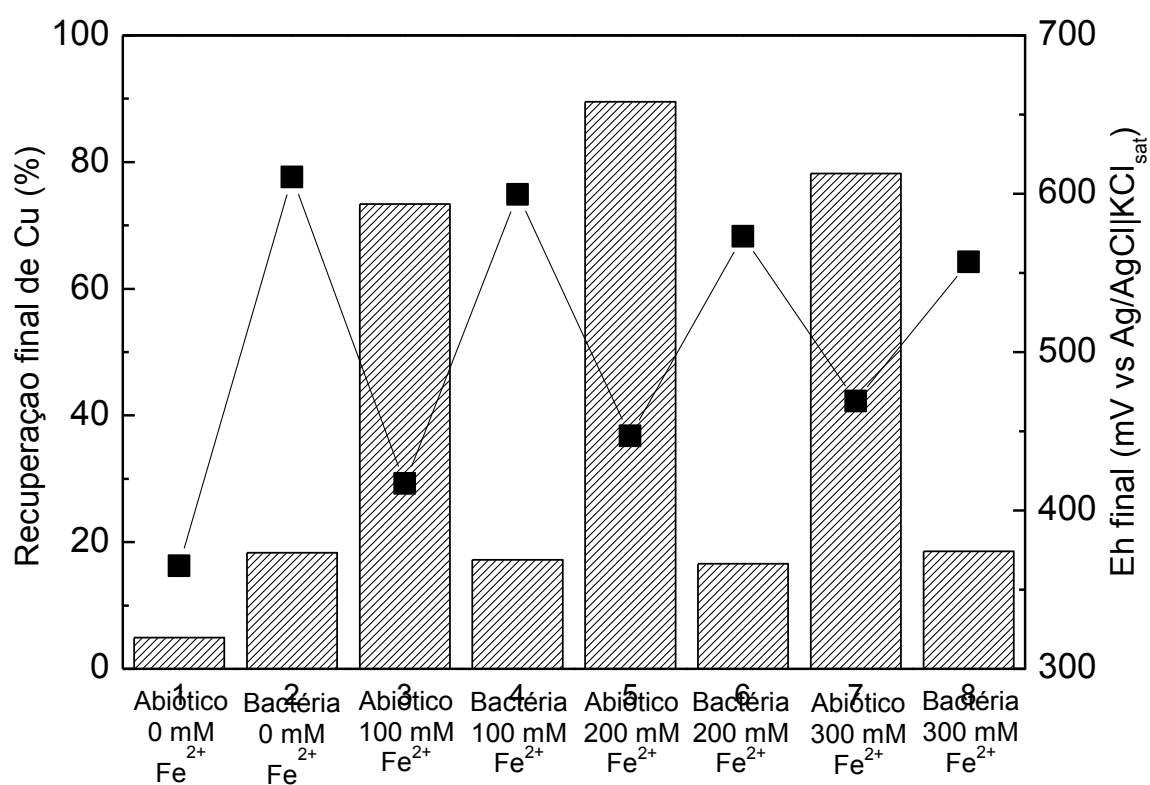
Fonte: Autor

Com o intuito de facilitar a visualização dos resultados obtidos, os dados de porcentagem de cobre e valores de potencial foram plotados em um gráfico (Figura 31) que mostra o efeito da manutenção de baixos valores de potencial em sistemas de biolixiviação.

É simples observar que os maiores valores de recuperação de cobre estão nos sistemas que mantiveram seus valores de potencial redox abaixo do valor crítico discutido na literatura. Mostrando, portanto, que a recuperação de cobre é favorecida nestas situações.

Contudo, no sistema em que não houve adição suplementar de íons ferrosos o valor de potencial alcançou valores menores que 400 mV e ainda assim a recuperação de cobre foi menos expressiva. Pode-se afirmar que além da manutenção de baixos valores de potencial induzido pela presença de íons ferrosos, estes íons possuem uma influencia em relação à recuperação de cobre.

Figura 29 – Valores finais de recuperação de cobre e de potencial redox em cada um dos tratamentos estudados. As barras representam a recuperação final de cobre pelos sistemas estudados e a linha contínua os valores de potencial final em cada um dos tratamentos.



Fonte: Autor

6 CONCLUSÕES

Apesar da bactéria *A. ferrooxidans*, linhagem LR, ter sido capaz de oxidar todas as concentrações de íons ferrosos estudadas houve uma diferença na cinética, que diminuiu progressivamente com o aumento da concentração desses íons.

A baixa taxa de solubilização pelos sistemas inoculados na presença de íons ferrosos pode ser atribuída aos altos valores de potencial redox que inviabilizaram a contínua oxidação da calcopirita.

Enxofre elementar e jarositas foram detectados como novas fases cristalinas e estes precipitados são ditos como os principais responsáveis pelo bloqueio da superfície do mineral. Contudo, esta camada não foi empecilho para a recuperação continuada de cobre nas condições abióticas do ensaio de biolixiviação na presença de íons ferrosos.

Os difratogramas do ensaio de biolixiviação sem adição suplementar de íons ferrosos não apresentaram a formação de novas fases cristalinas.

As análises de EDXS e mapeamento confirmaram a formação dos precipitados detectados pelo DRX. Houve a aglomeração de partículas de enxofre elementar e jarositas sobre a superfície das partículas de calcopirita nos tratamentos com adição de íons ferrosos.

As células bacterianas não são inibidas pelo sistema, mas a formação de íons férricos, produzido pelo seu metabolismo, e conseqüentemente, os altos valores de potencial redox podem prejudicar a recuperação do metal pelas bactérias.

A adição de íons ferrosos nos frascos abióticos melhora a taxa de extração de cobre devido à manutenção de baixos valores de potencial redox e/ou a influência da presença de íons ferrosos em solução.

REFERÊNCIAS

ACEVEDO, F. The use of reactors in biomining processes. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 3, p. 184-194, 2000.

AHONEN, L.; TUOVINEN, O. H. Alterations in surfaces and textures of minerals during the bacterial leaching of the complex sulfide ore. **Geomicrobiology Journal**, v. 10, n. 3/4, p. 207-217, 1992.

AI, G.; TU, Y.; TAO, X. Chalcopyrite bioleaching by mesophilic microorganisms and surface passivation. In: INTERNACIONAL BIOHYDROMETALLURGY SYMPOSIUM (IBS), 19., 2011, Changsha. **Anais...** Changsha: Central South University Press, 2011. v. 2, p. 632-637.

BEVILAQUA, D. **Solubilização da calcopirita (CuFeS_2) bornita (Cu_5FeS_4) por *Acidithiobacillus ferrooxidans***. 1999. 91 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1999.

BEVILAQUA, D. **Estudo da interação do *Acidithiobacillus ferrooxidans* com calcopirita (CuFeS_2) e bornita (Cu_5FeS_4)**. 2003. 103 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.

BEVILAQUA, D.; GARCIA JÚNIOR, O. Oxidación de sulfuros de cobre por *A. ferrooxidans*: análisis de los productos de las fases líquidas y sólidas. In: ACEVEDO, F. E.; GENTINA, J. C. M. (Ed.). **Fundamentos y perspectivas de las tecnologías biomineras**. Valparaíso: Ediciones Universitarias de Valparaíso, 2005. Cap. 4, p. 63-77.

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

BROWN, T. L.; LEMAY, H. E.; BUSTERN, B. E. Química a ciência central. In: _____. **Metais e metalurgia**. 9. ed. São Paulo: Person Prentice Hall, 2005. Cap. 23, p. 856-883.

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

CÓRDOBA, E. M.; MUÑOZ, J. A.; BLÁZQUEZ, M. L.; GONZÁLEZ, F.; BALLESTER, A. Leaching of chalcopyrite with ferric ion. Part II: effect of redox potential. **Hydrometallurgy**, v. 93, p. 88-96, 2008b.

- CÓRDOBA, E. M.; MUÑOZ, J. A.; BLÁZQUEZ, M. L.; GONZÁLEZ, F.; BALLESTER, A. Leaching of chalcopyrite with ferric ion. Part IV: the role of redox potential in the presence of mesophilic and thermophilic bacteria. **Hydrometallurgy**, v. 93, p. 106-115, 2008c.
- CÓRDOBA, E. M.; MUÑOZ, J. A.; BLÁZQUEZ, M. L.; GONZÁLEZ, F.; BALLESTER, A. Passivation of chalcopyrite during its chemical leaching with ferric ion at 68 °C. **Minerals Engineering**, v. 22, p. 229-235, 2009.
- DAOUD, J.; KARAMANEV, D. Formation of jarosite during Fe²⁺ oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Minerals Engineering**, v. 19, p. 960-967, 2006.
- DEVASIA, P.; NATARAJAN, K. A. Bacterial leaching: biotechnology in the mining industry. **Resonance**, v. 9, n. 8, p. 27-34, 2004.
- DOREY, R.; VAN ZYL, D. J. A.; KIEL, J. E. Overview of heap leaching technology. In: VAN ZYL, D. J. A.; Hutchison I. P. G.; KIEL, J. E. (Ed.). **Introduction to evaluation, design and operation of precious metals heap leaching projects**. Littleton: Society of Mining Engineers, 1988. Cap. 1, p. 20.
- DUTRIZAC, J. The dissolution of chalcopyrite in ferric sulfate and ferric chloride media. **Metallurgical and Materials Transactions B**, v. 12, p. 371-378, 1981.
- EMPRESAS NUCLEARES BRASILEIRAS. **MA-42**: determinação gravimétrica de sulfeto e sulfato em minérios. [Rio de Janeiro, 1980]. Método de análise.
- GAHAN, C. S.; SRICHANDAN, H.; KIM, D.; AKCIL, A. Biohydrometallurgy and biomineral processing technology: a review on its past, present and future. **Research Journal of Recent Science**, v. 1, n. 10, p. 85-99, 2012.
- 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 JÚNIOR, O.; BEVILAQUA, D. Micro-organismos, minerais e metais. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Microbiologia ambiental**. 2. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. Cap. 3, p. 49-81.
- GARCIA JÚNIOR, O.; URENHA, L. C. Lixiviação bacteriana de minérios. In: LIMA, U. A. (Ed.). **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. Cap. 22, v. 3, p. 285-512.
- GAUTIER, V.; ESCOBAR, B.; VARGAS, T. Cooperative action of attached and planktonic cells during bioleaching of chalcopyrite with *Sulfolobus metallicus* at 70 °C. **Hydrometallurgy**, v. 94, n. 1/4, p. 121-126, 2008.
- GERICKE, M.; GOVENDER, Y.; PINCHES, A. Tank bioleaching of low-grade chalcopyrite concentrates using redox control. **Hydrometallurgy**, v. 104, p. 414-419, 2010.

GERICKE, M.; NEALE, J. W.; VAN STADEN, P. J. A Mintek perspective of the past 25 years in minerals bioleaching. **The Journal of the Southern African Institute of Mining and Metallurgy**, v. 109, p. 567-585, 2009.

GÓMEZ, E.; BLÁZQUEZ, M. L.; BALLESTER, A.; GONZÁLEZ, F. Study by SEM and EDS of chalcopyrite bioleaching using a new thermophilic bacteria. **Minerals Engineering**, v. 9, n. 9, p. 985-999, 1996.

GU, G.; HU, K.; ZHANG, X.; XIONG, X.; YANG, H. The stepwise dissolution of chalcopyrite bioleached by *Leptospirillum ferriphilum*. **Electrochimica Acta**, v. 103, p. 50-57, 2013.

HABASHI, F. A short history of hydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 79, n. 1/2, p. 15-22, 2005.

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

HARMER, S. L.; THOMAS J. E.; FORNASIERO D.; GERSON, A. R. The evolution of surface layers formed during chalcopyrite leaching. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 70, p. 4392-4402, 2006.

HAVLÍK, T.; SKROBIAN, M.; BALÁZ, P.; KAMMEL, R. Leaching of chalcopyrite concentrate with ferric chloride. **International Journal of Mineral Processing**, v. 43, n. 1/2, p. 61-72, 1995.

HEARN, R. L.; HOYE, R. **Copper dump leaching and management practices that minimize the potential for environmental releases**. Cincinnati: Environmental Protection Agency; Hazardous Waste Engineering Research Laboratory, 1988. 158 p.

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

HIROYOSHI, N.; HIROTA, M.; HIRAJIMA, T.; TSUNEKAWA, M. A case of ferrous sulfate addition enhancing chalcopyrite leaching. **Hydrometallurgy**, v. 47, p. 37-45, 1997.

HIROYOSHI, N.; MIKI, H.; HIRAJIMA, T.; TSUNEKAWA, M. Enhancement of chalcopyrite leaching by ferrous ions in acidic ferric sulfate solutions. **Hydrometallurgy**, v. 60, n. 3, p. 185-197, 2001.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO. **Informações e análises da economia mineral brasileira**. 6. ed. 2011. 28 p. Disponível em: <<http://www.ibram.org.br/sites/1300/1382/00001418.pdf>>. Acesso em: 20 maio 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO. **Informações e análises da economia mineral brasileira**. 7. ed. 2012. 68 p. Disponível em: <<http://www.ibram.org.br/sites/1300/1382/00002806.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2013.

KARIMI, G. R.; ROWSON, N. A.; HEWITT, C. J. Bioleaching of copper via iron oxidation from chalcopyrite at elevated temperatures. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, p. 21-25, 2010.

KHOSHKHOO, M.; DOPSON, M.; SHCHUKAREV, A.; SANDSTRON, A. Electrochemical simulation of redox potential development in bioleaching of a pyritic chalcopyrite concentrate. **Hydrometallurgy**, v. 144/145, p. 7-14, 2014.

KLAUBER, C. Fracture-induced reconstruction of a chalcopyrite (CuFeS₂) surface. **Surface and Interface Analysis**, v. 35, p. 415-428, 2003.

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

KLAUBER, C.; PARKER, A.; VAN BRONSWIJK, W.; WATLING, H. Sulphur speciation of leached chalcopyrite surfaces as determined by X-ray photoelectron spectroscopy. **International Journal of Mineral Processing**, v. 62, p. 65-94, 2001.

LEDUC, L. G.; FERRONI, G. D. The chemolithotrophic bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 14, n. 2, p. 103-120, 1994.

LI, Y.; KAWASHIMA, N.; LI, J.; CHANDRA, A. P.; GERSON, A. R. A review of the structure, and fundamental mechanisms and kinetics of the leaching of chalcopyrite. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 197/198, p.1-32, 2013.

MALKI, M.; GONZÁLEZ-TORIL, E.; SANZ, J. L.; GÓMEZ, F.; RODRÍGUEZ, N.; AMILS, R. Importance of the iron cycle in biohydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 83, n. 1/4, p. 223-228, 2006.

MANNING, H. L. New medium for isolating iron-oxidizing and heterotrophic acidophilic bacteria from acid mine drainage. **Applied Microbiology**, v. 30, n. 6, p. 1010-1016, 1975.

MIKHLIN, Y.; TOMASHEVICH, Y.; TAUSON, V.; VYALIKH, D.; MOLODTSOV, S.; SZARGAN, R. A comparative X-ray absorption near-edge structure study of bornite, Cu_5FeS_4 , and chalcopyrite, CuFeS_2 . **Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena**, v. 142, p. 83-88, 2005.

MINTEK (United States). A. Pinches; P. J. Myburgh; C. Merwe. **Process for the rapid leaching of chalcopyrite in the absence of catalysis**. US 6277341 B1, 3 Mar. 1987, 21 Aug. 2001.

NEMATI, N.; HARRISON, S. T. L.; HANSFORD, G. S.; WEBB, C. Biological oxidation of ferrous sulphate by *Thiobacillus ferrooxidans*: a review on the kinetic aspects. **Biochemical Engineering Journal**, v. 1, p. 171-190, 1998.

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

PARKER, A. J.; PAUL, R. L.; POWER, G. P. Electrochemistry of the oxidative leaching of copper from chalcopyrite. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 118, p. 305-316, 1981.

PRADHAN, N.; NATHSARMA, K. C.; SRINIVASA R. K.; SUKLA, L. B.; MISHRA, B. K. Heap bioleaching of chalcopyrite: a review. **Minerals Engineering**, v. 21, n. 5, p. 355-365, 2008.

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

RODRÍGUEZ, Y.; BALLESTER, A.; BLÁZQUEZ, M. L.; GONZÁLEZ, F.; MUÑOZ, J. A. Study of bacterial attachment during the bioleaching of pyrite, chalcopyrite, and sphalerite. **Geomicrobiology Journal**, v. 20, p. 131-141, 2003.

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

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

SCHWEITZER, P. A. Physical and mechanical properties. In: _____. **Metallic materials**: physical, mechanical, and corrosion properties. New York: Marcel Dekker, 2003a. Cap. 1, p. 1-10.

SCHWEITZER, P. A. Physical and mechanical properties. In: _____. **Metallic materials**: physical, mechanical, and corrosion properties. New York: Marcel Dekker, 2003b. Cap. 18, p. 537-570.

SILVERMAN, M. P.; LUNDGREN, D. G. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*. II. Manometric studies. **Journal of Bacteriology**, v. 78, p. 326-331, 1959.

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

THIRD, K. A.; CORD-RUWISCH, R.; WATLING, H. R. Control of the redox potential by oxygen limitation improves bacterial leaching of chalcopyrite. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 78, p. 433-441, 2002.

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

TUOVINEN, O. H.; KELLY, D. P. Growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. I. Use of membrane filters and ferrous iron agar to determine viable number and comparison with carbon-14 dioxide-fixation and iron oxidation as measures of growth. **Archiv fuer Mikrobiologie**, v. 88, n. 4, p. 285-298, 1973.

VELÁSQUEZ, P.; GÓMEZ, H.; RAMOS-BARRADO, J. R.; LEINEN, D. Voltammetry and XPS analysis of a chalcopyrite CuFeS₂ electrode. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 140, p. 369-375, 1998.

VELÁSQUEZ-YÉVENES, L.; NICOL, M.; MIKI, H. The dissolution of chalcopyrite in chloride solutions: part 1. The effect of solution potential. **Hydrometallurgy**, v. 103, p. 108-113, 2010.

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

VOGEL, A. I. Colorimetria e espectrofotometria. In: _____. **Análise inorgânica quantitativa**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1981. Cap. 18, p. 552-553.

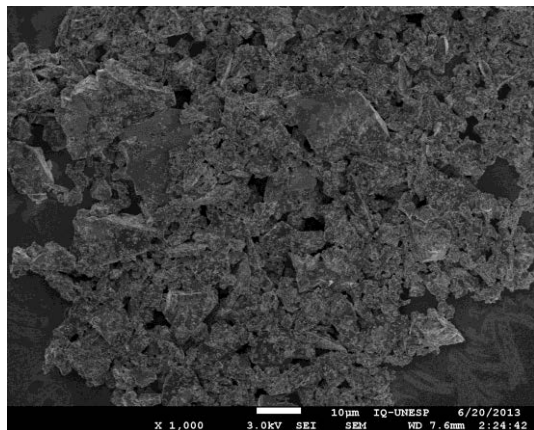
WATLING, H. R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides - a review. **Hydrometallurgy**, v. 84, n. 1/2, p. 81-108, 2006.

ZENG, W.; QIU, G.; ZHOU, H.; CHEN, M. Electrochemical behaviour of massive chalcopyrite electrodes bioleached by moderately thermophilic microorganisms at 48 °C. **Hydrometallurgy**, v. 105, p. 259-263, 2011.

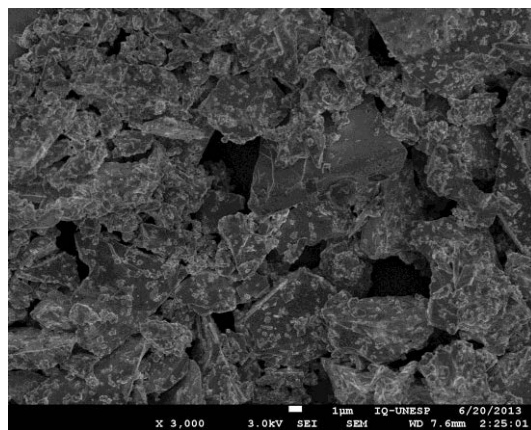
APÊNDICE A

Análises microscópicas da amostra de calcopirita original e dos resíduos sólidos finais dos ensaios de biolixiviação.

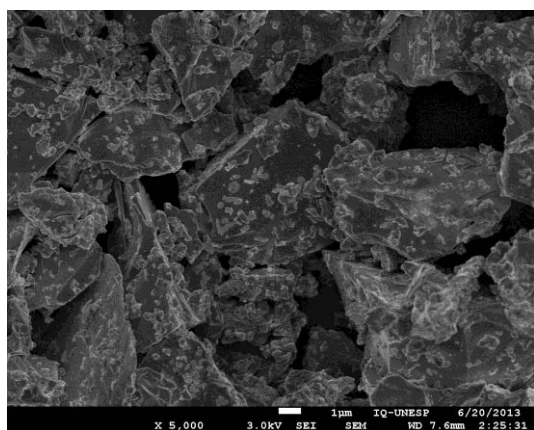
Figura A1 – Microscopia eletrônica de varredura da amostra de calcopirita original.



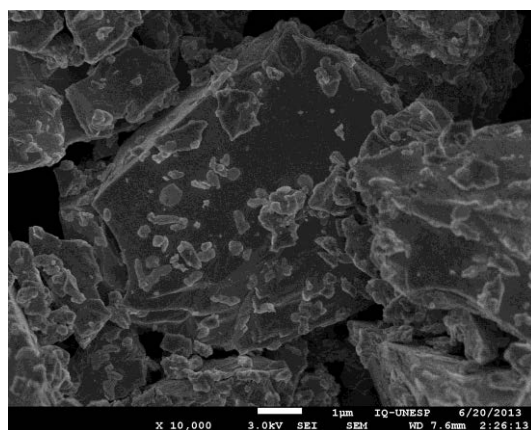
(A)



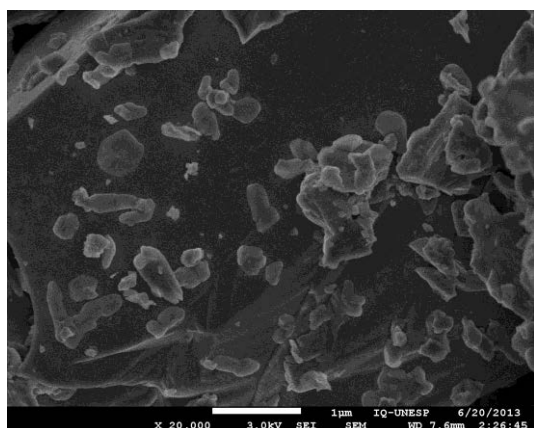
(B)



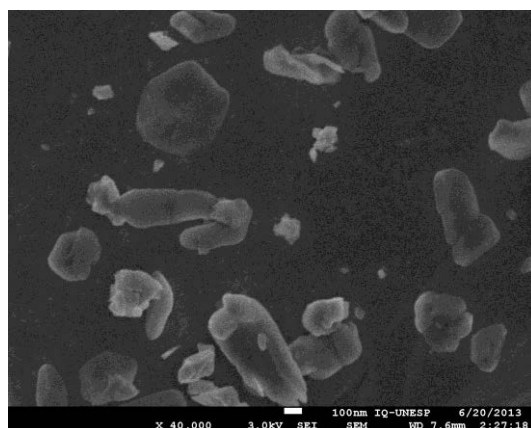
(C)



(D)

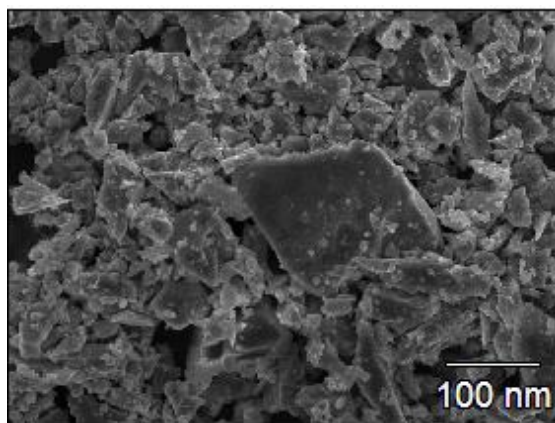


(E)

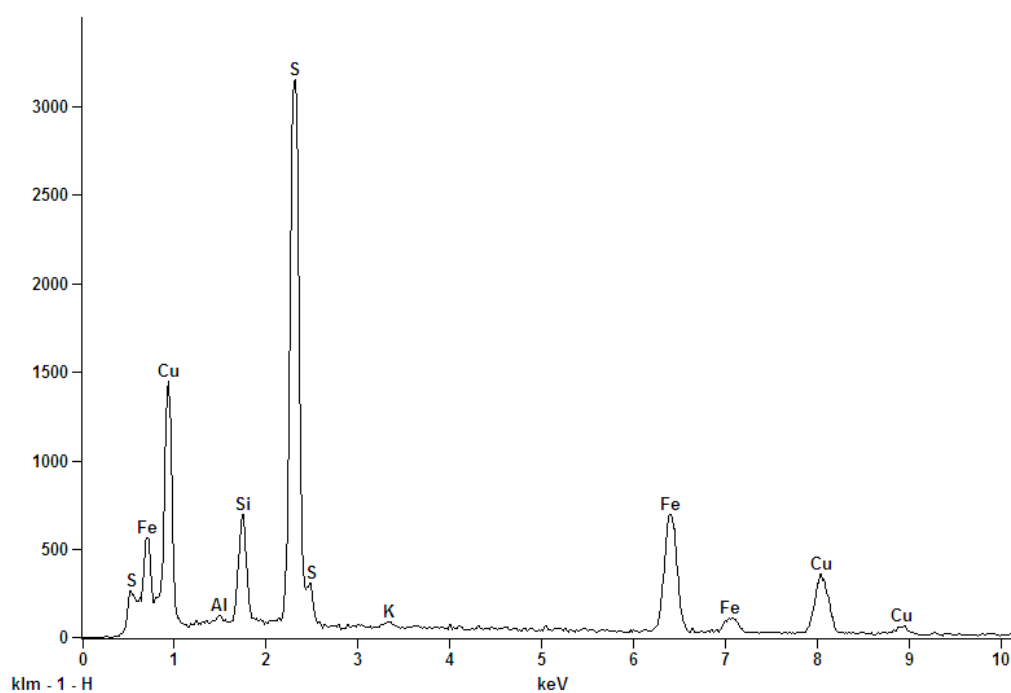


(F)

Figura A2 – Microscopia eletrônica de varredura da amostra de calcopirita original – 2000x (A) e o respectivo espectro de energia de dispersão de raios X (B).



(A)



(B)

Figura A3 – Mapas de cobre, ferro, enxofre, sílica, alumínio e potássio para a amostra de calcopirita original – 2000x.

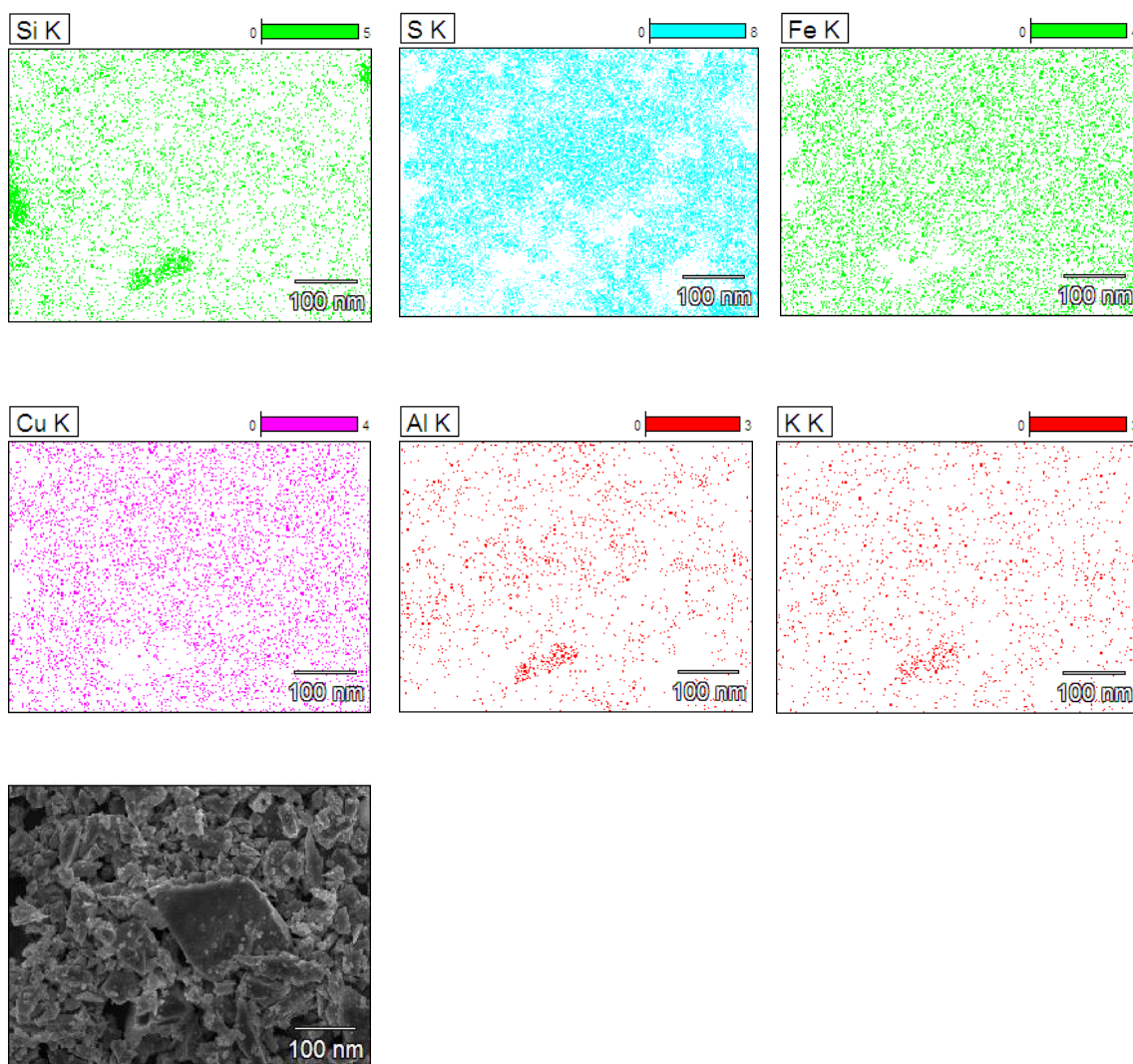
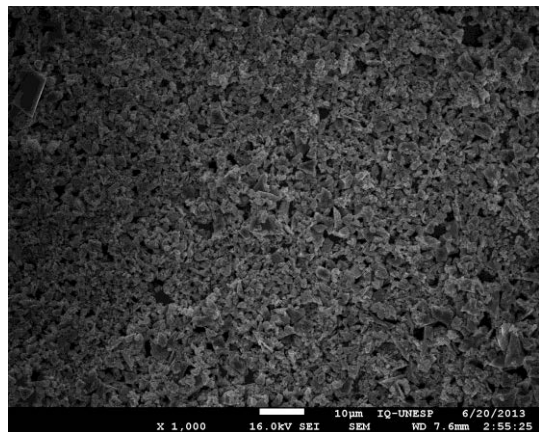
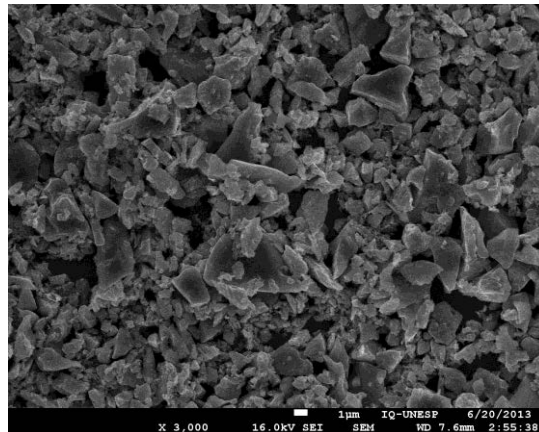


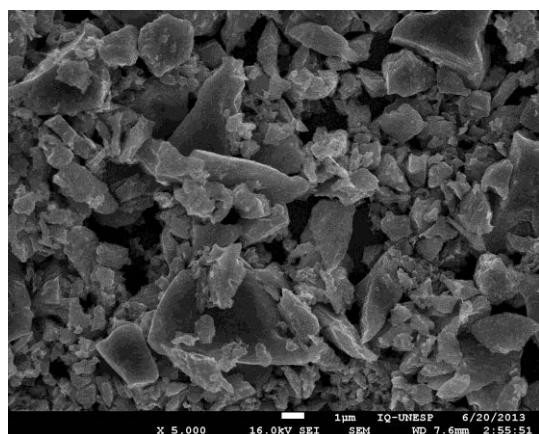
Figura A4 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos.



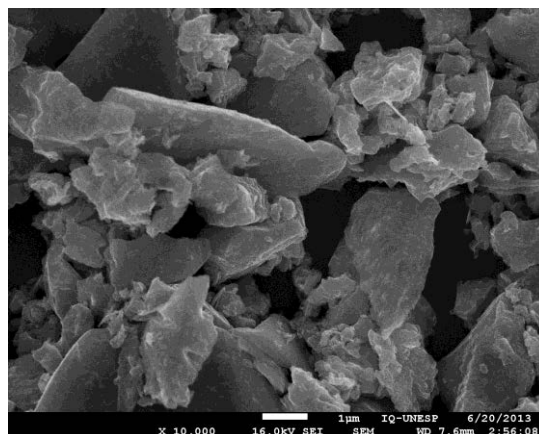
(A)



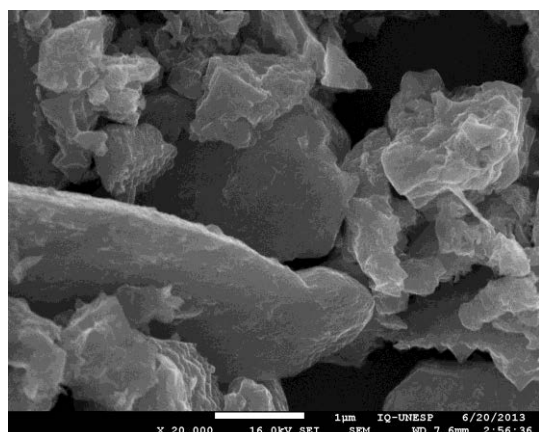
(B)



(C)

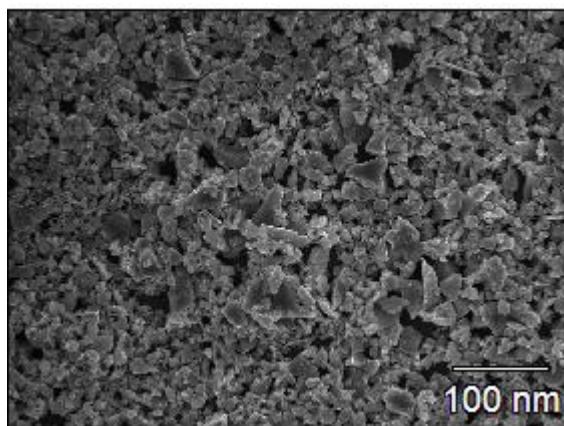


(D)

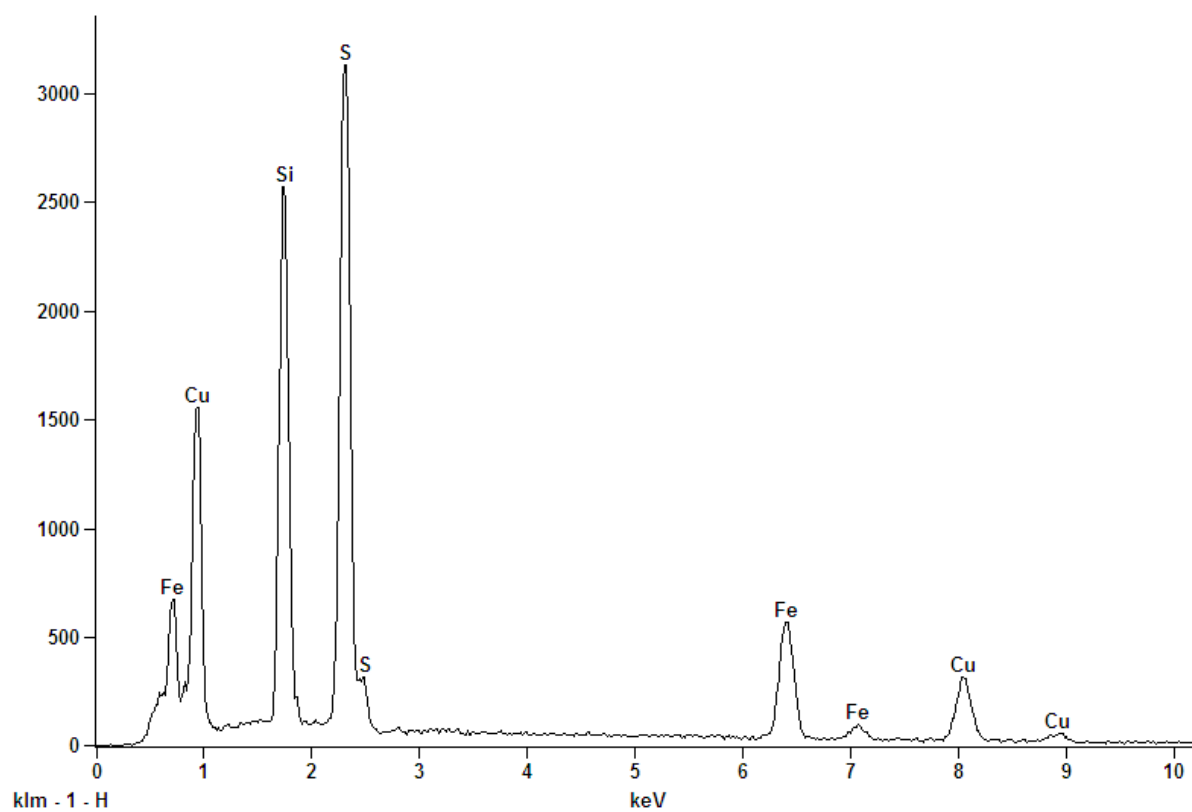


(E)

Figura A5 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos – 2000x (A) e o respectivo espectro de energia de dispersão de raios X (B).



(A)



(B)

Figura A6 – Mapas de cobre, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos – 2000x.

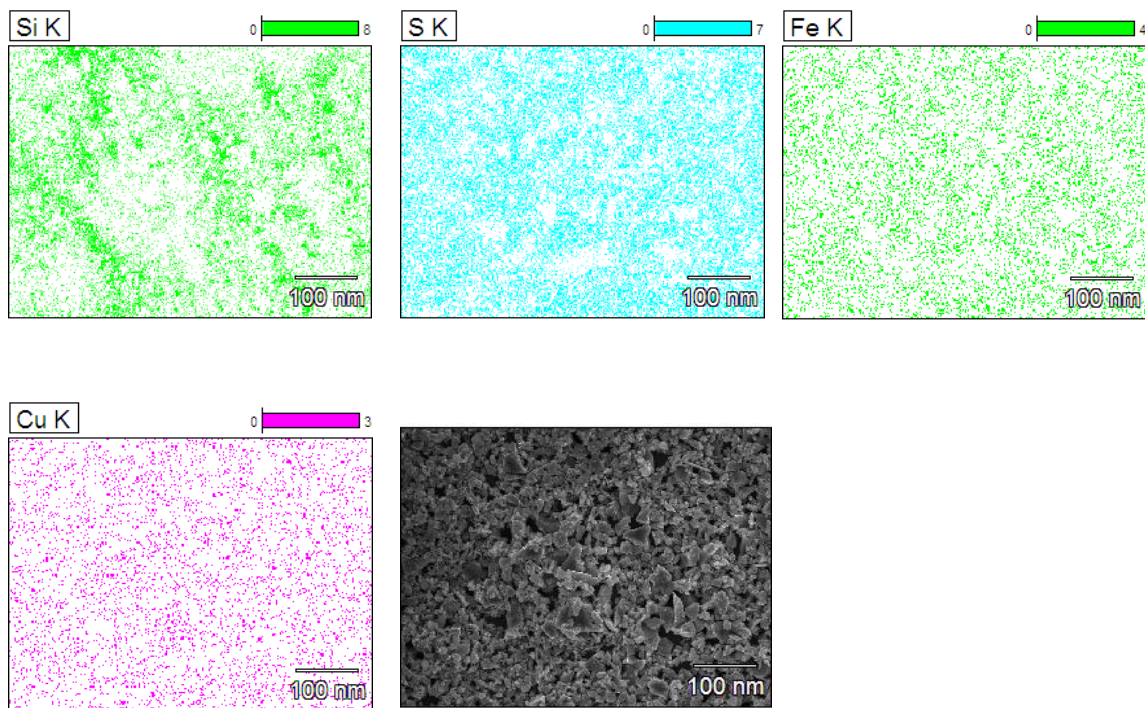
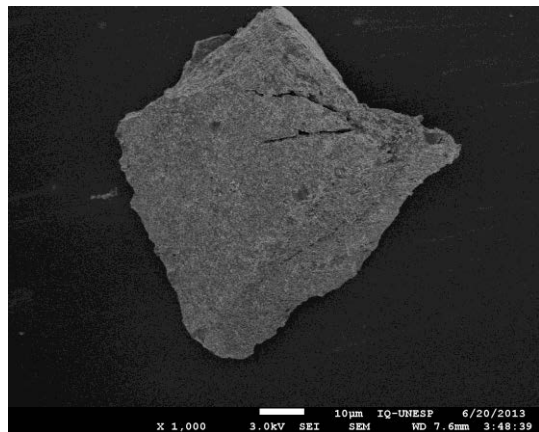
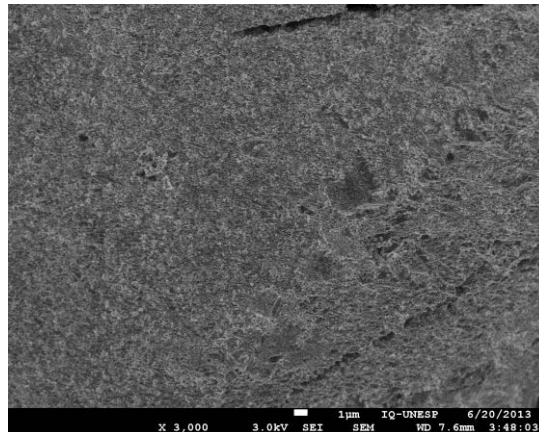


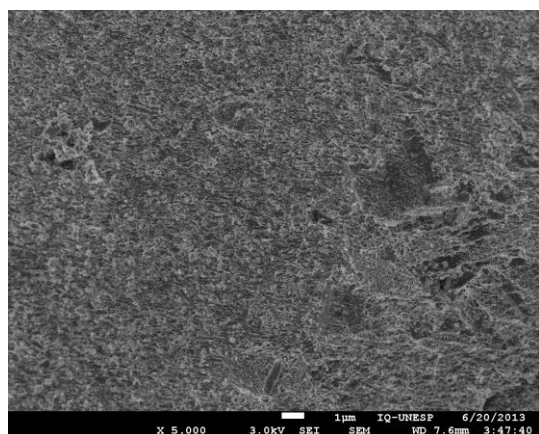
Figura A7 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos.



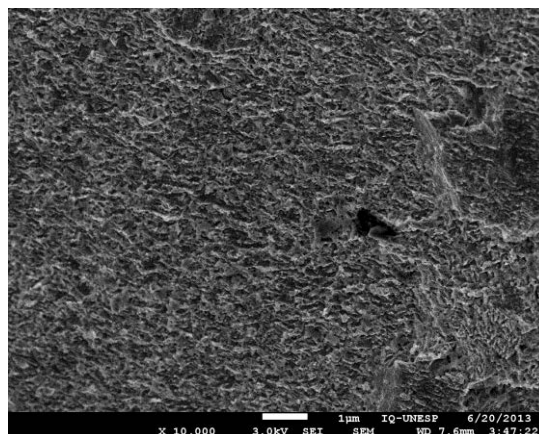
(A)



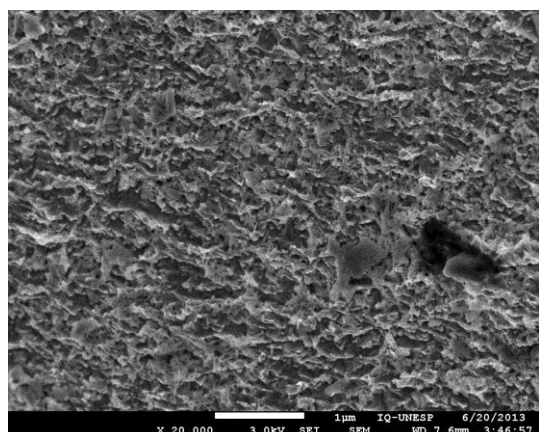
(B)



(C)

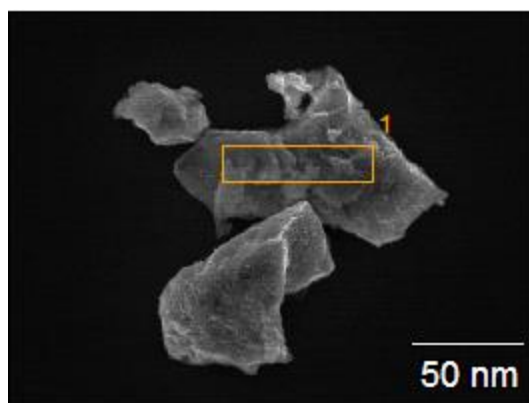


(D)

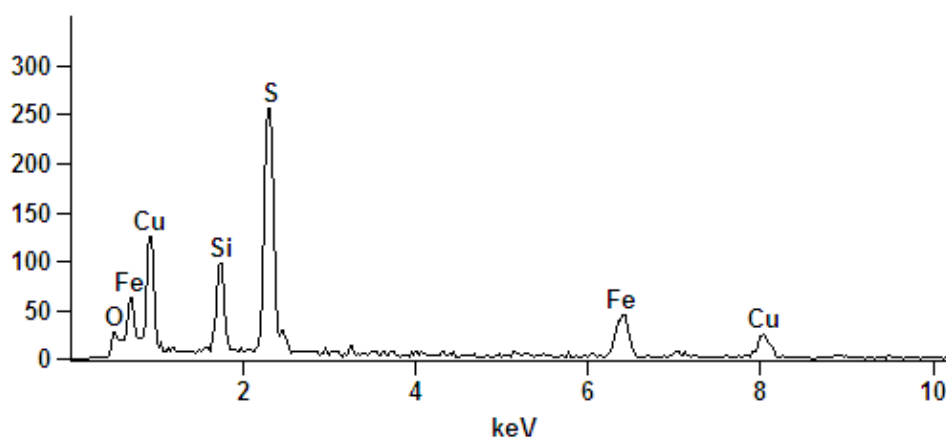


(E)

Figura A8 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos – 5000x (A) e o respectivo espectro de energia de dispersão de raios X (B).



(A)



(B)

Figura A9 – Mapas de cobre, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na ausência de íons ferrosos – 2000x.

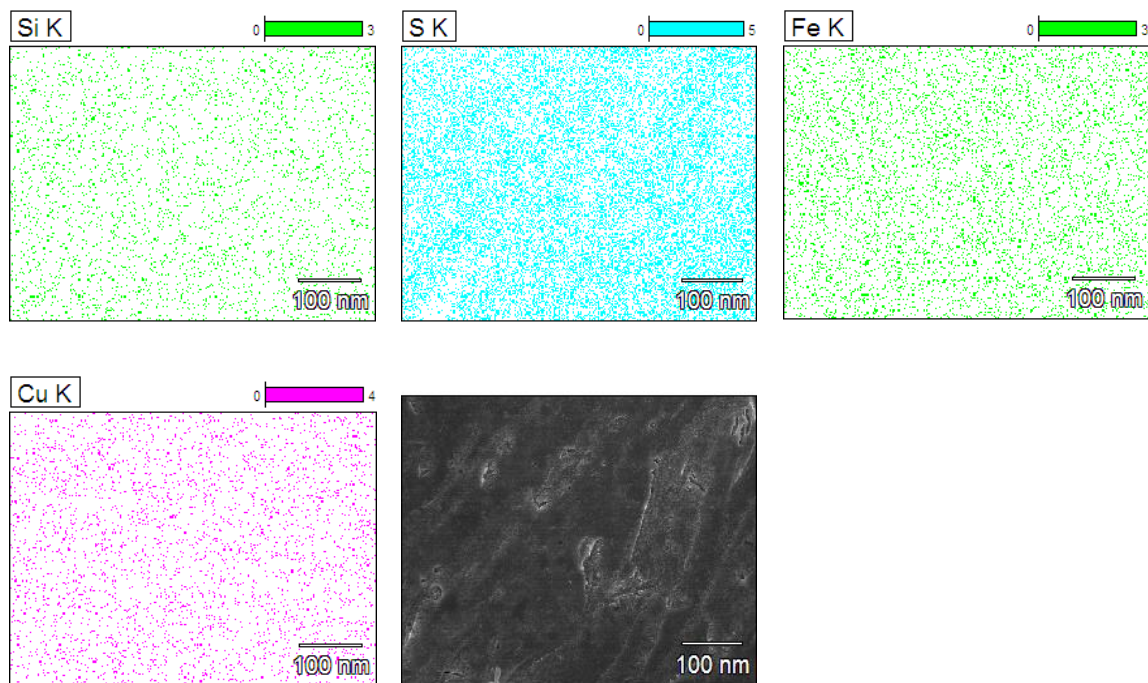
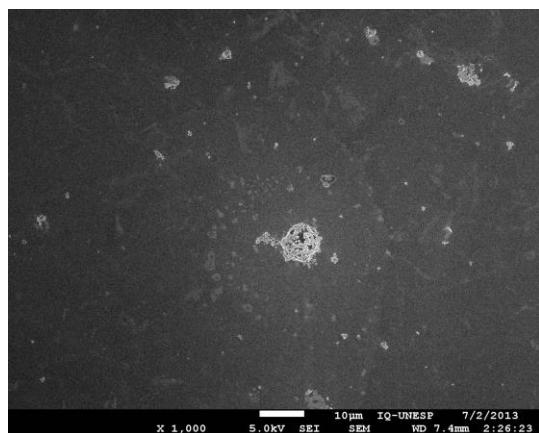
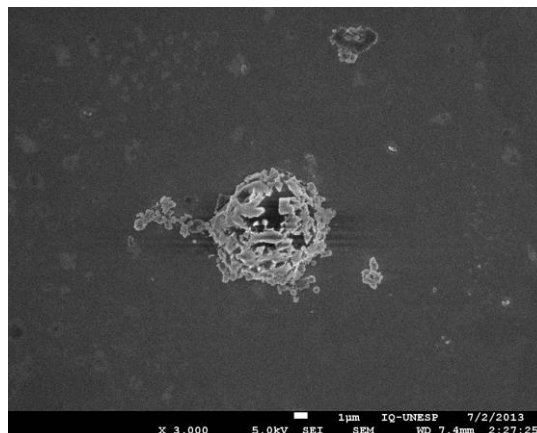


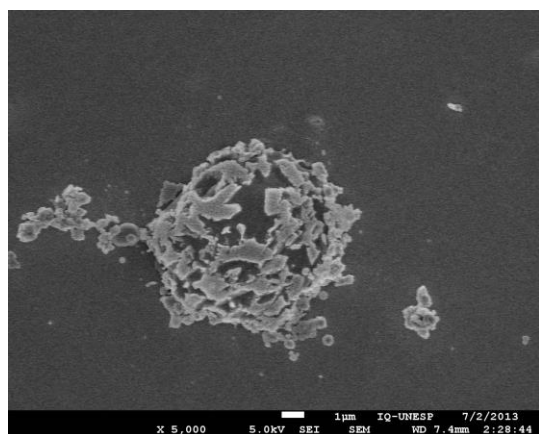
Figura A10 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 100 mmol L⁻¹ de íons ferrosos.



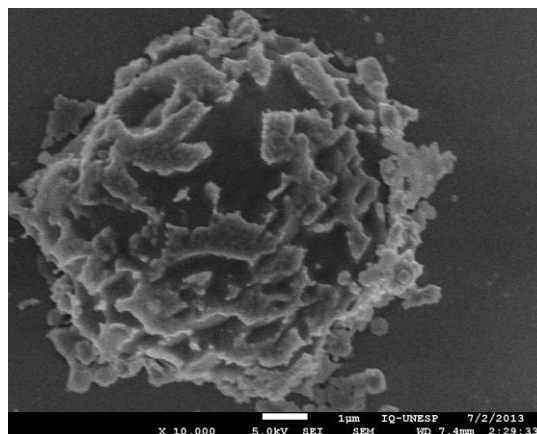
(A)



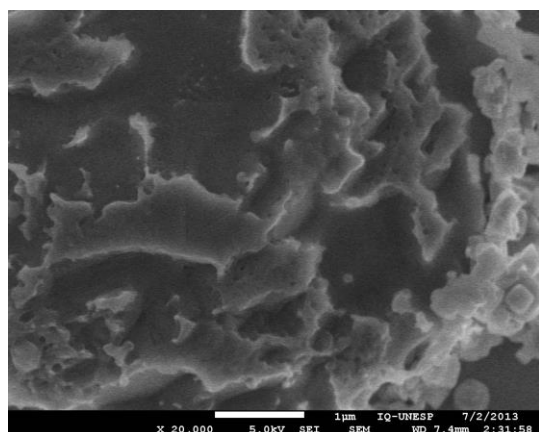
(B)



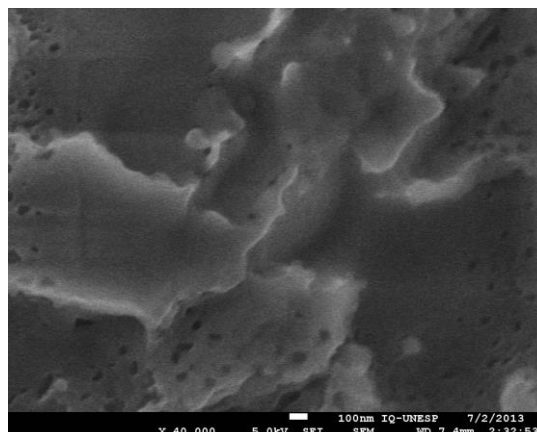
(C)



(D)

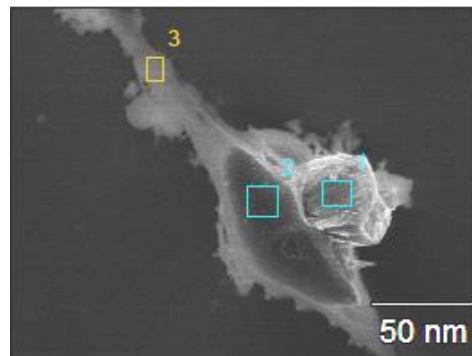


(E)

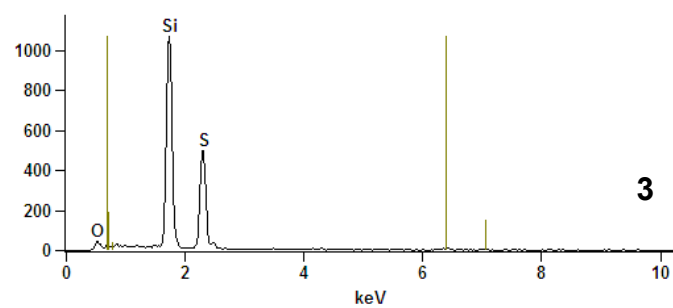
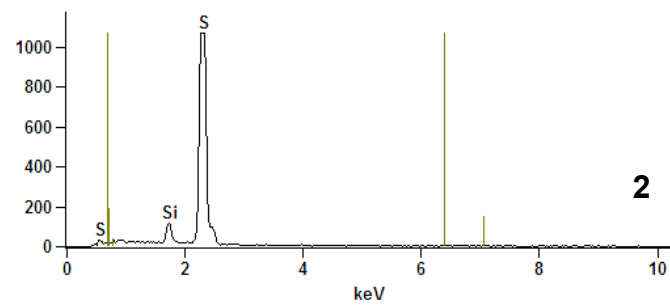
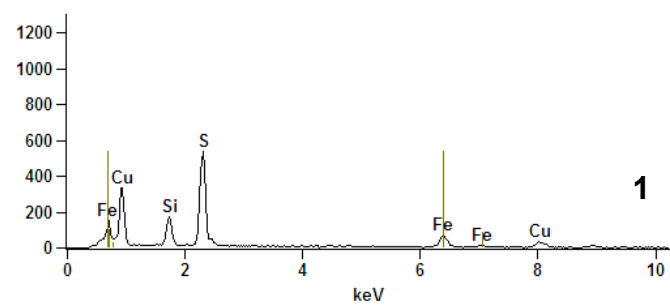


(F)

Figura A11 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 100 mmol L^{-1} de íons ferrosos – 5000x (A) e os respectivos espectros de energia de dispersão de raios X (B).

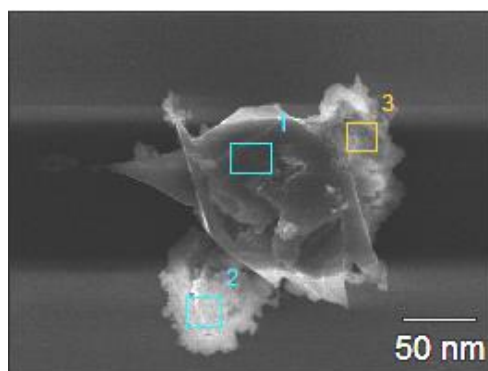


(A)

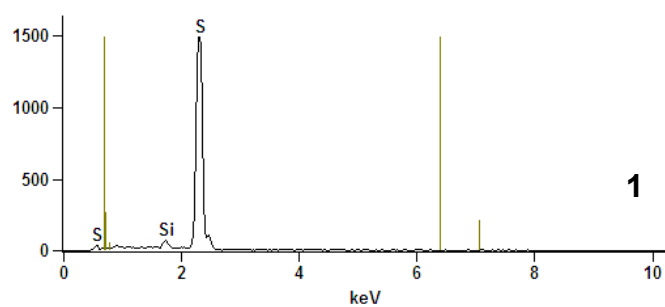
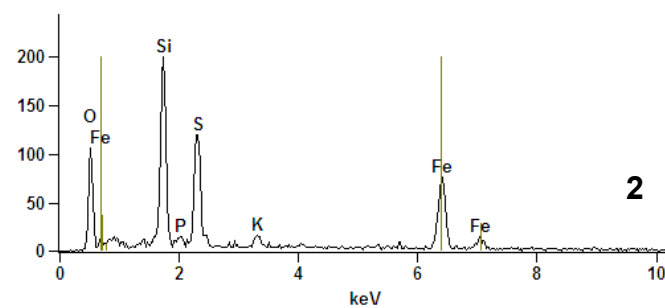
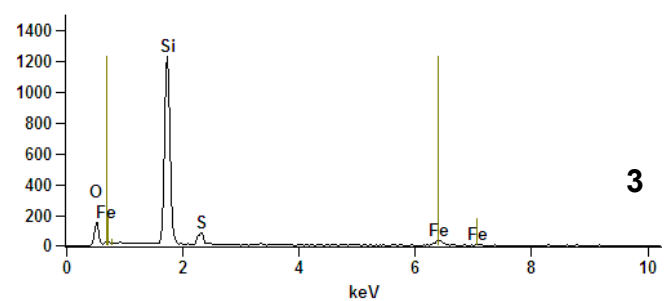


(B)

Figura A12 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 100 mmol L^{-1} de íons ferrosos – 3500x (A) e os respectivos espectros de energia de dispersão de raios X (B).

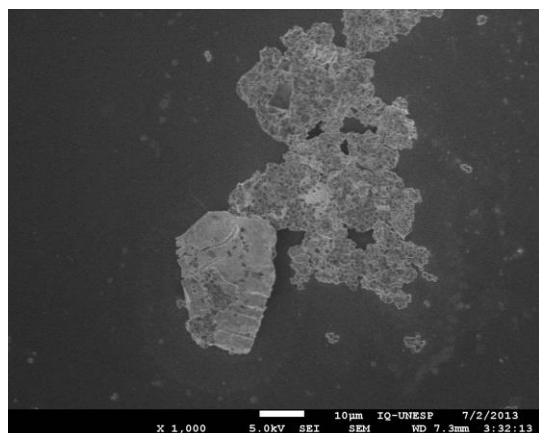


(A)

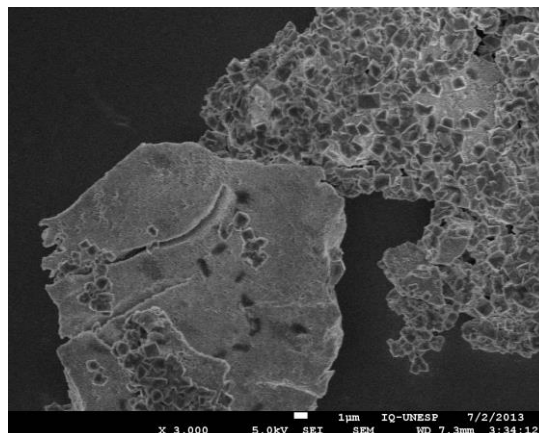
**1****2****3**

(B)

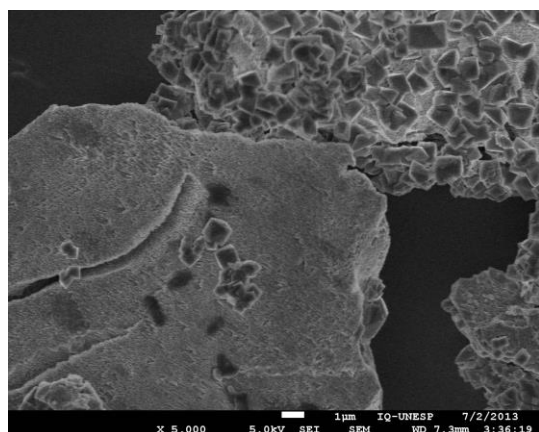
Figura A13 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 100 mmol L⁻¹ de íons ferrosos.



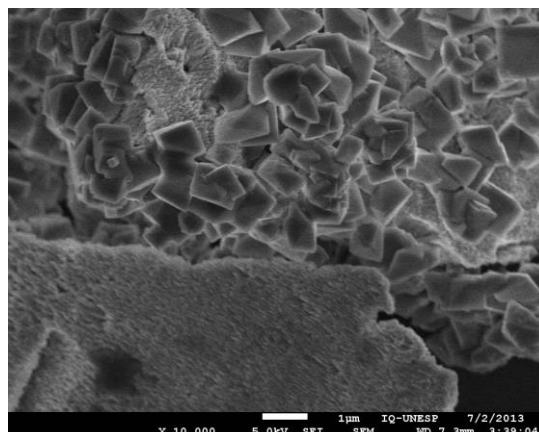
(A)



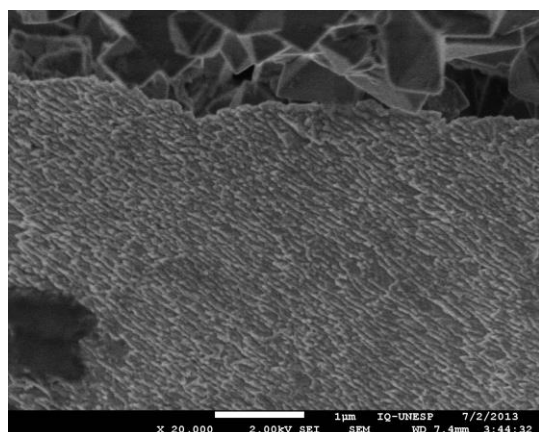
(B)



(C)



(D)



(E)

Figura A14 – Mapas de cobre, ferro, enxofre, sílica, oxigênio e potássio para o resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 100 mmol L^{-1} de íons ferrosos – 1500x.

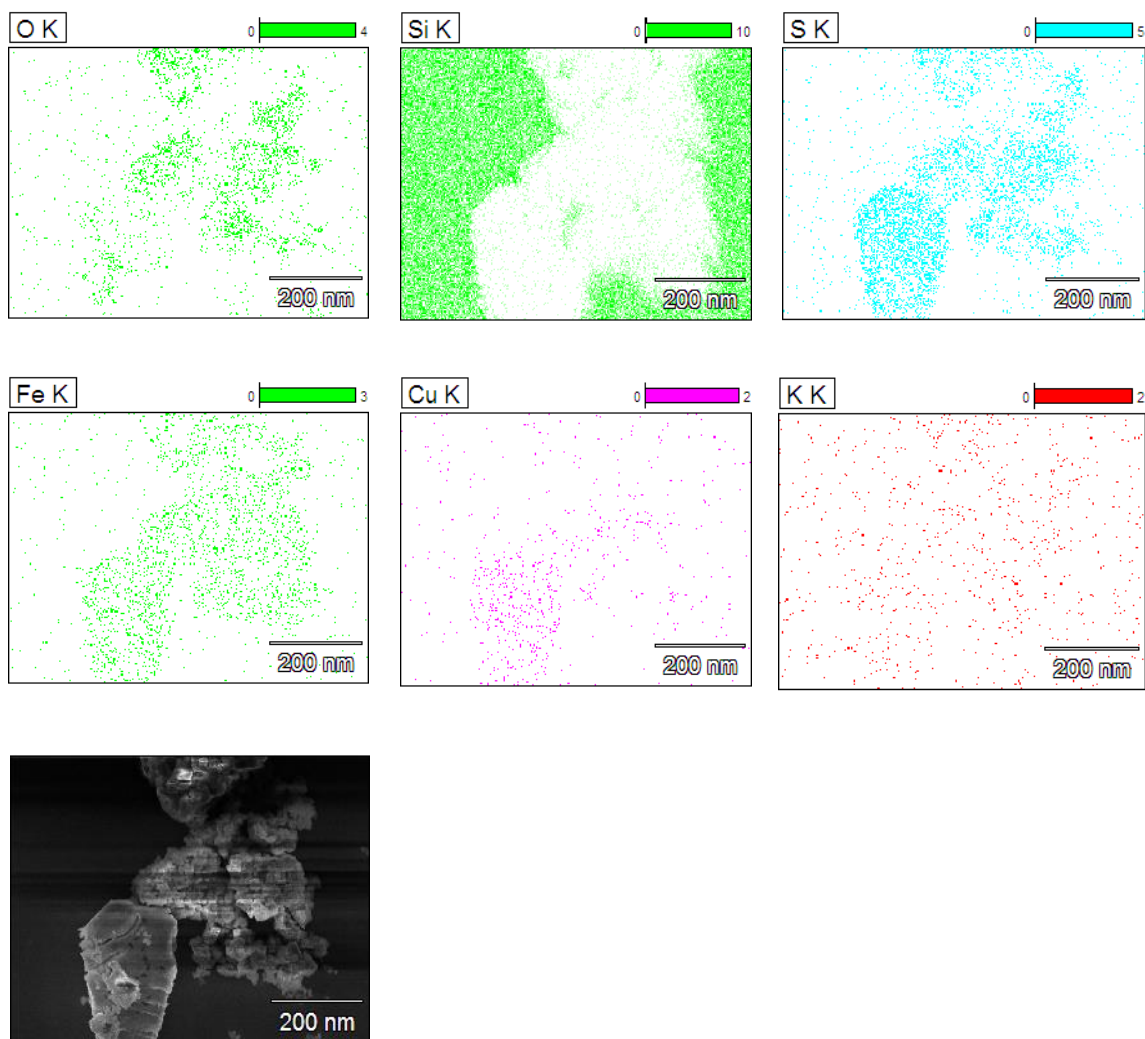
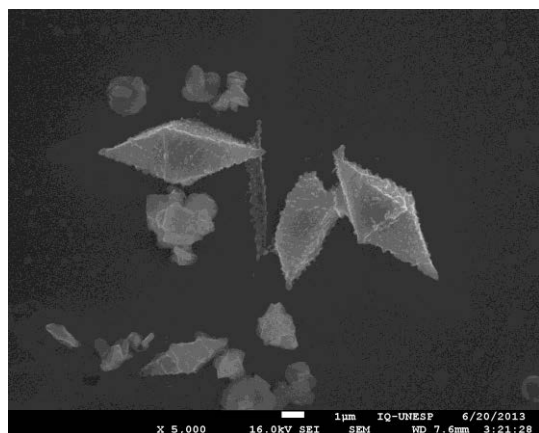
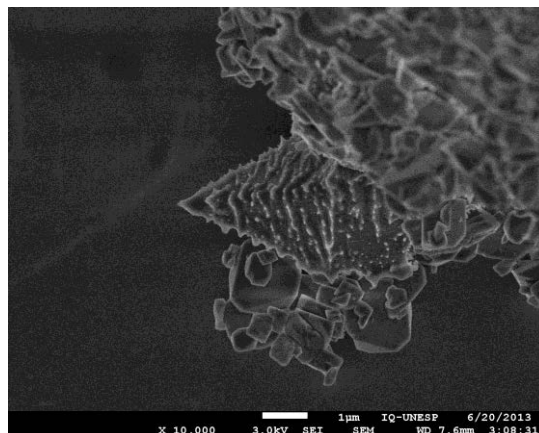


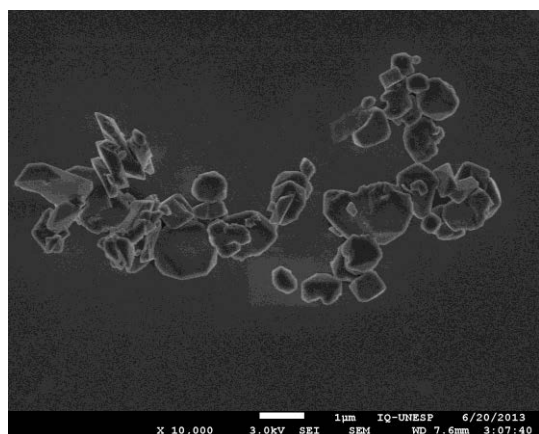
Figura A15 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 200 mmol L⁻¹ de íons ferrosos.



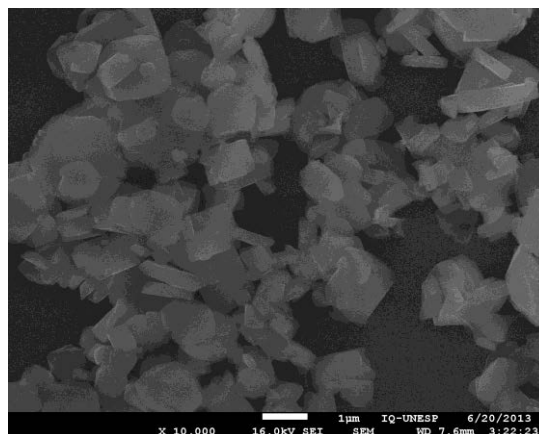
(A)



(B)

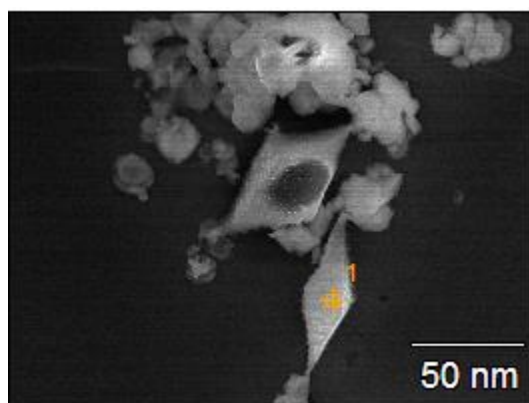


(C)

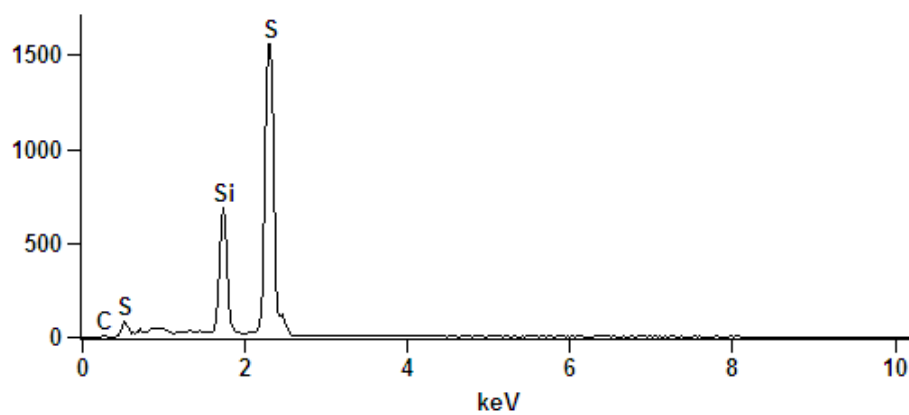


(D)

Figura A16 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 200 mmol L^{-1} de íons ferrosos – 5000x (A) e os respectivos espectros de energia de dispersão de raios X (B).



(A)



(B)

Figura A17 – Mapas de oxigênio, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 200 mmol L^{-1} de íons ferrosos – 5000x.

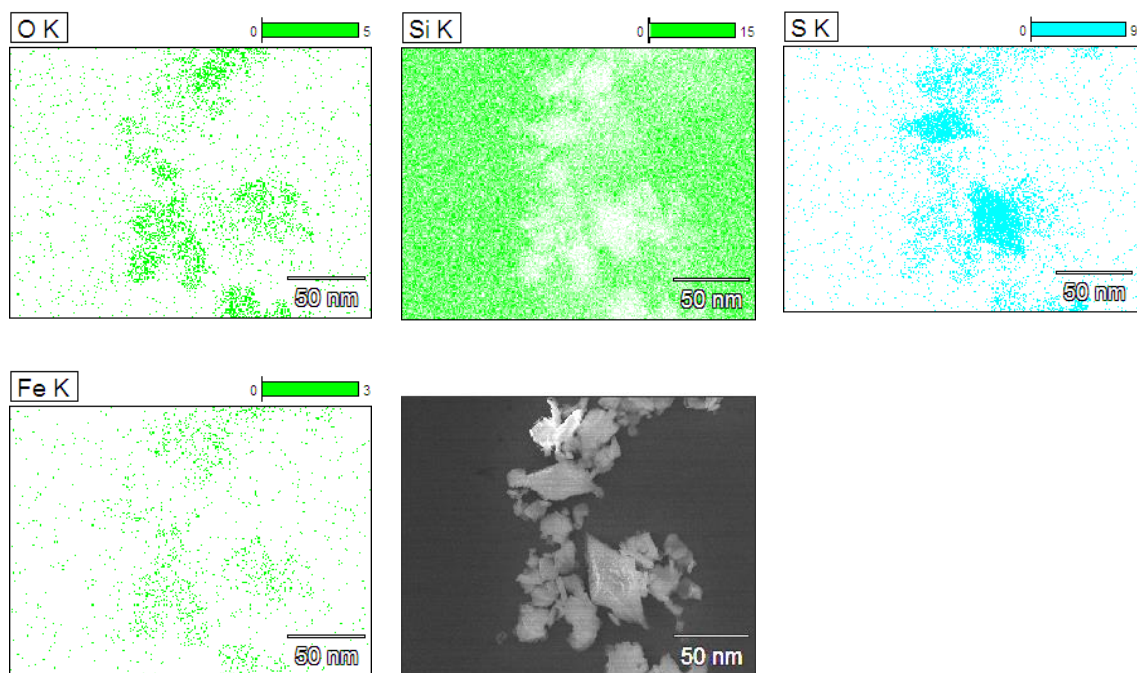
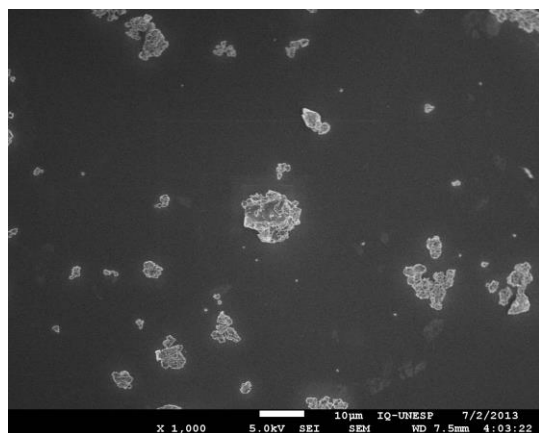
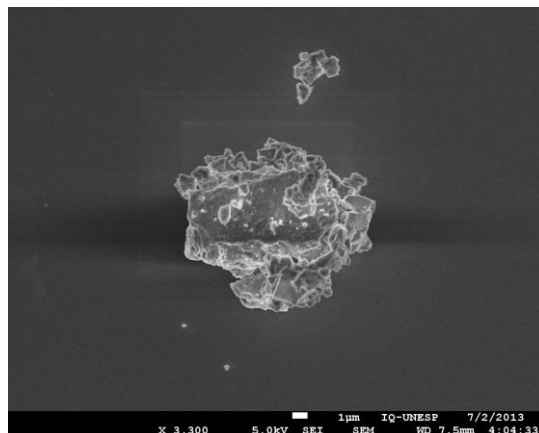


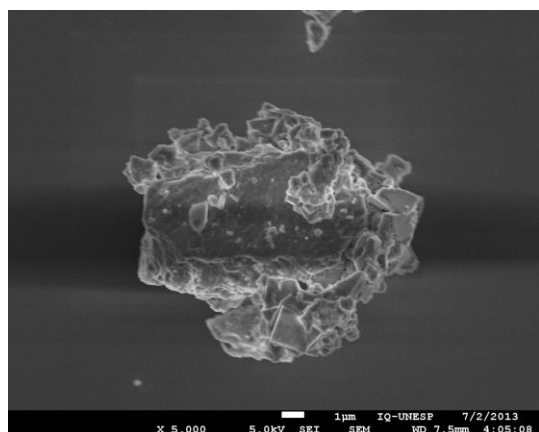
Figura A18 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 200 mmol L⁻¹ de íons ferrosos.



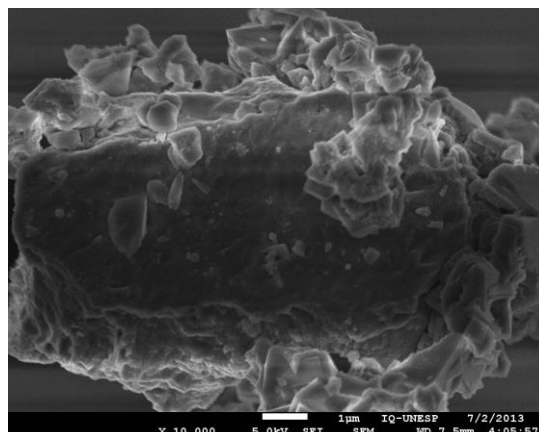
(A)



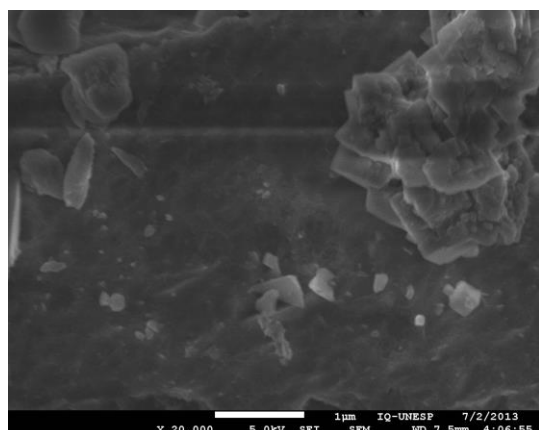
(B)



(C)



(D)



(E)

Figura A19 – Mapas de cobre, oxigênio, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 200 mmol L^{-1} de íons ferrosos – 6500x.

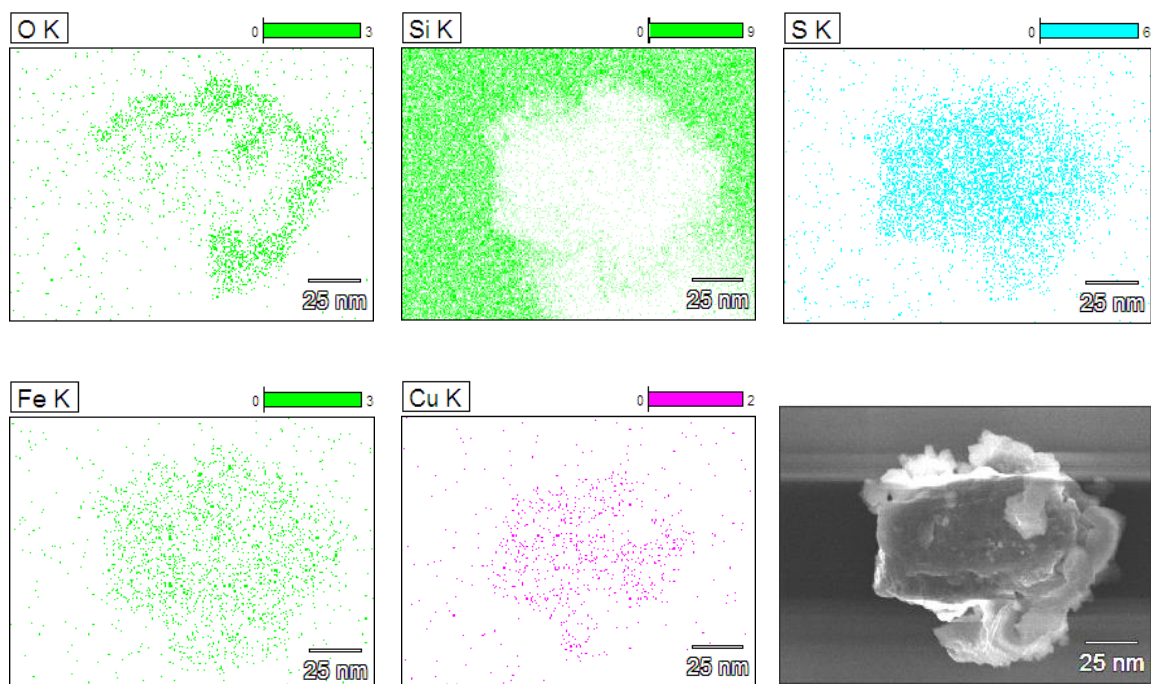
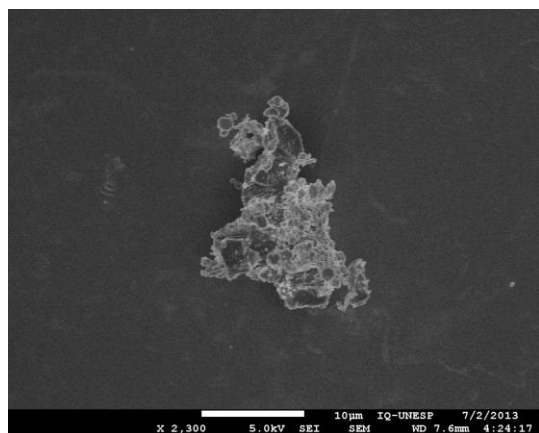
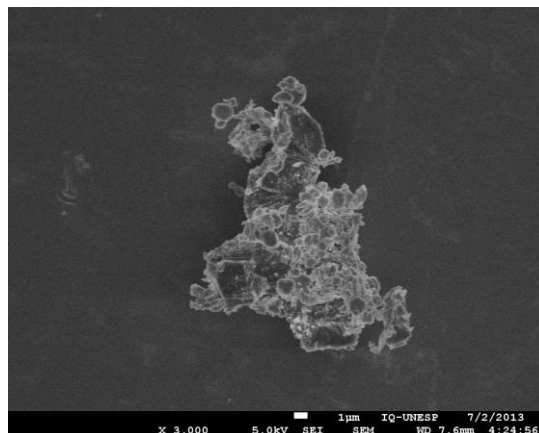


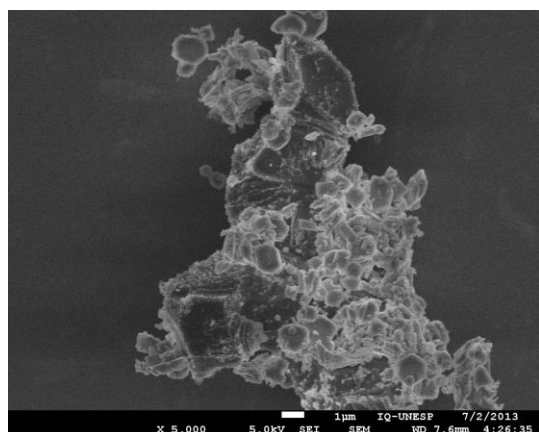
Figura A20 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L⁻¹ de íons ferrosos.



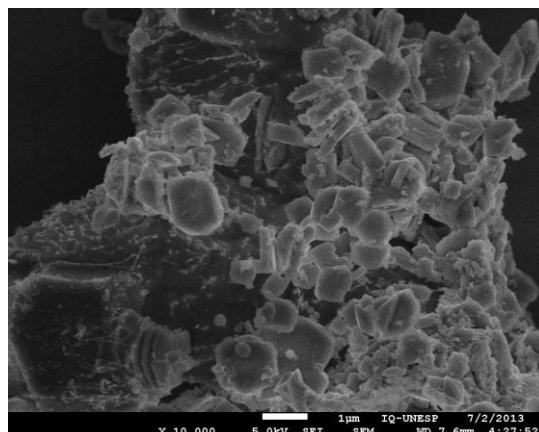
(A)



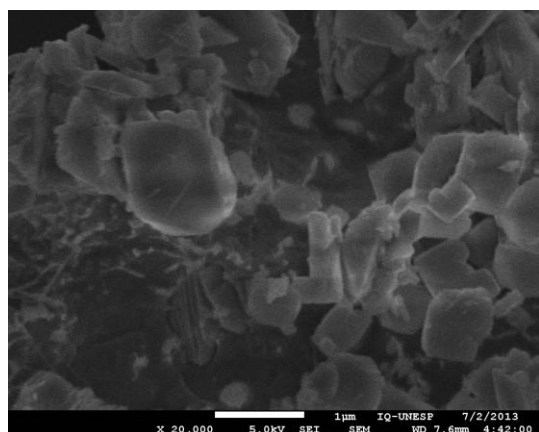
(B)



(C)

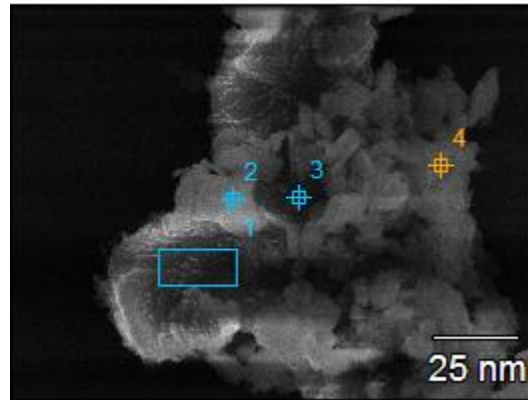


(D)

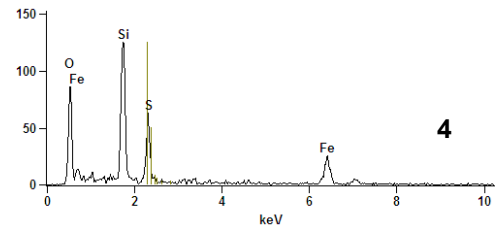
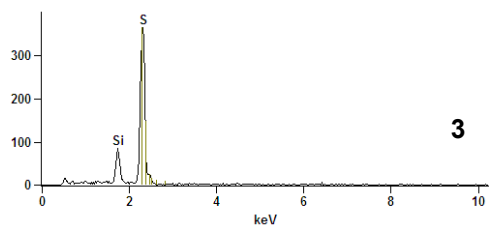
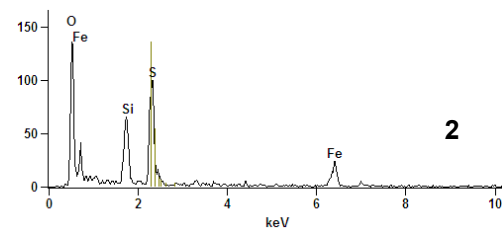
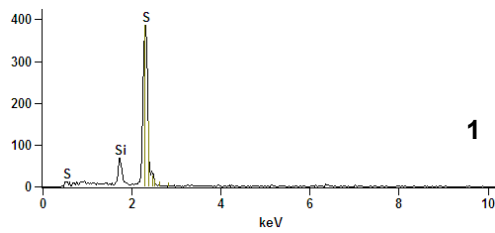


(E)

Figura A21 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L^{-1} de íons ferrosos – 7500x (A) e os respectivos espectros de energia de dispersão de raios X (B).



(A)



(B)

Figura A22 – Mapas de oxigênio, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final abiótico do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L^{-1} de íons ferrosos – 7500x.

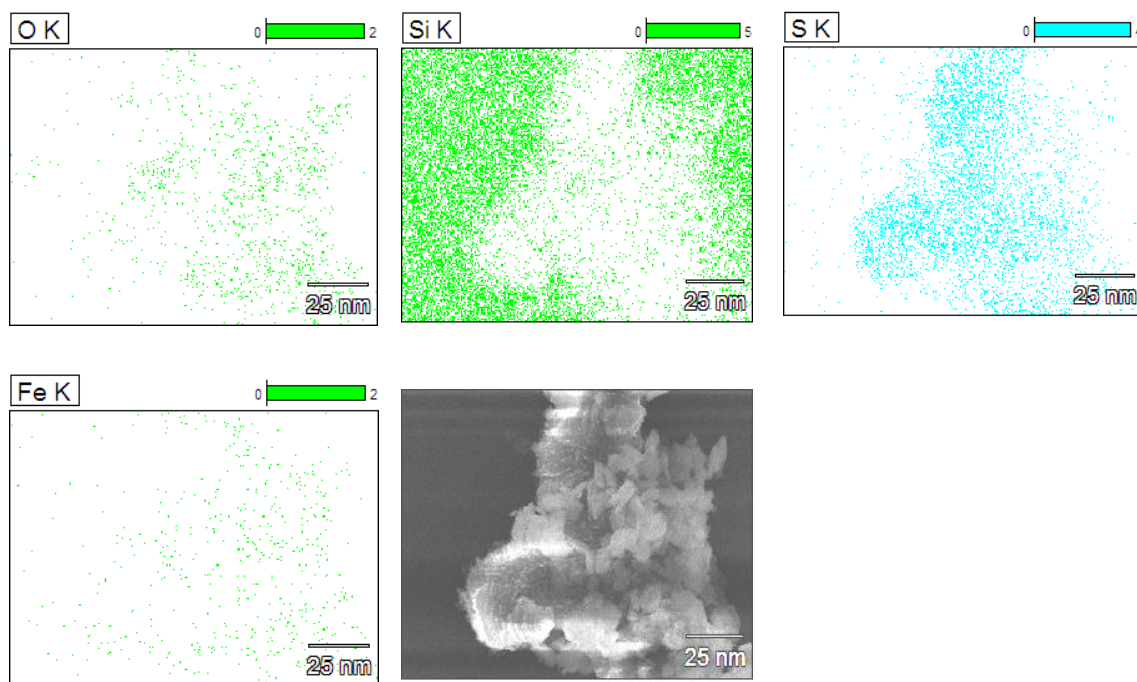
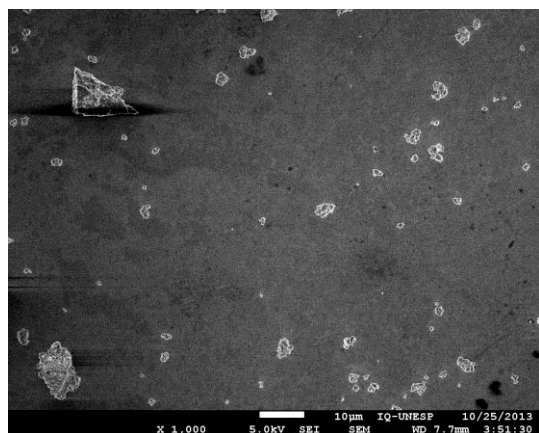
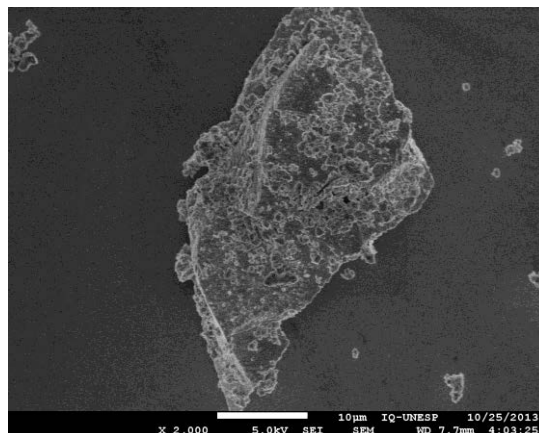


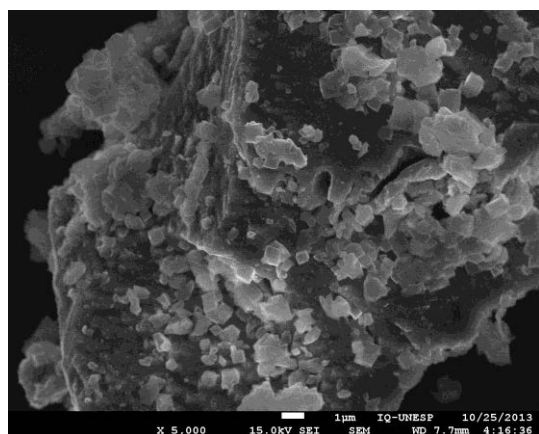
Figura A23 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L⁻¹ de íons ferrosos.



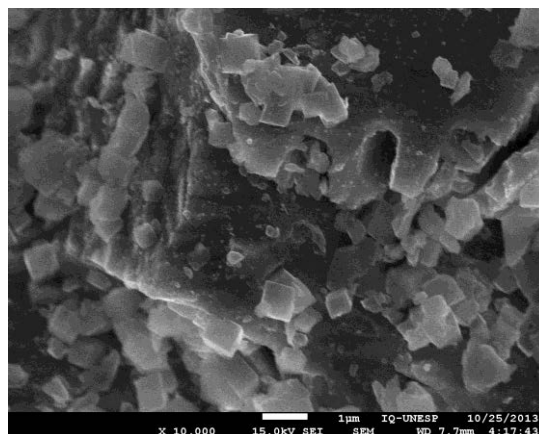
(A)



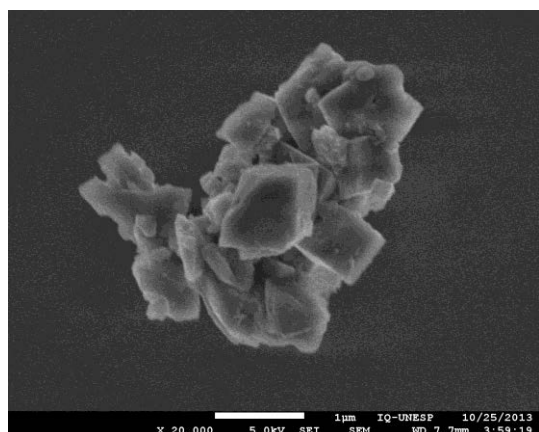
(B)



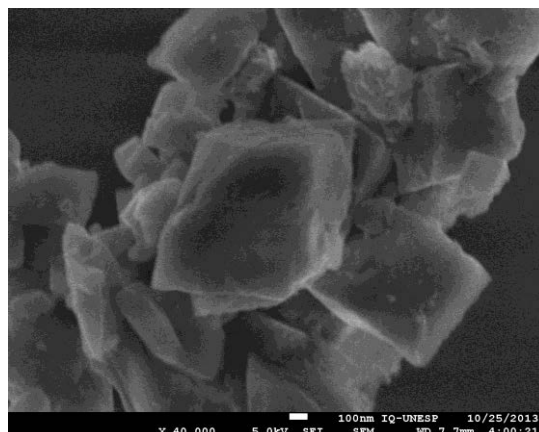
(C)



(D)

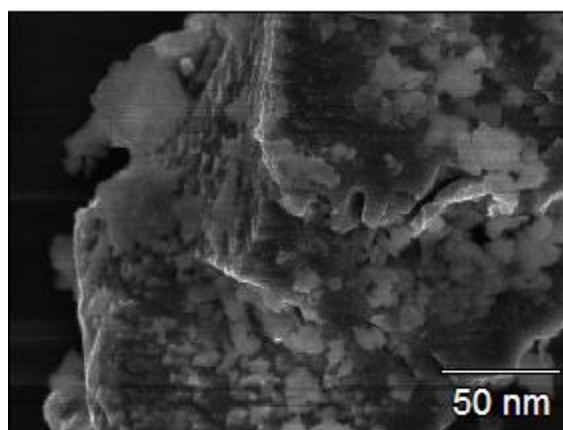


(E)

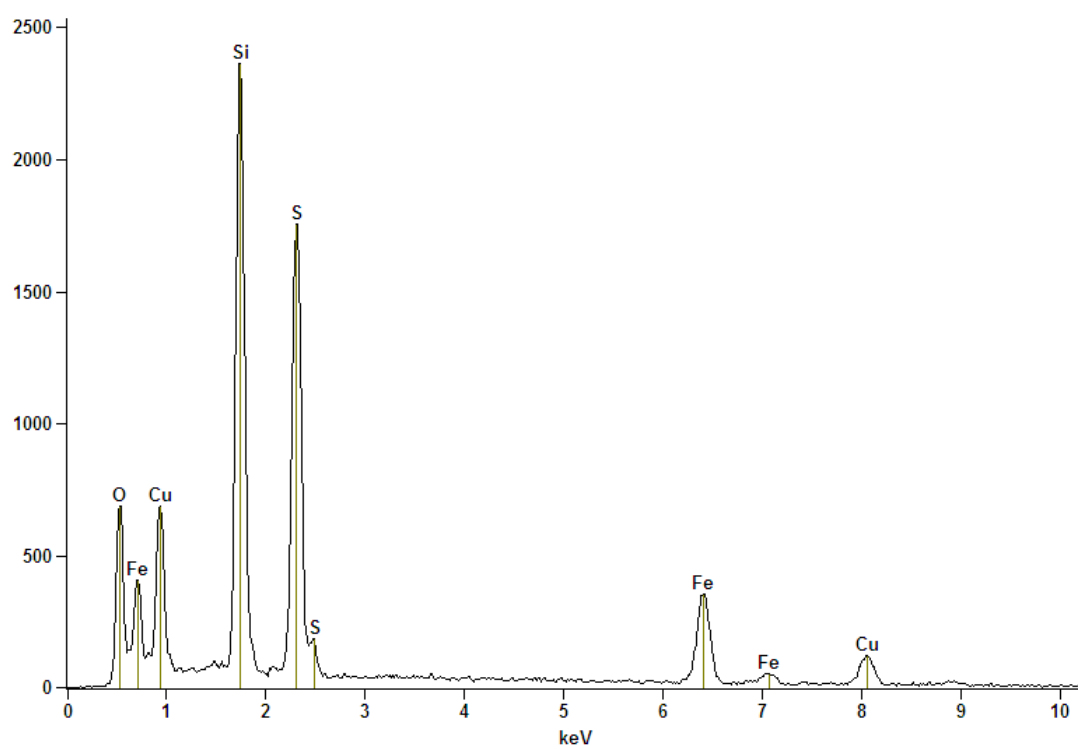


(F)

Figura A24 – Microscopia eletrônica de varredura do resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L^{-1} de íons ferrosos – 5000x (A) e os respectivos espectros de energia de dispersão de raios X (B).



(A)



(B)

Figura A25 – Mapas de cobre, oxigênio, ferro, enxofre, sílica para o resíduo final inoculado do ensaio de biolixiviação na presença de 300 mmol L^{-1} de íons ferrosos – 5000x.

