



**UNESP-UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**CAMPUS DE ARARAQUARA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ESTUDOS FÍSICO-QUÍMICOS E DE LIXIVIAÇÃO DE CALCOPIRITA  
(CuFeS<sub>2</sub>) POR *ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS***

**FABIANA ANTONIA ARENA**

**ORIENTADOR: Prof.Dr.Oswaldo Garcia Júnior**  
**CO-ORIENTADORA: Profa. Dra.Denise Bevilaqua**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**2010**

**FABIANA ANTONIA ARENA**

**ESTUDOS FÍSICO-QUÍMICOS E DE LIXIVIAÇÃO DE CALCOPIRITA  
(CuFeS<sub>2</sub>) POR *ACIDITHIOBACILLUS FERROOXIDANS***

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

**Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Garcia Júnior**

**Co-orientadora: Dra. Denise Bevilaqua**

**Araraquara-SP**

**2010**

FICHA CATALOGRÁFICA

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A681e | <p>Arena, Fabiana Antonia</p> <p>Estudos físico-químicos e de lixiviação de calcopirita (<math>\text{CuFeS}_2</math>) por <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> / Fabiana Antonia Arena. – Araraquara : [s.n], 2010</p> <p>103 f. : il.</p> <p>Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química</p> <p>Orientador: Oswaldo Garcia Júnior</p> <p>Co-orientador: Denise Bevilaqua</p> <p>1. Química tecnológica. 2. Biolixiviação . 3. Lixiviação bacteriana. 4. Cloreto. I. Título.</p> |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

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

## **DADOS CURRICULARES**

### **FABIANA ANTONIA ARENA**

#### **1. Dados Pessoais**

Nascimento: 12 de junho de 1983

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Araraquara-SP

Filiação: Aparecido Antonio Arena e Zelina Jeronymo Arena

Estado civil: solteira

Profissão: Química

Documento de identidade: 34082256-9 SSP/SP

Cadastro de Pessoa Física: 297.806.128-66

Endereço: Av. Paschoal Acorinta, 68 Jardim das Estações

CEP: 14810-328 Araraquara - SP

e-mail: fabiana.arena@terra.com.br

#### **2. Formação Acadêmica/Titulação**

##### **2.1. Graduação**

Bacharel em Química pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Química, Araraquara-SP, concluído em 8 de dezembro de 2007.

Título da Monografia: “Comportamento químico e eletroquímico da calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) na presença de *Acidithiobacillus ferrooxidans*”

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Garcia Júnior

##### **2.2. Pós graduação-Estágio no exterior**

Realização de parte do mestrado na Escola de Engenharia Bioquímica da Pontifícia Universidade Católica de Valparaíso (Chile) dentro do programa Bioprocessos-Tecnologias Limpas para a Proteção e Sustentabilidade do Meio Ambiente, BIOPROAM, do programa ALFA da União Européia. Tal estágio teve

duração de seis meses e permitiu a participação como aluna ouvinte de duas disciplinas do curso de pós-graduação em Engenharia Bioquímica da Pontifícia Universidade Católica de Valparaíso(Chile): Cinética de Bioprocessos e Biorreatores. Tais disciplinas foram de grande importância para execução das etapas posteriores do trabalho de mestrado.

### **3. Produção bibliográfica**

#### **3.1. Artigo publicado**

3.1.1. BEVILAQUA, D.; ACCIARI, H. A.; ARENA, F. A.; BENEDETTI, A. V.; FUGIVARA, C. S.; TREMILOSI-FILHO, G.; GARCIA JÚNIOR, O. Utilization of electrochemical impedance spectroscopy for monitoring bornite( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Minerals Engineering** v.22, p.254-262, 2009.

#### **3.2. Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)**

3.2.1. ARENA, F. A.; BENEDETTI, A. V.; ACCIARI, H. A.; BEVILAQUA, D.; HORTA, D. G.; GARCIA JÚNIOR, O. “Estudo comparativo do comportamento voltamétrico dos sulfetos metálicos bornita, calcopirita e covelita” In: 20° SBQ – Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia-SP.

3.2.2. ARENA, F. A.; GARCIA JÚNIOR, O.; BENEDETTI, A. V.; BEVILAQUA, D.; ACCIARI, H. A.; HORTA, D. G. “Estudo do comportamento eletroquímico da bornita( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) utilizando-se eletrodo de pasta de carbono (CPE)” In: XVI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica. , 2007, Águas de Lindóia-SP.

3.2.3. ARENA, F. A.; GARCIA JÚNIOR, O.; BEVILAQUA, D.; ACCIARI, H. A.; HORTA, D. G. “Study of the electrochemical behavior of bornite ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) using a carbon paste electrode (CPE)” In: Hydrocopper 2007, 2007, Viña del Mar.

### **4. CURSOS/TREINAMENTOS**

4.1. 2ª Escola de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica: aplicação em dispositivos nanoestruturados, 2010, Araraquara.

**4.2.** Workshop sobre Biossensores: Receptores e Transdutores, 2009, Araraquara.

**4.3.** Curso Internacional Intensivo de Geomicrobiologia em depósitos minerais, operações de biolixiviação e gestão de resíduos de atividades de mineração. 2008 Concepción, Chile.

**4.4.** Curso de Treinamento do Programa Corel Draw, 2006, Araraquara.

## **5. PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS**

**5.1.** Ministrante na IV Semana Acadêmica de Química, no mini-curso “Empreendedorismo e Possibilidade de Negócios em Química” promovido pelo Centro Acadêmico de Química da Universidade Federal de Lavras, 2007.

**5.2.** Apresentação de Poster / Paineis no Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2007. “Estudo do comportamento eletroquímico da bornita ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) utilizando-se eletrodo de pasta de carbono (CPE)”.

**5.3.** Encontro das Empresas Juiiores da UNESP com a PROEX, 2007

**5.4.** Apresentação de Poster/Painel no CIC-Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2006. “Estudo do comportamento eletroquímico da bornita utilizando eletrodo de pasta de carbono(CPE)”.

**5.5.** IV Workshop de Empresas Juniores, 2006, Ribeirão Preto.

**5.6.** Empreendedorismo, 2006. (Oficina)

**5.7.** II Dia do Químico, 2006. (Encontro)

**5.8.** Marketing Pessoal, 2006. (Oficina)

**5.9.** Tópicos Especiais: Mineralogia de Processos de Biooxidação e Biolixiviação de Sulfetos Metálicos, 2006. (Outra)

**5.10.** III TEJ (Treinamento Empresarial Júnior): Planejamento de Vida com duração de 8h30min(28/01/05), 2005.

**5.11.** IV TEJ (Treinamento Empresarial Júnior):Gestão de Qualidade com duração de 8h (12/10/2005), 2005.

**5.12.** Consultoria em Empresas Juniores, 2005.

**5.13.** Terceiro Encontro das Empresas Juniores da UNESP realizado nos dias 5, 6 e 7/11/2004, 2004.

**5.14.** Curso Tools - MS Project Microsoft, 2004

*Dedico essa dissertação a Deus e aos meus pais  
que me proporcionaram mais essa oportunidade  
de crescimento pessoal e profissional.*



## AGRADECIMENTOS

*Ao Prof. Dr. Oswaldo Garcia Júnior e a Dra. Denise Bevilaqua pela oportunidade, orientação e confiança de todas as horas.*

*Ao Prof.Dr.Assis Vicente Benedetti ao qual devo admiração e respeito pelo profissionalismo e comprometimento inigualáveis*

*Aos professores Dr.Juan Carlos Gentina e Dr.Fernando Acevedo pela orientação, dedicação e hospitalidade durante minha passagem pela Escola de Engenharia Bioquímica da PUC-Valparaíso-Chile*

*À Deus por ter me dado saúde e todas as condições para bem realizar esse trabalho*

*Aos meus pais e as minhas irmãs Luciana e Fátima por estarem sempre ao meu lado*

*Ao Andrey que sempre me apoiou e incentivou em todos os momentos dessa caminhada*

*As minhas sobrinhas Júlia, Gabriela, Ana Luisa, Natália e Talita por todo apoio*

*Aos meus amigos Jorge, Daniela, Wanessa, Douglas, Jéssica, Carol, Juliana, Ana Paula, Fernanda, Marina, Heloísa e Tina pelo apoio e auxílio de todas as horas*

*Aos colegas do laboratório de Biohidrometalurgia (Alexandra, Ana Elisa, Bruna, Daniel, Sofia, Gustavo, Maurício, Marcelo, Renata, Cebinho e Robson) e colegas do GEMAT (Grupo de Eletroquímica e Materiais)*

*Aos amigos e funcionários da Escola de Engenharia Bioquímica da PUC-Valparaíso (Dina, Araceli, Romina, Silvana, Carola, Lorena, Pedro, Eduardo, Aline, Ricardo, Eric, Osmar, Mônica e Rosita)*

*Aos amigos Francisco José dos Santos, Watson Beck Júnior e ao Prof.Dr.Miguel Jafelicci Júnior do Laboratório de Materiais Magnéticos e Colóides deste Instituto*

*Às professoras Dra. Hebe de las Mercedes Villullas e Dra.Maria Aparecida Zaguete Bertochi que gentilmente emprestaram equipamentos necessários para realização de parte deste trabalho*

*Aos funcionários Robson e Ricardo(didático-analítica), Zilda(didático-bioquímica), Maria Helena (Físico-Química), Silvio e Abrahão(manutenção) e Paulo(vidraria) que contribuíram com esse trabalho através dos serviços prestados com a dedicação e amizade de sempre.*

*A CNPq e a Companhia “Vale” pelo apoio financeiro*

*“Combati o bem combate, completei a corrida,  
gardeis a fé” (2Tm 4, 7)*

## RESUMO

A mineração é um dos segmentos mais importantes da economia por estar diretamente relacionada à obtenção de metais de base destinados a diversos tipos de indústrias. No entanto, os resíduos da atividade mineralógica tem se tornado um crescente problema ambiental, principalmente quando os mesmos são sulfetos minerais altamente refratários. A calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) é um dos sulfetos minerais de baixo teor mais abundantes na natureza devido à sua elevada refratariedade, ocasionada por motivos ainda controversos na literatura. Dentre as várias razões propostas para a refratariedade da calcopirita destacam-se a formação de camadas de enxofre e jarositas (precipitados de ferro) durante a oxidação da mesma.

A recuperação de cobre a partir da calcopirita pode ser alcançada com sucesso através dos processos pirometalúrgicos convencionais. No entanto, os mesmos apresentam desvantagens relacionadas ao alto custo e a poluição ambiental. Dentro desse contexto, surge a biolixiviação que é um processo de recuperação de metais ambientalmente amigável através do qual o sulfeto mineral é dissolvido pela ação de bactérias capazes de utilizá-lo como fonte energética para suas atividades metabólicas. A principal bactéria envolvida nos processos de biolixiviação é a *Acidithiobacillus ferrooxidans* capaz de utilizar sulfetos minerais como fonte energética e oxidar íons ferrosos a férricos (outro potencial oxidante de sulfetos minerais). Outra bactéria importante é a *Acidithiobacillus thiooxidans* capaz de utilizar enxofre elementar como fonte energética sendo, portanto, interessante para utilização em consórcios com a *A. ferrooxidans*. Nos ensaios de biolixiviação também podem ser empregados agentes capazes de acelerar ou melhorar o processo de dissolução de sulfetos minerais. Dentre esses agentes merecem destaque os íons cloreto, capazes de modificar a camada de enxofre elementar formada durante a oxidação da calcopirita, e o ácido cítrico, capaz de complexar a jarosita também formada durante o processo.

No presente trabalho foram realizados ensaios de lixiviação em biorreatores e frascos agitados utilizando um concentrado de flotação de calcopirita. No ensaio com frascos agitados foram feitas adições sucessivas de íons cloreto através de incrementos de 0,05 ou 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A porcentagem de recuperação de cobre foi baixa para ambos os ensaios, porém estudos eletroquímicos dos resíduos sólidos gerados pelo ensaio de lixiviação em frascos mostraram alterações na camada de enxofre formada durante a oxidação da calcopirita. Tais alterações foram observadas para o frasco com uma mistura de *Acidithiobacillus ferrooxidans*/ *Acidithiobacillus thiooxidans* que sofreu três adições sucessivas de incrementos de 0,05 mol L<sup>-1</sup> de íons cloreto.

Estudos da ação dos íons cloreto na superfície da calcopirita também foram realizados através de análises de ruído eletroquímico. Tais análises permitiram verificar que os íons cloreto, adicionados em incrementos de 0,02 mol L<sup>-1</sup>, causam perturbações ao sistema que podem ser mantidas quando se adiciona a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* após 90h do início do ensaio, quando a concentração de cloreto alcançou 0,06 mol L<sup>-1</sup>.

A superfície da calcopirita foi estudada no presente trabalho através de medidas de ângulo de contato que permitiram verificar, dentre os líquidos comumente empregados nos ensaios de lixiviação, quais interagem mais favoravelmente com a calcopirita. Também foi realizada uma tentativa de estudo das cargas presentes na superfície da calcopirita através de medidas de potencial zeta em meios com sulfato e com cloreto.

Finalmente, foi feito um estudo químico do potencial redox do par Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup> em condições comuns aos ensaios de biolixiviação, ou seja, na presença de íons cloreto, calcopirita e íons cúpricos.

Palavras-chave: Calcopirita. Biolixiviação. Cloreto. Eletroquímica. Superfície.

## ABSTRACT

The mining is one of the most important economic activities because it is directly related with the recovery of base metals destined to several kinds of industry. This is the case of chalcopyrite ( $\text{CuFeS}_2$ ) the most abundant sulfide mineral present in the nature due to its high refractory, the reasons of the low dissolution rate for chalcopyrite are not convergent in the literature but a lot of experimental evidences show the formation of elemental sulfur and jarosites (iron precipitates) during the oxidation of this mineral sulfide.

The copper recovery from chalcopyrite can be easily attained utilizing conventional mining processes but it can have disadvantages related with the high costs and environmental pollution. In this context, the bioleaching, is an environmentally friendly process that uses micro-organisms to recover metals from low grade mineral ores. The main microorganism involved in bioleaching is the bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* that can use mineral ores as energy source and can oxidize  $\text{Fe}^{2+}$  to  $\text{Fe}^{3+}$  (another potential oxidant of mineral sulfides). Another important bacteria is *Acidithiobacillus thiooxidans* that have the capacity of utilize elemental sulfur as energy source, being interesting to act in consortia with *A. ferrooxidans*.

In the bioleaching experiments it can be employed agents capable to accelerate or improve the dissolution of mineral sulfides. Among these agents deserve distinction the chloride ions capable of changing the sulfur layer formed during the chalcopyrite oxidation and the citric acid able of complex the jarosite formed during the process.

In the present work leaching experiments in bioreactors and stirring flasks was done utilizing a chalcopyrite flotation concentrate. In the stirring flasks experiments were done successive addictions of chloride ions through increments of 0.05 or 0.1 mol  $\text{L}^{-1}$ . The copper recovery percentage was low in both experiments but electrochemical studies of solids residues from the stirring flasks experiment showed changes in the sulfur layer probably formed during chalcopyrite oxidation process. This change was specifically observed in the flask with a mixture of *Acidithiobacillus ferrooxidans*/ *Acidithiobacillus thiooxidans* in which was done three addictions of chloride ions in increments of 0.05 mol  $\text{L}^{-1}$ .

The chloride action in the chalcopyrite surface was also studied by electrochemical noise analysis. This study showed that chloride ions, added in increments of  $0.02 \text{ mol L}^{-1}$ , can perturb the system and it can be sustained when the *Acidithiobacillus ferrooxidans* bacteria was added 90 h before the assay start, when the chloride concentration was  $0.06 \text{ mol L}^{-1}$ .

Chalcopyrite surface was studied by contact angle measurements that allowed verifying, among the liquids commonly used in bioleaching experiments, which of them can interact more favorably with chalcopyrite. It was also realized zeta potential measurements in sulfate and chloride medium as an attempt to study the charges present in the chalcopyrite surface.

Finally, it was done a chemical study of redox potential of  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  couple in conditions common to bioleaching experiments, in other words, presence of chloride ions, chalcopyrite and cupric ions.

Keywords: Chalcopyrite. Bioleaching. Chloride. Electrochemistry. Surface.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Cotação do preço de cobre em dólares de julho de 2009 a abril de 2010. 21
- Figura 2** - Imagem das minas de Spence, Escondida e Cerro Colorado, localizadas ao norte do Chile. 22
- Figura 3** - Configurações dinâmicas utilizadas em escala laboratorial onde (A) representa um frasco agitado e (B) representa um biorreator. 26
- Figura 4** - Representação esquemática de três sistemas distintos de aeração para colunas de biolixiviação. 27
- Figura 5** - Imagens de microscopia eletrônica de varredura de amostras maciças de calcopirita: a) e b) *A.ferrooxidans*, c) e d) *A.ferrooxidans* + cloreto. Algumas bactérias estão indicadas com setas (LAHTI, 2009). 32
- Figura 6** - Esquema do mecanismo do tiosulfato (A) e do polissulfeto (B) na biolixiviação dos sulfetos metálicos. MS-sulfeto metálico;  $M^{2+}$ -íon metálico;  $S_2O_3^{2-}$ -tiosulfato;  $S_n^{2-}$ -polissulfeto;  $S_8$ -enxofre elementar; *A.f.*, *A.t.*-reações enzimáticas promovidas por *A.ferrooxidans* e *A.thiooxidans*. 34
- Figura 7** - Modelo conceitual para a dissolução de calcopirita em 4 estágios proposto por Klauber (2008). 35
- Figura 8** - Grãos de calcopirita recobertos por jarositas aciculares e/ou amorfas (ARENA, 2007). 36
- Figura 9** - Reversibilidade da passivação da dissolução de cobre de um concentrado com controle de aeração. ( $\Delta$ ) 1M HCl + 0,5g L<sup>-1</sup> cobre (II) a 50°C e 580mV, ( $\blacktriangle$ ) 1M HCl + 0,5g L<sup>-1</sup> cobre (II) a 50°C e 650mV/550mV e ( $\blacksquare$ ) 0,2 M HCl + 0,5g L<sup>-1</sup> cobre (II) a 25°C e 650mV/550mV (VELÁSQUEZ-YÉVENES; NIKOL; MIKE, 2010). 39
- Figura 10** - Representação esquemática do CPE-calcopirita (a) e imagem obtida por Microscopia Óptica (OM) da pasta empacotada no eletrodo (b). 43
- Figura 11** - Circuito elétrico de Randles (A). Espectros de Impedância: Plano Complexo (B) e Formato de Bode (C). 49
- Figura 12** - Imagem de uma superfície de calcopirita com uma gota de meio T&K com destaque para o ângulo de contato( $\Theta$ ). 52
- Figura 13** - Representação esquemática do potencial zeta. 54

- Figura 14** - Representação esquemática da célula presente no equipamento de medidas eletroacústicas. 57
- Figura 15** - Imagem da prensa hidráulica com destaque para o pastilhador utilizado na confecção das pastilhas de calcopirita para as medidas e ângulo de contato. 69
- Figura 16** - Imagem do equipamento OCA20 utilizado para as medidas de ângulo de contato, com destaque para a plataforma de colocação das amostras e para a seringa na qual os líquidos eram inseridos. 69
- Figura 17** - Imagem do equipamento Acoustosizer II e seus principais componentes. 71
- Figura 18** - Valores de pH (●) e Eh (■) durante ensaio com cultura pura de *A.ferrooxidans*-LR. 72
- Figura 19** - Valores de concentração de ferro (II) (▲) e ferro (III) (▼) durante ensaio com cultura pura de *A.ferrooxidans*-LR. 73
- Figura 20** - Valores de pH (●) e Eh (■) durante ensaio com a mistura de culturas de *A.ferrooxidans*-LR e *A.thiooxidans*-FG01. 74
- Figura 21** - Valores de concentração de ferro (II) (▲) e ferro (III) (▼) durante ensaio com a mistura de *A.ferrooxidans*-LR e *A.thiooxidans*-FG01. 75
- Figura 22** - Valores de pH(círculos) e Eh (quadrados) para frascos inoculados com adição de íons cloretos (símbolos cheios) e sem adição de íons cloreto (símbolos vazios). **(1)** *A.f.* + 3 adições de  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{Cl}^-$ ; **(2)** *A.f.* + 2 adições de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{Cl}^-$ ; **(3)** *A.f./A.t* + 3 adições de  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{Cl}^-$ . 76
- Figura 23** - Voltamogramas cíclicos do eletrodo de CPE-calcopirita(preto) e dos resíduos: CPE-R1(vermelho); CPE-R2(verde) e CPE-R3(azul). Os voltamogramas foram realizados em solução A do meio T&K ( $\text{pH}=1,8$ ),  $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$  e para a direção positiva. Os picos indicados referem-se ao voltamograma do CPE-calcopirita. 79
- Figura 24** - Voltamogramas cíclicos do eletrodo de CPE-calcopirita(preto) e dos resíduos: CPE-R1(vermelho); CPE-R2(verde) e CPE-R3(azul). Os voltamogramas foram realizados em solução A do meio T&K ( $\text{pH}=1,8$ ),  $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$  e para a direção negativa. Os picos indicados referem-se ao voltamograma do CPE-calcopirita. 81
- Figura 25** - Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) obtida para resíduo R3. 81
- Figura 26** - Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) obtida para resíduo R1. 82



- Figura 27** - Gráficos de EIS para calcopirita e resíduos R1, R2 e R3. 82
- Figura 28** - Imagem de MEV obtida para o resíduo R3. Em destaque análise de EDS para um dos precipitados formados na superfície do resíduo. 83
- Figura 29** - Circuito elétrico equivalente proposto para linearização dos espectros de impedância da  $\text{CuFeS}_2$  e dos resíduos R1, R2 e R3. 85
- Figura 30** - Espectros de admitância ( $A_c$ ) correspondentes ao controle, ensaio inoculado em  $t = 0$  e ensaio inoculado em  $t = 90\text{h}$ . 86
- Figura 31** - Espectros de admitância ( $A_c$ ) correspondentes ao controle, ensaio inoculado em  $t = 0$  e ensaio inoculado em  $t = 90\text{h}$  momentos após a 1ª adição de cloreto. 86
- Figura 32** - Espectros de admitância ( $A_c$ ) correspondentes ao controle, ensaio inoculado em  $t = 0$  e ensaio inoculado em  $t = 90\text{h}$  momentos após a 2ª adição de cloreto. 87
- Figura 33** - Medidas de ângulo de contato realizadas utilizando peça maciça de calcopirita, pastilha de calcopirita, peça maciça de pirita, mica e vidro. 89
- Figura 34** - Medidas de potencial Zeta em diferentes condições para suspensão contendo íons sulfato (A) e cloreto (B), ambos em concentração da ordem de  $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . 91
- Figura 35** - Variação do potencial de oxirredução em função da concentração de  $\text{Fe}^{2+}$  (A),  $\text{Fe}^{3+}$  (B) e de diferentes proporções de  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  (C). 92
- Figura 36** - Variação do potencial de oxirredução em função de diferentes proporções de  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  em presença de calcopirita, porcentagem de sólidos 2,5, após 1 hora de agitação a 150 rpm e  $30^\circ\text{C}$ . 93
- Figura 37** - Potencial de oxirredução em função da concentração de íons cloreto para misturas contendo as seguintes relações  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  em  $\text{mol L}^{-1}$ : **A**- 0,03/0,06; **B**- 0,06/0,03; **C**- 0,03/0,03 e **D**- 0,06/0,06. As medidas foram realizadas após 1 hora de agitação a 150 rpm e  $30^\circ\text{C}$ . 94
- Figura 38** - Potencial de oxirredução em função da concentração de cloreto em presença de calcopirita (2,5% m/v) para misturas contendo as seguintes concentrações  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  em  $\text{mol L}^{-1}$ : **A**- 0,03/0,06; **B**- 0,06/0,03; **C**- 0,03/0,03 e **D**- 0,06/0,06. As medidas de potencial de oxirredução foram realizadas após 1 hora de agitação a 150 rpm e  $30^\circ\text{C}$ . 95

**Figura 39** - Potencial de oxirredução em função da concentração de íons cúpricos em presença de calcopirita (porcentagem de sólidos de 2,5) para misturas contendo as seguintes concentrações  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  em  $\text{mol L}^{-1}$ : **A**- 0,03/0,06; **B**- 0,06/0,03; **C**- 0,03/0,03 **D**- 0,06/0,06. As medidas de potencial de oxirredução foram realizadas após 1 hora de agitação a 150 rpm e 30°C.

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> - Intervalos de pH e temperatura para crescimento ótimo de microrganismos acidofílicos oxidantes de sulfetos metálicos. (DONATI; SAND, 2006). | 29 |
| <b>Tabela 2</b> - Composição química das calcopiritas provenientes da mina de Sossego-PA e da fundição de Ventana-Chile.                                      | 60 |
| <b>Tabela 3</b> - Descrição das suspensões de calcopirita (porcentagem de sólido 2,5) analisadas durante o experimento para medida de potencial zeta.         | 70 |
| <b>Tabela 4</b> - Proporções de $\text{Fe}^{2+}:\text{Fe}^{3+}$ mais freqüentemente encontradas nos ensaios de biolixiviação em frasco com calcopirita.       | 71 |
| <b>Tabela 5</b> - Parâmetros de impedância obtidos para calcopirita e resíduos R1,R2 e R3.                                                                    | 84 |

## SUMÁRIO

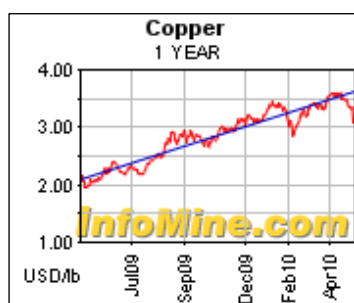
|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                                                                           | 21 |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>                                                                | 23 |
| 2.1. Biolixiviação                                                                             | 23 |
| 2.1.1. Configurações operacionais em escala industrial e laboratorial                          | 23 |
| 2.1.2. Bactérias                                                                               | 28 |
| 2.1.3. Mecanismos envolvidos na biolixiviação de sulfetos minerais                             | 32 |
| 2.1.3.1. Interação bactéria-sulfeto mineral                                                    | 32 |
| 2.1.3.2. Principais vias de biolixiviação de sulfetos minerais                                 | 33 |
| 2.1.4. Perspectivas de intervenção na passivação da calcopirita                                | 35 |
| 2.2. Controle do potencial redox                                                               | 40 |
| 2.3. Eletroquímica                                                                             | 42 |
| 2.3.1. Voltametria cíclica                                                                     | 44 |
| 2.3.2. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS)                                        | 45 |
| 2.3.3. Análise de Ruídos Eletroquímicos (ENA)                                                  | 49 |
| 2.3.4. Exemplos de aplicação de técnicas eletroquímicas para estudo de processos de lixiviação | 50 |
| 2.4. Estudos de superfície envolvendo sulfetos minerais                                        | 52 |
| 2.4.1. Ângulo de contato                                                                       | 52 |
| 2.4.2. Potencial Zeta                                                                          | 53 |
| 2.4.3. Exemplos de estudos de superfície envolvendo sulfetos minerais                          | 57 |
| <b>3. OBJETIVOS</b>                                                                            | 59 |
| <b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b>                                                                  | 60 |
| 4.1. Material de partida                                                                       | 60 |
| 4.1.1. Calcopirita                                                                             | 60 |
| 4.1.2. Material biológico                                                                      | 60 |
| 4.1.3. Meio de cultivo                                                                         | 60 |

|                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>4.2. Metodologia Analítica</b>                                                                                        | 61 |
| <b>4.2.1. Medidas de pH e Eh</b>                                                                                         | 61 |
| <b>4.2.2. Determinação de íons férricos e ferro total</b>                                                                | 61 |
| <b>4.2.3. Determinação de íons cúpricos</b>                                                                              | 62 |
| <b>4.3. Ensaio de biolixiviação</b>                                                                                      | 63 |
| <b>4.3.1. Frascos agitados</b>                                                                                           | 63 |
| <b>4.3.2. Biorreatores</b>                                                                                               | 64 |
| <b>4.3.2.1. Cultivo por lote com cultura de <i>A. ferrooxidans</i>-LR</b>                                                | 64 |
| <b>4.3.2.2. Cultivo por lote com mistura de culturas puras de <i>A. ferrooxidans</i>-LR e <i>A. thiooxidans</i>-FG01</b> | 65 |
| <b>4.4. Ensaio eletroquímico</b>                                                                                         | 65 |
| <b>4.4.1. Preparo dos eletrodos de pasta de carbono (CPE's)</b>                                                          | 65 |
| <b>4.4.2. Voltametria Cíclica (CV)</b>                                                                                   | 65 |
| <b>4.4.3. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS)</b>                                                           | 66 |
| <b>4.4.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</b>                                                                  | 66 |
| <b>4.4.5. Medidas simultâneas dos ruídos eletroquímicos de potencial e de corrente</b>                                   | 67 |
| <b>4.5. Estudos de superfície</b>                                                                                        | 68 |
| <b>4.5.1. Medidas de ângulo de contato</b>                                                                               | 68 |
| <b>4.5.2. Medidas de potencial Zeta</b>                                                                                  | 70 |
| <b>4.6. Estudos de potencial redox do par <math>[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}]</math></b>                             | 71 |
| <b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                                                                                         | 72 |
| <b>5.1. Ensaio de lixiviação de calcopirita (Ventana)</b>                                                                | 72 |
| <b>5.1.1. Ensaio com biorreatores</b>                                                                                    | 72 |

|                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>5.1.1.1.</b> Lote com <i>A. ferrooxidans</i> -LR                                                                      | 72 |
| <b>5.1.1.2.</b> Lote com a mistura <i>A. ferrooxidans</i> -LR e <i>A.thiooxidans</i> -FG01                               | 73 |
| <b>5.1.2.</b> Ensaaios em frascos agitados                                                                               | 75 |
| <b>5.1.2.1.</b> Estudos eletroquímicos e de microscopia dos resíduos sólidos                                             | 77 |
| <b>5.1.2.1.1.</b> Voltametria cíclica                                                                                    | 78 |
| <b>5.1.2.1.2.</b> Espectroscopia de impedância eletroquímica                                                             | 82 |
| <b>5.2.</b> Análise do ruído eletroquímico de sistemas inoculados com <i>A. ferrooxidans</i> na presença de íons cloreto | 85 |
| <b>5.3.</b> Estudos de superfície com calcopirita (Sossego)                                                              | 88 |
| <b>5.3.1.</b> Medidas de ângulo de contato                                                                               | 88 |
| <b>5.3.2.</b> Medidas de potencial zeta                                                                                  | 90 |
| <b>5.4.</b> Estudos do potencial redox do par $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ aplicados a lixiviação de calcopirita      | 91 |
| <b>5.4.1.</b> Estudos do potencial de oxirredução em presença de íons cloreto                                            | 93 |
| <b>5.4.2.</b> Estudos do potencial de oxirredução em presença de íons cúpricos                                           | 95 |
| <b>6. CONCLUSÕES</b>                                                                                                     | 97 |
| <b>REFERÊNCIAS</b>                                                                                                       | 99 |

## 1. INTRODUÇÃO

O cobre é um metal de interesse econômico por poder ser utilizado em indústrias de diversos segmentos. Essa versatilidade é atribuída a propriedades importantes desse metal, tais como maleabilidade, resistência à corrosão e alta condutividade térmica e elétrica. Existem inúmeras aplicações para esse metal, porém as principais estão vinculadas a indústria de transportes, eletrônica, construção civil, agricultura, energia, saúde e novas tecnologias. Possui ainda atuação importante na exploração mineral, produção de ligas, fabricação de utensílios de cozinha, equipamentos químicos/farmacêuticos, moedas e dispositivos anticoncepcionais intra-uterinos. A maior reserva de cobre encontra-se na mina de Escondida, localizada ao norte do Chile, maior produtor mundial de cobre. No primeiro trimestre deste ano a produção em Escondida chegou a 245.562 toneladas, acompanhada da alta nos preços do metal no final do trimestre devido aos abalos sísmicos que atingiram o país (Figura 1).



**Figura 1** – Valor do cobre em dólares de julho de 2009 a abril de 2010 (INFOMINE).

A empresa que administra grande parte (57,5%) da exploração de cobre em Escondida é a BHP Billiton, maior empresa de mineração do mundo. Além da mina de Escondida, merecem destaque as minas chilenas de Spence e Cerro Colorado (Figura 2), administradas pela mesma empresa.

Os processos de extração de cobre podem ser pirometalúrgicos ou hidrometalúrgicos. Os processos pirometalúrgicos são predominantes e consistem na utilização de altas temperaturas para recuperação do metal de interesse. Já os processos hidrometalúrgicos utilizam soluções com potencialidade de recuperar metais, geralmente constituídas por ácidos ou oxidantes fortes.

Os processos pirometalúrgicos e hidrometalúrgicos (utilizando ácidos ou oxidantes agressivos) são os que predominam na escala industrial para produção de metais.



**Figura 2** - Imagem das minas de Spence, Escondida e Cerro Colorado, localizadas ao norte do Chile.

No entanto, dentre os processos hidrometalúrgicos merece destaque a biohidrometalurgia que engloba biolixiviação e biorremediação. Os processos de biorremediação estão relacionados à descontaminação ambiental mediante a retenção do metal poluente numa matriz sólida enquanto que a biolixiviação relaciona-se à recuperação de metais de interesse econômico através da passagem dos mesmos para uma solução.

A biolixiviação, enfoque do presente trabalho, é um processo de recuperação de metais mediante ação de microrganismos capazes de utilizar compostos inorgânicos como fonte energética para suas atividades metabólicas. Tal processo tem sido utilizado para recuperação de metais a partir de rejeitos minerais (minérios de baixo teor) e aproveitamento de jazidas de baixo porte ou de localização adversa (GARCIA JÚNIOR; URENHA, 2001). Os principais microrganismos envolvidos são as bactérias do gênero *Acidithiobacillus*.

A recuperação de cobre a partir de calcopirita, utilizando-se processos de biolixiviação, é relativamente limitada pela refratariedade deste sulfeto mineral.



Tal característica pode estar relacionada à sua elevada energia reticular (17000kJ) e à formação de compostos intermediários como jarositas e enxofre elementar que poderiam bloquear a superfície durante o processo de oxidação.

Desta forma, buscam-se agentes que poderiam alterar as características morfológicas destas camadas que se acumulam na superfície da calcopirita ou, simplesmente, removê-las. Dentre estes agentes destaca-se o íon cloreto, que pode atuar como um acelerador da dissolução de sulfetos minerais através de mecanismos que ainda não foram bem elucidados na literatura.

Os processos de biolixiviação para recuperação de cobre e outros metais podem ser estudados em escala laboratorial através de experimentos de lixiviação em frascos, biorreatores e colunas fornecendo informações quantitativas referentes à porcentagem de extração do metal de interesse, porcentagem de oxidação de íons ferrosos, pH e potencial de oxirredução da lixívia(Eh).

No entanto, tais experimentos não fornecem informações qualitativas do processo, sendo necessária a utilização de outras ferramentas que tornem esses estudos mais completos. As técnicas eletroquímicas de voltametria cíclica (CV), ruído eletroquímico (ENA) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) têm sido utilizadas de maneira crescente para entendimento da cinética e das principais reações que podem estar ocorrendo durante os processos de biolixiviação.

Adicionalmente, estudos de superfície permitem conhecer a intensidade das possíveis interações sulfeto mineral/lixiviantes e a distribuição de cargas superficiais no sulfeto mineral em presença de diferentes lixiviantes. Para tais estudos, medidas de ângulo de contato e potencial Zeta podem ser de grande utilidade. As imagens obtidas utilizando-se microscopia eletrônica de varredura também possibilitam a diferenciação dos precipitados formados nas diversas condições experimentais estudadas.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. BIOLIXIVIAÇÃO**

#### **2.1.1. CONFIGURAÇÕES OPERACIONAIS EM ESCALA INDUSTRIAL E LABORATORIAL**

As operações envolvidas nos processos de biolixiviação, em escala industrial, podem ser divididas em dois grandes grupos: leito estático (“dump leaching” ou “heap leaching”) e tanques agitados (RAWLING; JOHNSON, 2007). No processo denominado “dump leaching”, pouco rentável em relação à extração de metal, o material de interesse é aleatoriamente empilhado e percolado por uma solução de ácido sulfúrico diluído para potencializar o crescimento e atividade das bactérias oxidantes, gerando assim uma lixívia ácida a partir da qual o metal pode ser recuperado por precipitação. Já no processo “heap leaching”, mais custoso que o “dump leaching”, o material é cuidadosamente empilhado em base impermeabilizada, aerado e irrigado com o objetivo de atingir consideráveis porcentagens de extração do metal de interesse que, ao final do processo, pode ser recuperado através de processos como extração por solventes acoplados a eletrodeposição (electrowinning) (SX/EW). Os dois processos citados são muito empregados para extração de metais a partir de minérios de baixo teor, rejeitos de processos mais drásticos de extração ou para recuperar metais de baixo valor econômico.

As operações envolvendo tanques agitados são usadas principalmente nas etapas de pré-tratamento para obtenção de metais de elevado valor econômico. Tratam-se de operações altamente custosas nas quais tanques agitados ligados em série são submetidos a controle rigoroso de parâmetros como aeração, fluxo de nutrientes, temperatura, pH e fluxo de gases. O controle desses sistemas tem impacto positivo tanto no desenvolvimento ótimo dos microrganismos como na porcentagem de recuperação de metais.

Nos estudos de biolixiviação em escala laboratorial podem ser utilizados reatores biológicos agitados (simulam as configurações de leito dinâmico) ou colunas (simulam as configurações de leito estático).

Para ensaios de biolixiviação preliminares, os frascos agitados são mais adequados por utilizarem pequena quantidade de minério e permitirem uma avaliação rápida da capacidade oxidativa da bactéria (GARCIA JÚNIOR; URENHA, 2001). Geralmente, o frasco agitado é um erlenmeyer, fechado com material que permita fluxo de gases (algodão com gaze ou esponja), com 40% de seu volume ocupado por solução lixiviante e uma porcentagem de sólidos que pode variar de 1 a 10.

Periodicamente são retiradas alíquotas (com proporção 1:1 entre fase sólida e líquida) para monitoramento de pH, Eh e concentração de íons ferrosos, férricos e cúpricos em solução. Quando necessário, a evaporação dos frascos é corrigida mediante adição de água destilada e o pH é ajustado com adição de gotas de ácido concentrado.

Ainda dentre as configurações dinâmicas, merecem destaque os ensaios envolvendo biorreatores que utilizam maior quantidade de minério/solução lixiviante além de permitirem o controle dos parâmetros operacionais em tempo real. A utilização eficiente dos biorreatores depende da determinação e manutenção de tais parâmetros, possibilitando a obtenção de uma porcentagem de extração de metal economicamente viável.

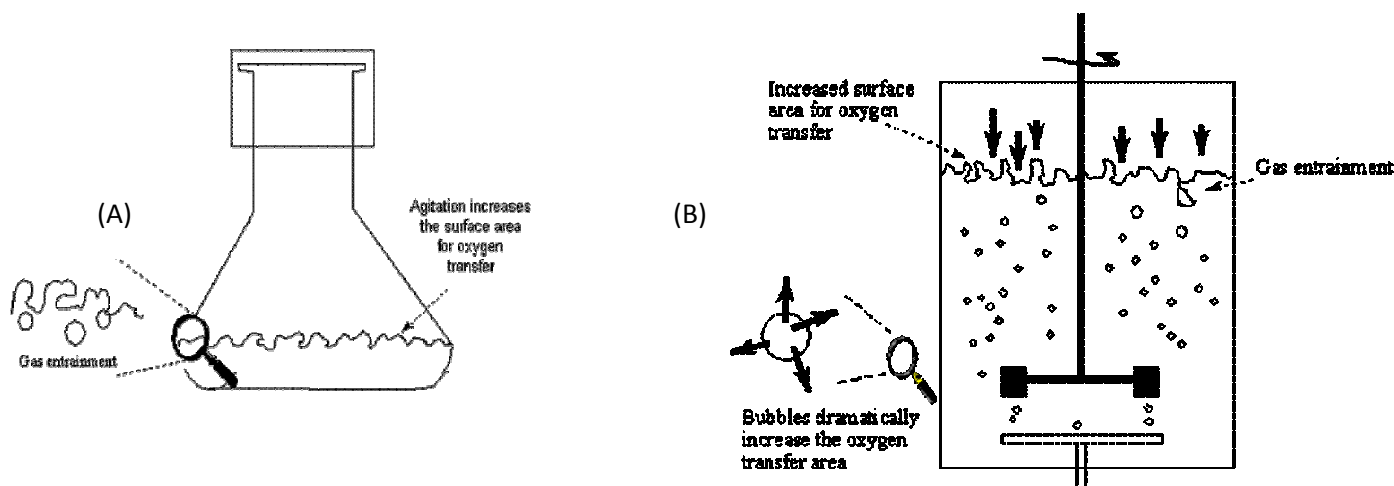
Os principais parâmetros a considerar neste tipo de ensaio são porcentagem de sólidos, suprimento de oxigênio, suprimento de nutrientes, velocidade de agitação e temperatura. Para escolher a melhor porcentagem de sólidos é importante determinar a tensão de cisalhamento na superfície das células através de testes com porcentagens crescentes. O suprimento de oxigênio e a temperatura são típicos do microorganismo e geralmente já estão bem estabelecidos na literatura. Finalmente, a velocidade de agitação é o parâmetro mais importante uma vez que é responsável pela garantia da homogeneidade entre as fases presentes e por melhorar as velocidades de transferência de massa e calor. A melhor velocidade de agitação é aquela que desempenha as funções acima apresentadas sem causar rompimento das células presentes. Esse equilíbrio pode ser alcançado utilizando-se um rotor adequado ao sistema, sendo que o mais comum é o de hélice marinha já que confere um bom fluxo nas direções radial e axial.

Outro aspecto importante relacionado aos biorreatores é a modalidade de operação, critério que classifica os mesmos em quimiostato simples, quimiostato multietapa, quimiostato com recirculação de células e quimiostato com retenção de células. No quimiostato simples, um mesmo lote de cultivo celular é utilizado em todo o ensaio, diferentemente do quimiostato multietapa onde vários lotes de cultivo celular estão ligados em série, permitindo a recirculação de meio de cultivo e células.

No quimiostato com recirculação de células, o meio de cultivo é mantido e as células podem circular pelos lotes ligados em série. Finalmente, no quimiostato com retenção de células, somente o meio de cultivo circula enquanto que as células são mantidas em cada lote ligado em série. A escolha da melhor modalidade operacional depende dos objetivos do ensaio e dos microrganismos que serão utilizados.

De maneira geral, os biorreatores utilizados para processos de lixiviação apresentam bons resultados, mas o estabelecimento das melhores condições experimentais requer tempo considerável por ser extremamente dependente da resposta dos microrganismos envolvidos.

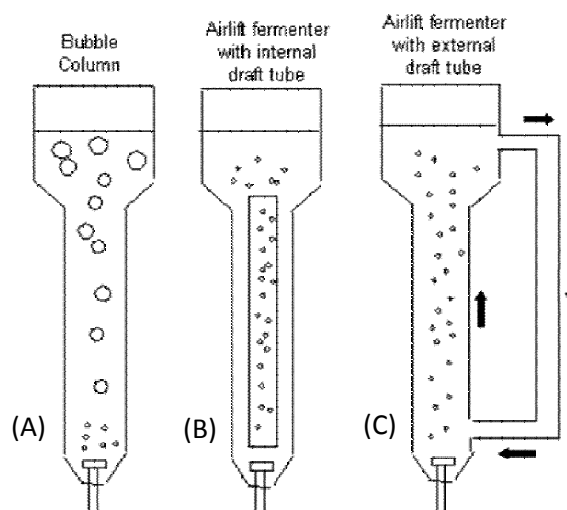
Na Figura 3 encontra-se uma representação esquemática das principais configurações dinâmicas utilizados em laboratório. Conforme já dito anteriormente, o frasco agitado (Figura 3A) é simplesmente um erlenmeyer do qual são retiradas alíquotas periodicamente para monitoramento da atividade bacteriana oxidativa. Já o biorreator (Figura 3B) possui entradas (não mostradas na figura) para sensores de temperatura, pH e Eh, favorecendo o monitoramento em tempo real destes parâmetros.



**Figura 3** - Configurações dinâmicas utilizadas em escala laboratorial onde (A) representa um frasco agitado e (B) representa um biorreator.

Com relação às configurações laboratoriais estáticas, destacam-se os ensaios de lixiviação por percolação em colunas que são empregados quando se obtêm resultados promissores nos testes de biolixiviação em frascos.

Nestes ensaios, colunas de vidro ou PVC são preenchidas com minério (massa de 1 a 10kg) em faixa granulométrica adequada para percolação da solução ácida bacteriana que, ao final do processo, deverá conter determinada porcentagem do metal de interesse. A recirculação da solução lixiviante pode ser feita com auxílio de bombas peristálticas ou através dos sistemas “air-lift” que ocasionam a percolação da coluna com auxílio de ar comprimido. Como as colunas são estáticas, a aeração do sistema é de grande importância para garantia de que os microrganismos terão o suprimento de gases necessários ao crescimento e atividade oxidativa (GARCIA JÚNIOR; URENHA, 2001). Na Figura 4 estão mostradas três colunas com tipos distintos de sistemas de aeração: (A) representa uma coluna com borbulhamento simples, (B) representa uma coluna contendo um tubo interno de aeração e (C) representa uma coluna com tubo externo de aeração. A escolha do sistema adequado de aeração depende inteiramente dos microrganismos presentes no ensaio.



**Figura 4** - Representação esquemática de três sistemas distintos de aeração para colunas de biolixiviação.

Finalmente, é importante destacar que as distintas configurações operacionais empregadas para biolixiviação conferem ambientes e desafios muito diferenciados, levando à formação de diferentes populações “ótimas” de microrganismos para um mesmo minério a ser lixiviado (RAWLING; JOHNSON, 2007).

Desta forma, para as configurações estáticas espera-se uma heterogeneidade maior de microrganismos, uma vez que podem existir gradientes de temperatura, suprimento de gases e drenagem ácida que levam a formação de diversos “microambientes”. No caso das configurações dinâmicas, os parâmetros operacionais são mais controlados e tornam o meio de lixiviação mais homogêneo e propício ao desenvolvimento de um tipo específico de microrganismo.

### 2.1.2. BACTÉRIAS

A Tabela 1 apresenta os principais microrganismos envolvidos nos processos de biolixiviação classificados de acordo com a temperatura ótima de crescimento, em três grandes grupos: até 40°C mesofílicos, entre 40-55°C termofílicos moderados e no intervalo entre 55-80°C termofílicos extremos.

O descobrimento da ação bacteriana sobre sulfetos minerais ocorreu após o isolamento (1949) e identificação (1951-1952) da bactéria *Thiobacillus ferrooxidans* de lixívia ácida de pilhas de minério principalmente localizadas no Rio Ohio. Tal bactéria possui características peculiares que permitem sua sobrevivência em condições extremas de pH, temperatura, oxigenação e suprimento de nutrientes. Além disso, toleram elevadas concentrações de metais potencialmente tóxicos.

A bactéria *Thiobacillus ferrooxidans* foi reclassificada em 2001 passando a ser *Acidithiobacillus ferrooxidans* (KELLY; WOOD, 2001). Tal bactéria é mesofílica (temperatura ótima de crescimento entre 30 e 40°C) e quimiolitotrófica, ou seja, capaz de utilizar compostos inorgânicos como fonte energética para seu metabolismo. A mesma merece destaque por ter a versatilidade de utilizar como fonte energética tanto os íons ferrosos como compostos reduzidos de enxofre, inclusive sulfetos minerais.

Outra bactéria mesofílica muito presente nos processos de biolixiviação é a *Acidithiobacillus thiooxidans* que apresenta características morfológicas e fisiológicas muito similares a *A. ferrooxidans*, possuindo como grande diferença o fato de utilizar somente compostos reduzidos de enxofre ou enxofre elementar como fonte energética. A oxidação desses compostos causa uma diminuição nos valores de pH, fato que favorece a decomposição dos minerais.

Além disso, baixos valores de pH ajudam a diminuir a formação de jarositas, compostos não estequiométricos de ferro que podem prejudicar a dissolução da calcopirita. Em biolixiviação, geralmente se utiliza a *A. thiooxidans* em consórcios, exercendo a função de remover a camada de enxofre que se forma durante a oxidação da calcopirita, tornando esses substratos mais suscetíveis aos lixiviantes do meio.

**Tabela 1** - Intervalos de pH e temperatura para crescimento ótimo de microrganismos acidofílicos oxidantes de sulfetos metálicos. (DONATI; SAND, 2006).

| Species*                                               | pH optimum | pH minimum-maximum | Temperature optimum (°C) | Temperature minimum-maximum (°C) |
|--------------------------------------------------------|------------|--------------------|--------------------------|----------------------------------|
| <b>Mesophilic and moderately thermophilic Bacteria</b> |            |                    |                          |                                  |
| <i>Acidimicrobium ferrooxidans</i>                     | ~ 2        | Na                 | 45-50                    | <30-55                           |
| <i>Acidithiobacillus albertensis</i>                   | 3.5-4.0    | 2.0-4.5            | 25-30                    | Na                               |
| <i>Acidithiobacillus caldus</i>                        | 2.0-2.5    | 1.0-3.5            | 45                       | 32-52                            |
| <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>                  | 2.5        | 1.3-4.5            | 30-35                    | 10-37                            |
| <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>                   | 2.0-3.0    | 0.5-5.5            | 28-30                    | 10-37                            |
| <i>Alicyclobacillus disulfidooxidans</i>               | 1.5-2.5    | 0.5-6.0            | 35                       | 4-40                             |
| <i>Alicyclobacillus tolerans</i>                       | 2.5-2.7    | 1.5-5              | 37-42                    | <20-55                           |
| <i>Caldibacillus ferrivorus</i>                        | 1.8        | Na                 | 45                       | <35->55                          |
| <i>Ferrimicrobium acidiphilum</i>                      | 2-2.5      | 1.3-4.8            | 37                       | <10-45                           |
| <i>Leptospirillum ferriphilum</i>                      | 1.3-1.8    | Na                 | 30-37                    | na-45                            |
| <i>Leptospirillum ferrodiazotrophum</i>                | na         | <1.2<              | na                       | <37<                             |
| <i>Leptospirillum ferrooxidans</i>                     | 1.5-3.0    | 1.3-4.0            | 28-30                    | Na                               |
| <i>Sulfobacillus acidophilus</i>                       | ~ 2        | Na                 | 45-50                    | <30-55                           |
| <i>Sulfobacillus montserratensis</i>                   | 1.6        | 0.7->2             | 37                       | <30-43                           |
| <i>Sulfobacillus sibiricus</i>                         | 2.2-2.5    | 1.1-3.5            | 55                       | 17-60                            |
| <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i>              | ~ 2        | 1.5-5.5            | 45-48                    | 20-60                            |
| <i>Sulfobacillus thermotolerans</i>                    | 2-2.5      | 1.2-5              | 40                       | 20-60                            |
| <i>Thiobacillus plumbophilus</i>                       | na         | 4.0-6.5            | 27                       | 9-41                             |
| <i>Thiobacillus prosperus</i>                          | ~ 2        | 1.0-4.5            | 33-37                    | 23-41                            |
| <i>Thiomonas cuprina</i>                               | 3.5-4      | 1.5-7.2            | 30-36                    | 20-45                            |
| <b>Mesophilic and moderately thermophilic Archaea</b>  |            |                    |                          |                                  |
| <i>Ferroplasma acidarmanus</i>                         | 1.2        | <0-1.5             | 42                       | 23-46                            |
| <i>Ferroplasma acidiphilum</i>                         | 1.7        | 1.3-2.2            | 35                       | 15-45                            |
| <i>Ferroplasma cupricumulans</i>                       | 1-1.2      | 0.4-1.8            | 54                       | 22-63                            |
| <b>Extremely thermophilic Archaea</b>                  |            |                    |                          |                                  |
| <i>Acidianus brierleyi</i>                             | 1.5-2.0    | 1-6                | ~ 70                     | 45-75                            |
| <i>Acidianus infernus</i>                              | ~ 2        | 1-5.5              | ~ 90                     | 65-96                            |
| <i>Metallosphaera hakonensis</i>                       | 3          | 1-4                | 70                       | 50-80                            |
| <i>Metallosphaera prunae</i>                           | 2-3        | 1-4.5              | ~ 75                     | 55-80                            |
| <i>Metallosphaera sedula</i>                           | 2-3        | 1-4.5              | 75                       | 50-80                            |
| <i>Sulfolobus metallicus</i>                           | 2-3        | 1-4.5              | 65                       | 50-75                            |
| <i>Sulfolobus yangmingensis</i>                        | 4          | 2-6                | 80                       | 65-95                            |
| <i>Sulfurococcus mirabilis</i>                         | 2-2.6      | 1-5.8              | 70-75                    | 50-86                            |
| <i>Sulfurococcus yellowstonensis</i>                   | 2-2.6      | 1-5.5              | 60                       | 40-80                            |

\*Listed in alphabetical order; na = data not available; species without standing in nomenclature (<http://www.bacterio.cict.fr/>) are given in quotation marks

Além das bactérias mesofílicas do gênero *Acidithiobacillus*, merecem destaque aquelas do gênero *Leptospirillum*. A característica importante dessas bactérias é o fato de utilizarem somente íons ferrosos como fonte energética para o metabolismo. Dentre as bactérias desse gênero, pode ser citada a *Leptospirillum ferrooxidans*.

Outras bactérias importantes são as do gênero *Sulfobacillus*, capazes de crescerem na presença de íons ferrosos, compostos de enxofre e diferentes compostos orgânicos.

No grupo das bactérias termofílicas, salienta-se a importância da *Sulfolobus metallicus* nos consórcios bacterianos. Tal bactéria é aeróbica, quimiolitotrófica e capaz de utilizar sulfetos minerais ou enxofre elementar como fonte energética.

As bactérias podem ser utilizadas individualmente ou na forma de consórcios nos quais desempenham funções complementares que, na maioria das vezes, melhoram o rendimento dos processos de recuperação de metais. Experimentos realizados por Johnson (2008) mostraram que os consórcios bacterianos tornam as bactérias mais resistentes e possibilitam melhores porcentagens de extração de metais quando comparados com culturas puras. Tais características desenvolvem-se através da capacidade que os microrganismos adquirem de adaptarem-se às condições impostas pelo consórcio que podem ser distintas de suas condições ótimas de crescimento.

Estudos realizados em frascos agitados por Plumb, McSweeney e Franzmann (2008) demonstraram a capacidade de crescimento de diferentes microrganismos em consórcios bacterianos utilizando como fonte energética um minério de baixo teor. Embora tenham crescido em baixa velocidade, os microrganismos estudados não perderam a capacidade de oxidar ferro, enxofre ou o próprio sulfeto mineral. A maior velocidade de oxidação foi alcançada pelo consórcio de moderadamente termofílicas, uma vez que a temperatura pode acelerar a dissolução do minério.

Ainda tratando de consórcios, Fu et al. (2008) fizeram uma comparação entre culturas bacterianas puras, consórcio de mesofílicas e consórcio de moderadamente termofílicas considerando a porcentagem de recuperação de metais. De maneira geral, os consórcios foram mais eficientes do que as culturas puras sendo que aquele formado pelas mesofílicas *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* apresentou como vantagem, em relação às culturas puras, a capacidade de oxidação tanto de enxofre como de íons ferrosos.



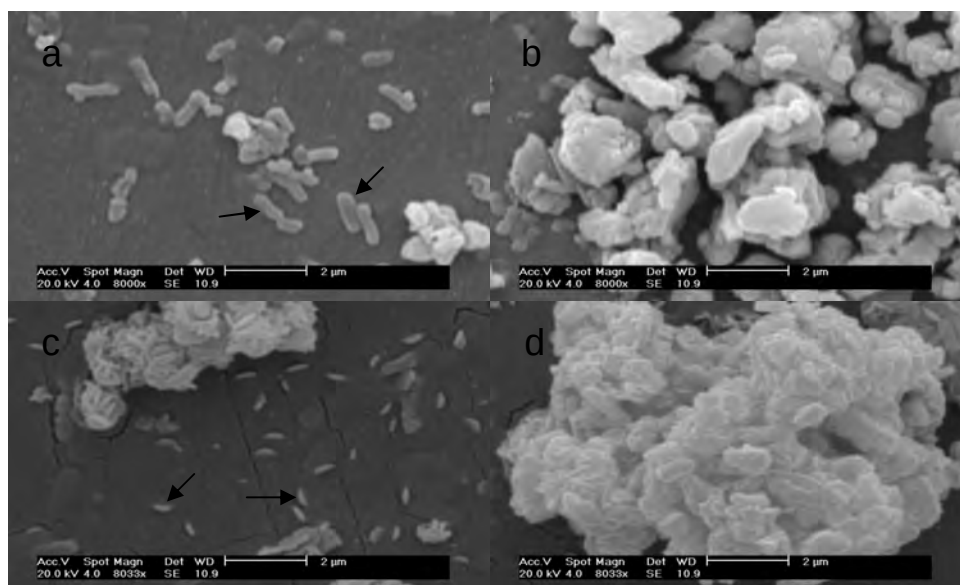
Porém, o consórcio das moderadamente termofílicas *Leptospirillum ferriphilum* e *Acidithiobacillus caldus* foi ainda mais eficiente devido à maior temperatura (aumento da cinética das reações) e aos menores valores de pH que minimizaram a precipitação de jarositas na superfície da calcopirita.

Além dos consórcios bacterianos, a utilização de bactérias previamente adaptadas a uma dada condição experimental, na maioria das vezes, possibilita uma melhora no processo de recuperação de metais. Isso ocorre porque as bactérias passam a desenvolver características peculiares para sobreviver no microambiente imposto. Tais características são muito variáveis e podem estar relacionadas a modificações de membrana, síntese de novas proteínas, alterações morfológicas, entre outras (JOHNSON, 2008). Para a bactéria *A. ferrooxidans* merecem destaque os processos de adaptação a calcopirita e aos íons cloreto.

No caso da adaptação ao sulfeto mineral, ocorrem várias etapas gradativas de substituição da fonte energética solúvel (íons ferrosos) pela fonte energética insolúvel (calcopirita), exigindo da bactéria a síntese de maior quantidade de proteínas relacionadas à adesão, fator importante para o ensaio de biolixiviação subsequente no qual a bactéria adaptada possivelmente apresentará maior facilidade de adesão e, portanto, maior velocidade inicial de extração de cobre (XIA et al., 2008).

Os ensaios de adaptação aos íons cloreto começaram a ser pioneiramente desenvolvidos pelo grupo de Biohidrometalurgia do Instituto de Química da UNESP. Nesses ensaios utilizam-se meios de cultivo com fonte energética solúvel contendo concentrações crescentes desse íon sendo que bactéria é considerada apta a passar de um meio de menor concentração para um meio de maior concentração quando sua atividade de oxidação de íons ferrosos não está prejudicada (testes de viabilidade).

A presença de íons cloreto pode ocasionar mudanças de tamanho e morfologia, conforme observado por Lahti (2009). Tais mudanças podem ser claramente observadas na Figura 5 e consistem numa resposta natural do microrganismo às alterações ocorridas em seu microambiente.



**Figura 5** - Imagens de microscopia eletrônica de varredura de amostras maciças de calcopirita: a) e b) *A. ferrooxidans*, c) e d) *A. ferrooxidans* + cloreto. Algumas bactérias estão indicadas com setas (LAHTI, 2009).

Melo (2010) verificou que também é possível adaptar a bactéria *A. ferrooxidans* simultaneamente aos íons cloreto e ao sulfeto mineral. As bactérias que passaram por esse processo de adaptação oxidaram a calcopirita de maneira mais eficiente que as bactérias adaptadas somente ao sulfeto mineral ou somente aos íons cloreto.

### 2.1.3. MECANISMOS ENVOLVIDOS NA BIOLIXIVIAÇÃO DE SULFETOS MINERAIS

#### 2.1.3.1. INTERAÇÃO BACTÉRIA-SULFETO MINERAL

A bactéria pode interagir com sulfetos minerais através de mecanismos que ainda são controversos na literatura. Um dos primeiros propostos é o mecanismo direto através do qual a bactéria, em contato físico com o sulfeto mineral, seria capaz de atacá-lo diretamente mediante ação de enzimas. Já o mecanismo indireto propõe que são os íons férricos, produzidos por oxidação bacteriana, os responsáveis pelo ataque ao sulfeto mineral. Neste último caso, a bactéria teria apenas uma ação catalítica, produzindo o oxidante necessário para solubilizar o sulfeto mineral.

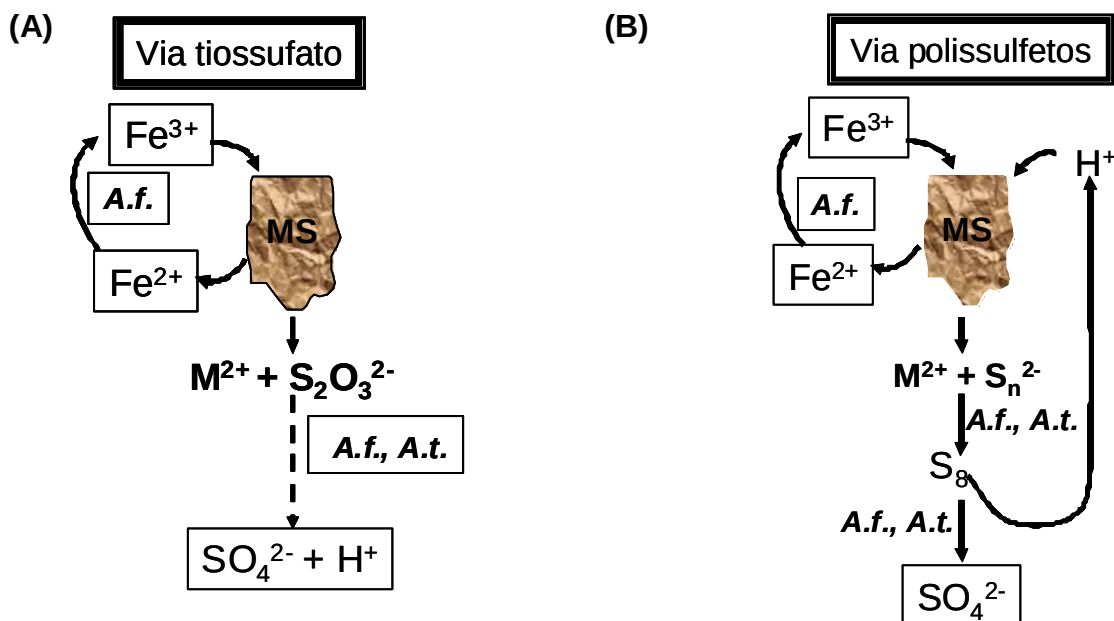
O mecanismo mais bem aceito atualmente é o mecanismo de contato indireto através do qual a adesão bacteriana ocorre mediante a excreção de substâncias exopoliméricas (EPS) compostas basicamente por nitrogênio, fósforo e açúcares. A composição destas substâncias exopoliméricas pode variar de acordo com o meio de cultivo e tipo de substrato, o que confere grande versatilidade ao processo de adesão bacteriana. O EPS atua como um canal para transporte dos elétrons produzidos durante a oxidação dos sulfetos minerais pela bactéria. No caso específico das bactérias ferro-oxidantes, o EPS contém íons férricos, fato que permite a interação entre as células bacterianas e a superfície do sulfeto mineral por ação de forças eletrostáticas. Finalmente, é importante destacar que as bactérias aderidas ao substrato através do EPS desviam reservas metabólicas para síntese do mesmo, fator que ocasiona uma diminuição da velocidade de crescimento e oxidação. Portanto, células não aderidas podem apresentar uma velocidade inicial de crescimento e oxidação maior que as células aderidas (JOHNSOM, 2008).

De maneira geral, é aceitável que a dissolução de sulfetos minerais possa ocorrer mediante ação conjunta do mecanismo indireto e de contato indireto. Até o momento, não existem evidências experimentais consideráveis para o mecanismo direto.

#### **2.1.3.2. PRINCIPAIS VIAS DE BIOLIXIVIAÇÃO DE SULFETOS MINERAIS**

O modelo de biolixiviação de sulfetos minerais mais bem aceito até o momento é o proposto por Sand et al. (2001) que está representado pela Figura 6. De acordo com tal modelo, a dissolução de sulfetos metálicos é dependente da solubilidade sendo que aqueles insolúveis em ácido (pirita, molibdenita e tungstenita) oxidam-se pela via do tiosulfato (Figura 6A) e todos os demais, inclusive a calcopirita, seguem a via dos polissulfetos (Figura 6B). Em ambas, ocorre geração de cátions metálicos e íons  $\text{Fe}^{3+}$  que, regenerados por ação da bactéria *A. ferrooxidans*, oxidam o sulfeto metálico. O mecanismo mostrado na Figura 6A gera tiosulfato que é oxidado a sulfato pela ação bacteriana enquanto na via dos polissulfetos (Figura 6B) forma polissulfetos que são oxidados a enxofre elementar e, posteriormente, a sulfato também devido à atividade das bactérias.

Prótons são formados em ambas as vias, porém no caso na via dos polissulfetos (Figura 6B) ocorre consumo de  $H^+$  através do ataque ao sulfeto mineral.

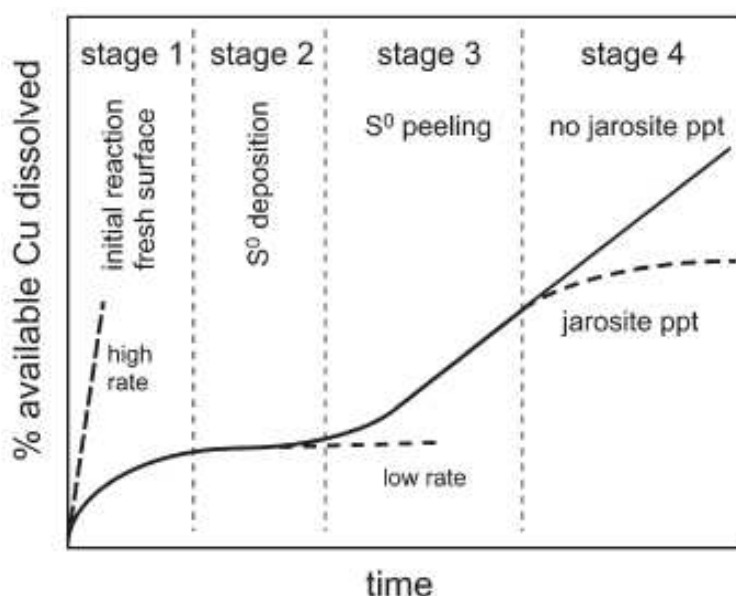


**Figura 6** - Esquema do mecanismo do tiosulfato (A) e do polissulfeto (B) na biolixiviação dos sulfetos metálicos. MS-sulfeto metálico;  $M^{2+}$  -íon metálico;  $S_2O_3^{2-}$ -tiosulfato;  $S_n^{2-}$ -polissulfeto;  $S_8$ -enxofre elementar; *A.f.*, *A.t.*-reações enzimáticas promovidas por *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* (SAND et al., 2001).

O modelo de biolixiviação acima apresentado tem sofrido certas críticas, principalmente no que se refere à existência dos intermediários não estequiométricos e dos polissulfetos. A revisão feita por Klauber (2008), com enfoque para calcopirita, questiona as técnicas utilizadas para caracterização desses compostos e sugere que os únicos produtos resultantes da oxidação de calcopirita que tiveram sua existência adequadamente comprovada são enxofre e jarositas (sais do tipo  $XFe(SO_4)_2(OH)_6$  onde  $X = K^+, NH_4^+, Na^+$  ou  $H_3O$ ). Tais produtos podem, inclusive, recobrir a superfície da calcopirita e atrapalhar sua solubilização, conforme destacado na Figura 7.

De acordo com Klauber (2008) a dissolução inicial de calcopirita (estágio 1) deveria ocorrer em alta velocidade porém a elevada energia reticular apresenta-se como um empecilho.

Os estágios 2 e 3 relacionam-se à deposição e formação de “envelopes” de enxofre elementar que atrapalhariam o processo de dissolução, mas não o suficiente para interrompê-lo pois o enxofre apresenta relativa mobilidade. Durante o quarto estágio ocorre a formação de precipitados de ferro na forma de jarositas que parecem impossibilitar a continuidade da solubilização do cobre presente na calcopirita (Figura 7).



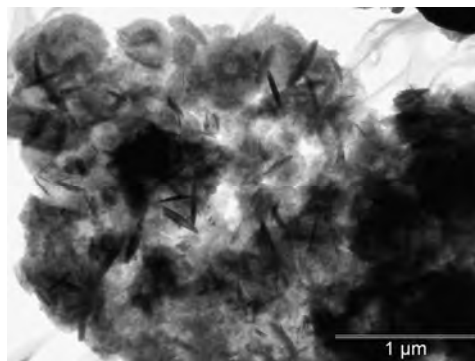
**Figura 7** - Modelo conceitual para a dissolução de calcopirita em 4 estágios proposto por Klauber (2008).

#### 2.1.4. PERSPECTIVAS DE INTERVENÇÃO NA PASSIVAÇÃO DA CALCOPIRITA

Diversos estudos de caracterização da superfície da calcopirita têm sido realizados para entender e intervir nos mecanismos responsáveis pela lenta cinética de lixiviação da mesma. Tais estudos convergem para um recobrimento da superfície pela ação separada ou conjunta de camadas de enxofre elementar e jarositas que se comportam como barreiras para passagem de reagentes e produtos.

Recentemente Sasaki et.al (2009) estudaram as camadas acima mencionadas por técnicas de difratometria de raios-X, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e espectroscopia Raman.

Os autores observaram que a superfície da calcopirita é recoberta por jarositas que podem precipitar de maneira distinta de acordo com as condições do ensaio. A presença de jarositas com distintas maneiras de precipitação recobrindo a superfície da calcopirita também foi observada por Arena (2007) através da utilização microscopia eletrônica de transmissão (Figura 8).



**Figura 8** - Grãos de calcopirita recobertos por jarositas aciculares e/ou amorfas (ARENA, 2007).

Sasaki et al.(2009) observaram ainda a presença de covelita e enxofre elementar na superfície da calcopirita, que poderiam atuar como barreira ao acesso dos microorganismos. Os autores concluíram que o recobrimento da superfície poderia ser minimizado através do controle da precipitação de jarositas e com uma adaptação preliminar das cepas à covelita e ao enxofre elementar em presença de íons ferrosos e férricos.

Nesse sentido, têm sido realizados diversos estudos com calcopirita na busca de condições que poderiam minimizar a precipitação de jarositas. No trabalho de Córdoba et al. (2008) foram estudadas tais condições em ensaios a 68°C utilizando frascos agitados inoculados com mic roorganismos termofílicos.

De acordo com os autores, o íon férrico pode ajudar a solubilizar a calcopirita, porém pode participar, junto com o  $\text{Fe}^{2+}$ , do processo de nucleação para formação de jarositas dependendo do valor do potencial (resultante da relação  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  em solução). Para valores elevados de potencial, o recobrimento da superfície por jarositas parece ser favorecido. Considerando essas idéias, os autores avaliaram o potencial redox em distintas condições de pH e porcentagem de sólidos.

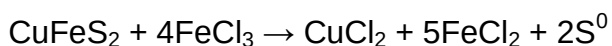
Os mesmos concluíram que as melhores condições para evitar a precipitação de jarositas são valores de pH próximos de 1,5, a fim de se evitar a hidrólise de ferro (III) e porcentagens de sólidos elevadas para favorecer baixo potencial redox (pela presença de íons ferrosos em solução).

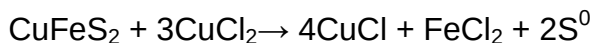
Ainda com o objetivo de minimizar a precipitação de jarositas, o trabalho realizado por Melo (2010) em condições mais amenas utilizando um microrganismo mesofílico (*A. ferrooxidans*) mostrou-se bastante promissor. No mesmo, ensaios de biolixiviação de calcopirita mostraram que a presença de ácido cítrico a uma concentração de 0,005% diminui consideravelmente a precipitação de jarositas mediante reações de precipitação, favorecendo assim a solubilização do cobre sem prejudicar a atividade oxidativa bacteriana.

Do ponto de vista da lixiviação química de calcopirita podem ser destacados os íons cloreto que atuam como aceleradores da oxidação desse mineral através de mecanismos ainda desconhecidos. Um aspecto interessante da utilização de íons  $\text{Cl}^-$  é a possibilidade de dissolver o ferro presente na calcopirita antes do cobre sugerindo que, nos estados iniciais de lixiviação, tal íon é preferencialmente liberado da matriz formando uma estrutura do tipo  $\text{Cu}_{1-x}\text{Fe}_{1-y}\text{S}_{2-x-y}$  (na qual  $y > x$ ) menos refratária que a calcopirita (LU; JEFFREY; LAWSON, 2000). Alguns autores observaram ainda que os íons  $\text{Cl}^-$  podem modificar a morfologia da camada de enxofre depositada na superfície da calcopirita, tornando-a mais cristalina e porosa (CARNEIRO; LEÃO, 2007).

Ouros trabalhos mostram que a utilização de  $\text{Cl}^-$  na lixiviação da calcopirita é vantajosa devido à natureza agressiva das soluções que contém esses íons e à estabilidade alcançada pelos íons  $\text{Cu}^+$  através da formação de complexos com o cloreto (WINAND, 1991; LUNDSTROM et al., 2005). Em soluções com elevada concentração de íons  $\text{Cl}^-$ , o cobre pode formar complexos cuprosos como  $[\text{CuCl}_3]^{2-}$ ,  $[\text{Cu}_2\text{Cl}_4]^{2-}$ ,  $[\text{Cu}_3\text{Cl}_6]^{3-}$  e cúpricos, como  $[\text{CuCl}]^+$ ,  $[\text{CuCl}_2]^0$ ,  $[\text{CuCl}_3]^-$  e  $[\text{CuCl}_4]^{2-}$  (FISHER, 1992; LUNDSTROM et al., 2005).

Considerando a idéia de formação de complexos como uma ajuda para solubilização da calcopirita, Al-Harashseh et al. (2007) estudaram a solubilização desse sulfeto mineral na presença de cloreto férrico. As reações propostas pelos autores foram:





De acordo com esse trabalho a formação de  $\text{CuCl}_2$ , em meio com  $\text{FeCl}_3$  a temperaturas próximas de  $70^\circ\text{C}$  e sem agitação, favorece o processo de solubilização de calcopirita porque os íons cuprosos gerados atuam como catalisadores e possuem uma atividade oxidante secundária. No entanto, em condições experimentais mais amenas, a formação de cloreto de cobre (II) parece prejudicar a recuperação do metal. Portanto, não é possível dizer com exatidão se a melhora na solubilização ocorre por ação da temperatura ou dos íons cúpricos.

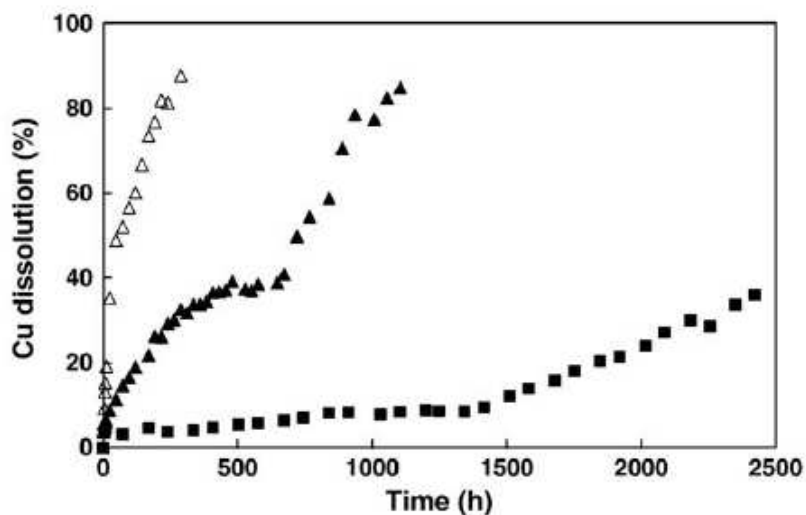
Estudos mais recentes desenvolvidos por Velásquez-Yévenes, Nikol e Mike trazem uma série de três trabalhos que tratam dos efeitos da utilização de íons cloreto na lixiviação de calcopirita em ausência de microrganismos.

No primeiro (VELÁSQUEZ-YÉVENES; NIKOL; MIKE, 2010) avaliou-se o efeito do potencial de soluções contendo cloreto na velocidade de dissolução da calcopirita, sendo possível verificar que existe um aumento na taxa de recuperação de cobre no intervalo de potenciais entre 352 e 422 mV (vs. $\text{Ag}/\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$ ). A manutenção de velocidades de dissolução maiores dentro desse intervalo de potencial está relacionada à presença de oxigênio dissolvido em solução.

Os autores também sugerem que o processo de passivação da calcopirita (Figura 9) é reversível e possivelmente ocorre em valores de potencial superiores a 422 mV(vs. $\text{Ag}/\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$ ).

A Figura 9 mostra uma elevada dissolução de cobre a  $50^\circ\text{C}$  com potencial dentro do intervalo ótimo. Na mesma temperatura, quando se inicia o processo com potencial superior ao intervalo, observa-se uma queda da dissolução, seguida de uma recuperação da mesma quando o potencial atinge valores compreendidos no intervalo ótimo. A  $25^\circ\text{C}$  a dissolução é baixa e os efeitos de potencial não são tão evidentes.





**Figura 9** - Reversibilidade da passivação da dissolução de cobre de um concentrado com controle de aeração e potenciais dados em relação a um eletrodo Ag/AgCl|KCl<sub>(sat)</sub> (Δ) 1 mol L<sup>-1</sup> HCl + 0,5 g L<sup>-1</sup> cobre (II) a 50°C e 382 mV; (▲) 1 mol L<sup>-1</sup> HCl + 0,5 g L<sup>-1</sup> cobre (II) a 50°C e 452 mV/ 352 mV ; (■) 0,2 mol L<sup>-1</sup> HCl + 0,5 g L<sup>-1</sup> cobre (II) a 25°C e 452 mV/ 352 mV (VELÁSQUEZ-YÉVENES; NIKOL; MIKE, 2010).

No segundo trabalho da série (VELÁSQUEZ-YÉVENES; NIKOL; MIKE, 2010) procurou-se avaliar o efeito de diversos parâmetros na velocidade de dissolução da calcopirita em presença de íons cloreto dentro do intervalo de potenciais previamente estabelecidos (entre 352-422 mV vs. Ag/AgCl|KCl<sub>(sat)</sub>). Foi possível verificar que a porcentagem de sólidos, a concentração de íons cloreto e a concentração de íons cúpricos não exercem efeito sobre a velocidade de dissolução de cobre para as condições experimentais avaliadas.

Os ensaios também mostraram que menores tamanhos de partículas e maiores temperaturas favorecem o processo de dissolução. Adicionalmente, os autores enfatizam que o sistema de lixiviação deve ser agitado, de preferência mecanicamente, simplesmente para impedir a formação de aglomerados e manter as partículas em suspensão. Agitações mais intensas como a magnética devem ser evitadas porque poderiam alterar a cinética das reações simplesmente por efeitos abrasivos nas partículas de calcopirita. Finalmente, foi avaliado o efeito da adição de íons ferrosos nos sistemas com cloreto e verificou-se que a velocidade de dissolução de cobre diminui na presença de tais íons provavelmente devido à dificuldade de controle do potencial.

O último trabalho dessa série (NIKOL; MIKE; VELÁSQUEZ-YÉVENES, 2010) trata dos aspectos mecanísticos envolvidos na dissolução da calcopirita em presença de cloreto sugerindo que a mesma ocorre mediante formação de sulfeto de hidrogênio e covelita dentro do intervalo de potenciais previamente estabelecidos. A cinética do modelo proposto é favorecida quando se adiciona pirita finamente dividida ao meio reacional uma vez que a mesma oferece uma superfície adicional para acúmulo do enxofre formado durante a oxidação da calcopirita.

Os trabalhos apresentados acima mostram que o cloreto pode auxiliar muito nos processos de lixiviação química da calcopirita. No entanto, sua utilização em ensaios de biolixiviação está totalmente restrita à resistência dos microorganismos a esse íon. Oliver et al. (1997) estudaram o efeito de vários íons na atividade oxidativa da espécie *A. ferrooxidans* utilizando medidas de potencial redox, espectroscopia de absorção atômica e microscopia eletrônica. Os autores observaram que concentrações de até 281mmol L<sup>-1</sup> de íons Cl<sup>-</sup> não afetaram a atividade bacteriana. Entretanto, a concentração de íons cloreto suportada por *A. ferrooxidans* ainda é controversa na literatura.

Trabalhos recentes têm demonstrado que a melhor maneira de utilizar cloreto em ensaios de biolixiviação sem causar inibição é a realização de adições sucessivas de pequenos incrementos deste íon (MELO, 2010). Tais adições proporcionaram melhores condições para adaptação do microrganismo a esse íon.

Deve-se destacar que a utilização de cloreto e bactérias na melhoria da solubilização do cobre presente na calcopirita, assim como os processos de adaptação bacteriana a esse íon são muito recentes e, portanto, existem poucos trabalhos na literatura voltados para esse assunto.

## 2.2. CONTROLE DO POTENCIAL REDOX

O potencial redox medido durante os processos de biolixiviação está relacionado com a oxidação dos íons ferrosos através da ação bacteriana e pode ser descrito pela equação de Nernst:

$$E_h = E_h^0 + \frac{RT}{nF} \ln \left\{ \frac{a(Fe^{3+})}{a(Fe^{2+})} \right\}$$

onde:

$E_h$  - potencial medido (contra eletrodo padrão de hidrogênio - EPH), V;

$E_h^0$  - potencial de redução padrão do par  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  (EPH), V;

$R$  - constante dos gases, 8,314 J/mol.K;

$T$  - temperatura, K;

$n$  - número de moles de elétrons transferido por mol de reagente ( $n = 1$  nesse caso);

$F$  - constante de Faraday = 96.485 C/ mol  $e^-$ ;

$a(Fe^{3+})$  e  $a(Fe^{2+})$  atividades dos íons  $Fe^{3+}$  e  $Fe^{2+}$ , respectivamente.

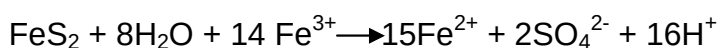
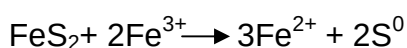
Um potencial de lixívia entre 0,45 e 0,75 V (vs.Ag/AgCl|KCl<sub>(sat)</sub>) permite a manutenção de uma atmosfera oxidante favorável, visto que esse é o intervalo de equilíbrio da reação de oxidação do  $Fe^{2+}$ .

No entanto, estudos realizados por Córdoba et al. (2008a) têm demonstrado que valores de potencial superiores a 0,45 V(vs.Ag/AgCl|KCl<sub>(sat)</sub>) prejudicam a recuperação do cobre presente no minério por ocasionarem o equilíbrio químico do par  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  e, conseqüentemente, a precipitação dos íons férricos na forma de jarositas. Portanto, estudos recentes apontam para necessidade de manutenção dos potenciais dentro de um intervalo ótimo de 0,35 a 0,45 V(vs.Ag/AgCl|KCl<sub>(sat)</sub>), utilizando por exemplo, gases inertes e até mesmo agentes químicos.

No segmento da lixiviação química, tem sido estudada a potencialidade da utilização de soluções contendo íons ferrosos para melhoria da recuperação do cobre presente na calcopirita. O mecanismo de interação entre estes íons e a calcopirita ainda não é bem conhecido, mas sabe-se que os mesmos relacionam-se diretamente com a manutenção de um potencial redox ótimo durante os processos de recuperação.

Hiro Yoshi, Kitagawa e Tsunekawa (2008) demonstraram que o potencial de oxirredução se altera de acordo com a concentração de íons ferrosos, férricos e cúpricos. A presença desses íons em solução possibilita a formação de intermediários menos refratários que a calcopirita, principalmente calcocita ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ), podendo aumentar a velocidade de dissolução pela imposição de um potencial ótimo.

Em outro trabalho Hiro Yoshi et al. (2008) estudaram diversas maneiras de controlar o potencial de oxirredução ótimo da calcopirita, destacando-se a utilização de calcopirita com uma porcentagem maior de pirita ( $\text{FeS}_2$ ). Os autores verificaram que a presença de pirita em meio abiótico parece favorecer a manutenção de um potencial ótimo devido ao consumo dos íons férricos gerados em excesso durante o processo. A ação da pirita está representada pelas equações abaixo:



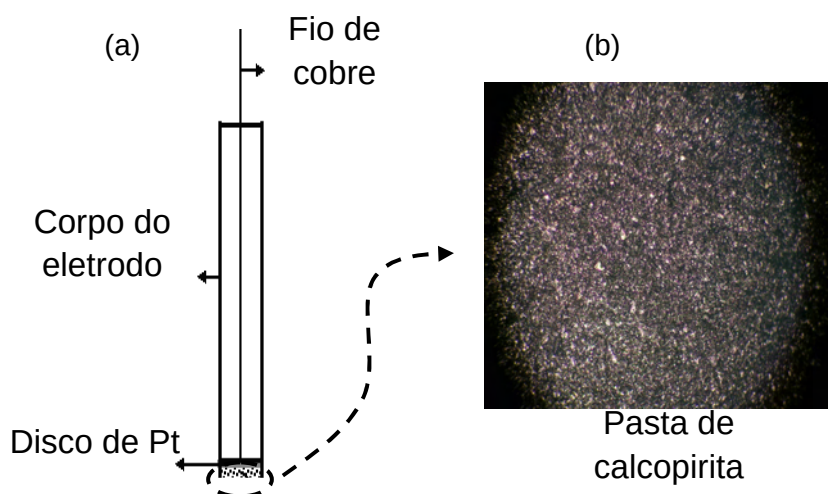
Um estudo preliminar do potencial de oxirredução de soluções com várias concentrações de íons ferrosos em diferentes condições experimentais permitiria avaliar a estabilidade destes sistemas e, posteriormente a potencialidade de melhoria da recuperação de cobre presente na calcopirita mediante utilização de agentes químicos, como por exemplo, íons ferrosos.

### 2.3. ELETROQUÍMICA

Algumas técnicas eletroquímicas têm sido muito úteis para determinação dos possíveis produtos formados durante os processos de biolixiviação e para avaliar os efeitos corrosivos de diversas espécies que atuam como lixiviantes. O uso da eletroquímica para estudar processos de biolixiviação é algo muito recente e que tem se mostrado muito promissor.

Serão dados alguns exemplos de aplicação de algumas destas técnicas após uma breve discussão dos principais fundamentos envolvidos em cada uma delas.

Independentemente da técnica eletroquímica, é importante destacar a inovação no que se refere aos eletrodos que estão sendo empregados. A maioria dos trabalhos tem utilizado os chamados eletrodos de pasta de carbono. Esses eletrodos são compostos por grafite, espécie eletroativa a ser estudada e um agente aglutinante em proporção experimentalmente estabelecida. Os constituintes do eletrodo formam uma pasta que é devidamente empacotada numa cavidade presente em uma peça de teflon previamente preenchida com um tarugo de grafite. A Figura 10 mostra um eletrodo de pasta de carbono possuindo calcopirita como espécie eletroativa.



**Figura 10** - Representação esquemática do CPE-calcopirita (a) e imagem obtida por Microscopia Óptica (OM) da pasta empacotada no eletrodo (b).

O eletrodo de pasta de carbono apresenta vantagens em relação aos eletrodos maciços convencionais no que se refere à ausência de problemas relacionados com polimento, fraturas e heterogeneidade superficial. Horta et al.(2005) demonstraram que tais características fazem com que os experimentos eletroquímicos realizados com esses eletrodos apresentem elevada repetibilidade.

É importante ressaltar que às técnicas eletroquímicas podem estar acopladas a outros tipos de análise, tornando os estudos ainda mais completos. Uma importante técnica utilizada para analisar a parte sólida dos ensaios de lixiviação é a microscopia eletrônica de varredura, muito vantajosa devido ao grande aumento que pode ser alcançado para visualização da amostra.

O princípio da técnica é a irradiação de um fino feixe de elétrons que interage com a superfície da amostra provocando a emissão de uma série de radiações, tais como elétrons secundários, elétrons retroespalhados, raios-X característicos, elétrons Auger e fótons. Estas radiações, quando captadas corretamente, fornecem informações características da amostra referentes à topografia da superfície, composição e cristalografia. O microscópio eletrônico de varredura pode ser ainda melhor explorado quando acoplado a detectores de raios-X por permitir a realização de uma análise química na região da amostra que está sendo observada. Esse acoplamento ao detector de raios-X facilita a identificação de precipitados e de variações de composição química dentro de uma mesma amostra.

### 2.3.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA

A voltametria cíclica (CV) é uma técnica eletroquímica que tem sido cada vez mais utilizada por fornecer informações muito úteis sobre reações de óxido-redução. Sua aplicação baseia-se na forma de onda de potencial linear, ou seja, o potencial varia como uma função linear do tempo, sendo essa variação referida como velocidade de varredura,  $v$ . Basicamente, trata-se de uma medida do potencial formal de uma reação de eletrodo quando as espécies oxidadas ou reduzidas são estáveis durante o tempo requerido para a realização da leitura voltamétrica. As reações de óxido-redução caracterizam-se pela presença de máximos catódicos ou anódicos, geralmente bem definidos, que auxiliam na identificação das espécies presentes no sistema considerado (EVANS et al. 1983).

O princípio do método consiste na imposição de uma variação de potencial na forma de onda triangular em um eletrodo (o eletrodo de trabalho), sendo medida a resposta de corrente. Um potenciostato controla os parâmetros do experimento. O termo voltametria de varredura linear (LSV) é usado para designar a metade de um ciclo de CV. Os termos  $E_i$  (potencial inicial),  $E_\lambda$  (potencial de inversão de varredura),  $E_f$  (potencial final) e  $v$  (velocidade de varredura, expressa em  $\text{mV s}^{-1}$ ) descrevem a varredura. O potencial como função do tempo é representado pelas seguintes equações lineares (NOEL; VASU, 1990):

$$E = E_i + \nu t \text{ (varredura direta) (1)}$$

$$E = E_i + 2\nu\lambda - \nu t \text{ (varredura reversa) (2)}$$

sendo  $\lambda$  o tempo onde ocorre a inversão da varredura do potencial.

Durante a varredura positiva, as espécies reduzidas, R, são oxidadas a O e os elétrons são liberados ao circuito externo sendo registrado o correspondente pico de corrente. A altura do pico de corrente é medido e a 85,17% da corrente de pico lê-se o potencial de meia-onda correspondente a partir da escala de potencial. Se o potencial é medido contra um eletrodo de referência (SCE ou Ag/AgCl), este valor de potencial pode ser convertido a um potencial *versus* um eletrodo padrão de hidrogênio.

Embora os dados de CV sejam amplamente usados para a caracterização de processos redox e na investigação qualitativa de reações químicas acopladas, há uma aparente desvantagem inerente a esta técnica: as respostas da transferência eletrônica lenta e das reações químicas rápidas associadas aos processos heterogêneos são difíceis de serem separadas, porém são distinguíveis quando se estuda amplo intervalo de varreduras de potenciais.

A despeito desta limitação, CV é muito adequada para estudar os mecanismos e taxas de oxidação/redução e tem sido muito utilizada na investigação da dissolução oxidativa de sulfetos minerais.

### 2.3.2. ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA (EIS)

A espectroscopia de impedância eletroquímica é uma técnica bastante utilizada para investigar processos de eletrodo porque é essencialmente aplicada ao estado estacionário sendo definida como um número complexo e escrita na forma:

$$Z_{(\omega)} = Z' + jZ''$$

em que  $j = \sqrt{-1}$  e  $Z'$  e  $Z''$  são as partes real e imaginária da impedância, respectivamente.

Nas medidas de impedância utiliza-se corrente alternada (a.c.) e se impõe uma perturbação de pequena amplitude senoidal no potencial ( $\Delta E$ ) entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência. A partir da corrente que responde a esta perturbação ( $\Delta I$ ), é possível calcular o valor da impedância complexa ( $Z$ ):

$$Z = \frac{\Delta E}{\Delta I} = |Z|e^{i\phi}$$

em que,  $\phi$  é a mudança de fase entre  $\Delta E$  e  $\Delta I$ . Desde que  $Z$  dependa da frequência ( $f$ ) do sinal senoidal, as variações de  $Z$  como função de  $f$  podem ser representadas em um plano complexo (Figura 11B).

A teoria da impedância eletroquímica é um ramo da teoria a.c., que descreve a resposta de um circuito a uma corrente alternada como função da frequência. Na teoria d.c. (corrente direta,  $f = 0$  Hz) a resistência é definida pela lei de Ohm e os resistores são os únicos elementos de circuito que impedem o fluxo de elétrons:

$$E = RI$$

Na teoria a.c., em que a frequência não é nula, a equação análoga é:

$$E = ZI$$

dessa forma a impedância torna-se o equivalente a.c. da resistência.

Nos circuitos a.c., além dos resistores, capacitores e indutores também impedem o fluxo de elétrons. Sendo assim, a impedância pode ser expressa como um número complexo, onde a resistência é a componente real e, capacitância e indutância combinadas são a componente imaginária.

A impedância de um resistor não apresenta componente imaginária. O ângulo de fase ajusta-se a  $0^\circ$ , ou seja, a corrente está em fase com o potencial, e ambas, corrente e impedância, são independentes da frequência.

Já a impedância de um capacitor não tem componente real, sua componente imaginária é uma função da capacitância e da frequência. Devido à impedância de um capacitor variar inversamente com a frequência, a altas frequências um capacitor atua como um curto-circuito e sua impedância tende a zero. Em baixas frequências, ou seja, aproximando-se de um sistema d.c., um capacitor atua como um circuito aberto, e a impedância tende em direção ao infinito.



O terceiro componente elétrico é o indutor. A corrente que passa pelo capacitor e pelo indutor está  $90^\circ$  fora de fase com o potencial.

Em uma célula eletroquímica, o fenômeno da difusão pode retardar o fluxo de elétrons sendo considerado análogo aos resistores, capacitores e indutores, que dificultam o fluxo de elétrons num circuito a.c..

A célula de Randles (Figura 11A) é definida como uma combinação em paralelo de uma capacitância e de uma resistência e modela a impedância eletroquímica de uma interface ajustando-se a muitos sistemas químicos. Sendo assim, é possível relacionar os componentes do circuito na célula de Randles com fenômenos físicos comuns em sistemas eletroquímicos. No esquema da Figura 11(A), o termo  $R_\Omega$  é a resistência ôhmica ou resistência não compensada da célula,  $R_p$  é a resistência de polarização ou resistência de transferência de carga na interface eletrodo/solução;  $C_{DL}$  é a capacitância da dupla-camada elétrica nesta interface.

Os dados de impedância podem ser organizados no gráfico do plano complexo (Figura 11B) em que os valores da componente imaginária ( $Z''$ ) são representados como função da componente real ( $Z'$ ). A frequência alcança seu limite mais elevado à esquerda, no final do semicírculo, na intersecção com o eixo real, região na qual o circuito de Randles comporta-se primariamente como um resistor, sendo possível ler a resistência ôhmica ( $R_\Omega$ ). A componente imaginária é muito pequena, o ângulo de fase encontra-se próximo de  $0^\circ$  e a impedância não varia com a frequência.

No limite de baixas frequências, mais à direita, no final do semicírculo, a célula de Randles também se aproxima de uma resistência pura com valor equivalente à contribuição conjunta das resistências ôhmica e de transferência de carga,  $R_\Omega + R_p$ .

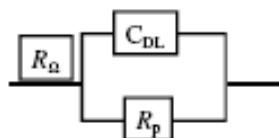
Em frequências intermediárias, a impedância do capacitor começa a ser significativa e a resposta sofre influência dos processos capacitivos. A componente imaginária, neste caso, começa a apresentar valores mais significativos e o ângulo de fase pode iniciar uma aproximação de  $90^\circ$  (EG&G PRINCETON, 1985).

Os dados de impedância eletroquímica também podem ser representados em diagramas de Bode (Figura 11C) nos quais os valores de  $\log |Z|$  e ângulo de fase ( $\phi$ ) são representados como função do logaritmo da frequência ( $\log f$ ). A utilização da escala logarítmica para  $|Z|$  e  $f$  permite que uma ampla faixa de dados seja representada, fato que é uma vantagem quando a impedância é amplamente dependente da frequência, como no caso de um capacitor.

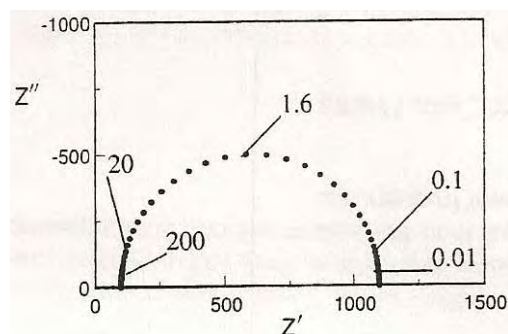
A principal vantagem da EIS é associar um circuito elétrico à interface eletrodo/solução, permitindo obter os parâmetros de circuito por ajustes aos resultados experimentais e relacioná-los às características físico-químicas da interface eletroquímica sob investigação. Na prática, é possível correlacionar um espectro de impedância obtido para um dado sistema eletroquímico com um ou mais modelos de circuitos elétricos equivalentes, porém será a interpretação física do sistema que decidirá por um dos circuitos (BONORA, 1995).

Para a escolha de um modelo de circuito elétrico equivalente alguns critérios têm que ser obedecidos como uso de circuitos com o menor número de elementos ou componentes, bom ajuste (baixo valor do somatório dos desvios quadráticos médios ( $\chi^2$ )) e pequeno desvio entre o valor ajustado e o experimental para cada elemento do circuito. Além disso, os elementos individuais de cada circuito escolhido devem apresentar um claro significado físico (BONORA, 1995).

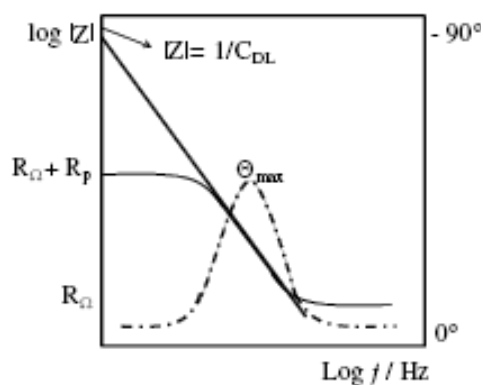
(A)



(B)



(C)



**Figura 11** - Circuito elétrico de Randles (A). Espectros de Impedância: Plano Complexo (B) e Formato de Bode (C).

### 2.3.3. Análise de Ruídos Eletroquímicos (ENA)

As medidas e análises de ruídos eletroquímicos (ENA) compõem uma técnica relativamente nova, que encontra aplicação crescente no monitoramento da corrosão geral e localizada, na corrosão induzida por microorganismos e, na avaliação da resistência de filmes sobre metais. Esta técnica tem sido apropriada para monitorar tais fenômenos por não necessitar de nenhum sinal externo a ser aplicado na aquisição de dados experimentais, por ser menos dispendiosa devido ao baixo custo do equipamento utilizado, e por ser experimentalmente mais simples (MANSFELD et al., 1997).

Por meio desta técnica mede-se o potencial e a corrente simultaneamente, a uma determinada razão de aquisição de pontos, para um número de pontos previamente fixado.

Freqüentemente, os ruídos são medidos por longos períodos de imersão, como dias, semanas, meses, ou até anos, na tentativa de identificar uma alteração que corresponda a uma variação nos eletrodos, tal como no início de um processo de corrosão acelerada.

O potencial de corrosão corresponde ao potencial médio,  $E_{\text{coup}}$ , medido entre dois eletrodos de trabalho acoplados, *versus* um eletrodo de referência estável. A corrente média,  $I_{\text{coup}}$ , é a que flui entre os eletrodos eletricamente acoplados por um amperímetro de resistência nula, ZRA (LEE, 1998; MANSFELD et al., 1997).

Os termos  $\sigma[E(t)]$  e  $\sigma[I(t)]$  correspondem aos desvios-padrão (média quadrática) dos ruídos de potencial e de corrente, respectivamente. Ambos os valores podem ser monitorados em função do tempo com o objetivo de avaliar o início da corrosão. Em geral, tem sido observado que  $\sigma[E(t)]$  diminui e  $\sigma[I(t)]$  aumenta com a degradação de um material. Estes parâmetros também são utilizados para o cálculo de  $R_n$ , a resistência do ruído eletroquímico, obtida de análises estatísticas dos ruídos para avaliar o desempenho de diferentes sistemas em corrosão, matematicamente definida como (MANSFELD et al., 1997):

$$R_n = \frac{\sigma[E(t)]}{\sigma[I(t)]}$$

#### **2.3.4. Exemplos de aplicação de técnicas eletroquímicas para estudo de processos de lixiviação**

Nos últimos dez anos, a utilização de técnicas eletroquímicas para avaliação de processos de lixiviação tem se mostrado muito promissora. Um estudo da dissolução oxidativa da calcopirita por *A. ferrooxidans* foi realizado por Bevilaqua et al. (2004) utilizando medidas de EIS e AFM.

As medidas de impedância eletroquímica permitiram retratar, através de circuitos elétricos, a interface eletrodo-solução em diversos tempos de incubação na presença ou ausência da bactéria. A mesma técnica permitiu a verificação de que a superfície da calcopirita possivelmente é recoberta por camadas que dificultam a difusão de espécies a partir da superfície ou em direção a mesma. As imagens de AFM vêm a corroborar com tais constatações além de permitirem verificar que na presença da bactéria se forma um filme na superfície, provavelmente devido à liberação de substâncias exopoliméricas que auxiliam no processo de adesão das bactérias, além de facilitar o fluxo de íons.

Outro estudo, pioneiro na literatura, realizado por Bevilaqua et al. (2006) utilizou a técnica de ruído eletroquímico (ENA) para monitorar continuamente a dissolução química e bacteriana do sulfeto mineral bornita ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ). As medidas de ruído no domínio do tempo permitiram verificar que ocorre um aumento nos valores de  $E_{\text{coup}}$  e  $I_{\text{coup}}$  na presença da bactéria uma vez que a mesma ocasiona um ambiente oxidante muito próximo à superfície do eletrodo devido à passagem dos íons ferrosos a férricos. As análises no domínio da frequência mostraram que a atividade bacteriana promove corrosão mais acelerada na superfície do eletrodo.

Ainda utilizando bornita como alvo de estudo, Bevilaqua et al. (2009) monitoraram a oxidação desse sulfeto por *A. ferrooxidans* utilizando espectroscopia de impedância eletroquímica e voltametria cíclica. Os ensaios eletroquímicos foram realizados utilizando eletrodos de pasta de carbono (CPE) pois o mesmo apresenta vantagens em relação aos eletrodos maciços no que se refere à homogeneidade, repetitividade e ausência de falhas superficiais. Os voltamogramas mostraram que a bornita provavelmente se oxida a covelita e a compostos oxidados de ferro, podendo oxidar-se a enxofre em potenciais maiores que +1,2 V. A covelita formada se reduz em uma série de etapas passando por vários estágios intermediários de sulfetos não estequiométricos até chegar a cobre metálico em potenciais próximos de -1,0 V.

Os dados de impedância permitiram interpretar as diferenças no comportamento eletroquímico da bornita quando se adiciona a bactéria no início do ensaio e quando se adiciona após 79 h. A última condição é desfavorável uma vez que após 79 h as camadas que podem bloquear a superfície da bornita já foram formadas, impedindo qualquer tipo de indução.

Os dados de impedância eletroquímica permitiram propor um modelo para a interface eletrodo-solução baseado nas principais reações anódicas e catódicas que possivelmente estão ocorrendo e na formação de filme e/ou biofilme na superfície do eletrodo. Os diagramas de EIS foram ajustados utilizando-se um circuito elétrico simples no qual o ramo anódico foi representada por um sub-circuito do tipo ( $R_{p1}CPE_1$ ) referente aos processos de degradação do mineral e formação de filmes e o ramo catódico foi representado por uma impedância de Warburg uma vez que a resistência de transferência de carga por redução de oxigênio pode ser ignorada. A formação de um filme passivo na superfície da bornita foi modelada através de ajuste dos dados de EIS e confirmada utilizando voltametria cíclica.

Os exemplos dados acima mostram a grande utilidade das técnicas eletroquímicas para entendimento das principais reações que ocorrem durante a oxidação de sulfetos minerais, identificação de filmes que possam bloquear a superfície e avaliação do comportamento dos sistemas de biolixiviação na presença de bactérias e outros agentes.

## **2.4. ESTUDOS DE SUPERFÍCIE ENVOLVENDO SULFETOS MINERAIS**

### **2.4.1. ÂNGULO DE CONTATO**

Os agentes químicos e as bactérias utilizadas durante os processos de lixiviação modificam a superfície dos sulfetos minerais através de interações cujas intensidades podem ser avaliadas por medidas de ângulo de contato.

Na Figura 12 está representado um exemplo de um ângulo de contato formado entre a superfície da calcopirita e uma gota de meio de cultivo para a bactéria *A. ferrooxidans* (20 $\mu$ L).



**Figura 12** - Imagem de uma superfície de calcopirita com uma gota de meio de cultivo para a bactéria *A. ferrooxidans* com destaque para o ângulo de contato( $\theta$ ).

O ângulo de contato se forma a partir do equilíbrio entre as forças de coesão e adesão que atuam nas fases sólida, líquida e gasosa. As forças de coesão agem contra o espalhamento da gota sobre a superfície sendo originadas por fatores como afinidade entre as moléculas de uma única fase (sólida, líquida ou gasosa) e interações existentes entre as moléculas do líquido (van der Waals, ligações de hidrogênio). Já as forças de adesão agem a favor do espalhamento e são dependentes da afinidade das moléculas presentes em duas fases distintas. Portanto, quanto maior a força de adesão, menor o ângulo de contato e mais intensa a interação com a superfície.

O ângulo de contato pode ser medido por diversos métodos tais como gota sésil, gota pendente, captura de bolha e placa de Wilhelmy. A escolha do método está intimamente ligada à viscosidade do líquido e a rugosidade da superfície. O cálculo do ângulo de contato é feito através da equação de Young.  $\gamma_S = \gamma_{SL} + \gamma_{LF} \cos \theta$  onde  $\gamma_S$  = tensão interfacial no sólido

$\gamma_{SL}$  = tensão interfacial entre o sólido e o líquido

$\gamma_{LF}$  = tensão interfacial entre o líquido e o fluido (ar)

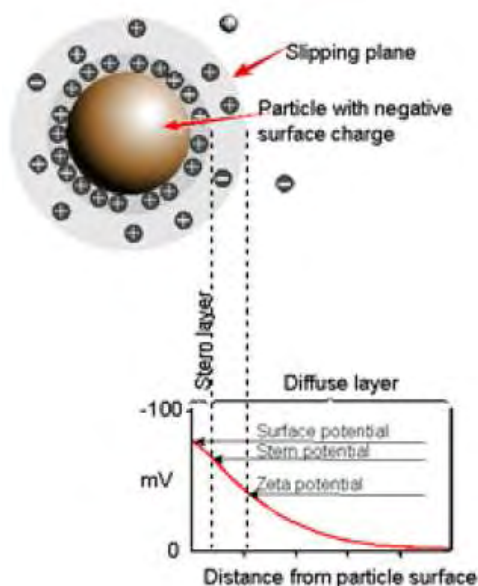
De acordo com a equação de Young, o ângulo de contato está intimamente relacionado com a tensão interfacial que pode ser definida como o trabalho necessário para aumentar uma superfície em uma unidade de área considerando um processo reversível e isotérmico. A energia relacionada a esse trabalho é a energia livre de superfície. Tal equação aplica-se para superfícies lisas, sendo utilizadas outras equações e aproximações matemáticas para superfícies rugosas.

### 2.4.2. POTENCIAL ZETA

A interface sulfeto mineral- agentes químicos/bactérias pode ser analisada através de medidas de potencial zeta. Tais medidas fornecem informações a respeito das cargas que se formam na superfície do sulfeto mineral resultantes da interação com bactérias ou agentes químicos.

O potencial zeta é uma propriedade física relacionada à estabilidade de uma dada partícula em suspensão coloidal, sendo totalmente dependente da carga desenvolvida na superfície da partícula.

Tal carga pode ter várias origens dentre as quais adsorção de espécies carregadas (íons ou surfactantes), saída desigual de íons de um retículo cristalino ou ionização de grupos presentes na superfície. A Figura 13 é uma representação esquemática do potencial zeta em uma superfície carregada.



**Figura 13** - Representação esquemática do potencial zeta.



Observando a Figura 13, é possível diferenciar três regiões bem definidas de distribuição de cargas sendo que a primeira delas é a camada de Stern na qual as cargas são praticamente imóveis e estão totalmente ligadas à superfície. A segunda região compreende uma situação intermediária entre cargas totalmente ligadas à superfície e cargas dispersas pela camada difusa (terceira região). O potencial nessa segunda região é justamente o potencial zeta.

O fator que mais influencia o potencial zeta é o pH. Quando a superfície de uma partícula apresenta valor negativo de potencial zeta e é submetida à adição de base (aumento de pH), ocorre um aumento do gradiente de cargas negativas e, se seqüencialmente adiciona-se ácido a esse meio (diminuição de pH), as cargas começam a serem neutralizadas até que se crie um gradiente de cargas negativas.

Durante esse processo, que pode ser considerado como uma titulação, existe um ponto no qual as cargas se neutralizam chamado de ponto isoelétrico ao redor do qual sistema é altamente instável.

Além do pH, a condutividade do meio no qual a partícula está inserida exerce grande influência nos valores de potencial zeta. Quanto maior a força iônica do meio, mais compacta será a dupla camada na superfície da partícula. Os íons presentes em solução podem interagir com a dupla camada de maneira inespecífica ou através de uma adsorção específica, situação que causa grande alteração no ponto isoelétrico do sistema.

Uma importante consequência da existência de cargas na superfície das partículas é que as mesmas podem se deslocar em relação a um campo elétrico aplicado. Essa resposta da partícula ao campo elétrico é chamada de maneira geral de efeito eletrocinético. Quando a carga se move no líquido devido à aplicação de um campo elétrico chamamos o efeito eletrocinético de eletroforese. Quando é o líquido que se move em relação a uma carga estacionária temos uma eletrosmose. Podem existir também situações nas quais um campo elétrico é gerado quando o líquido é forçado a fluir através de uma carga estacionária.

Finalmente, a movimentação de cargas pode ocorrer como efeito do potencial de sedimentação quando gera-se o campo elétrico mediante a sedimentação de partículas carregadas.

A eletroforese está entre as técnicas mais utilizadas para descrever o comportamento eletrocinético de uma dada espécie. Conforme já dito anteriormente, aplica-se um campo elétrico que causa o deslocamento de cargas na direção do eletrodo de carga oposta. As forças relacionadas à viscosidade do líquido podem se opor ao deslocamento da partícula até que um equilíbrio seja alcançado e a mesma possa se mover a uma velocidade constante.

Além da viscosidade, a velocidade de deslocamento da partícula (mobilidade eletroforética) depende também da intensidade do campo aplicado, da constante dielétrica do meio e do potencial zeta. Essa dependência é dada pela equação de Henry:

$$U_E \cdot 3\eta = 2\epsilon z f(\kappa \cdot a) \quad \text{onde } U_E = \text{mobilidade eletroforética}$$

$\eta$  = viscosidade

$\epsilon$  = constante dielétrica do meio

$z$  = potencial zeta

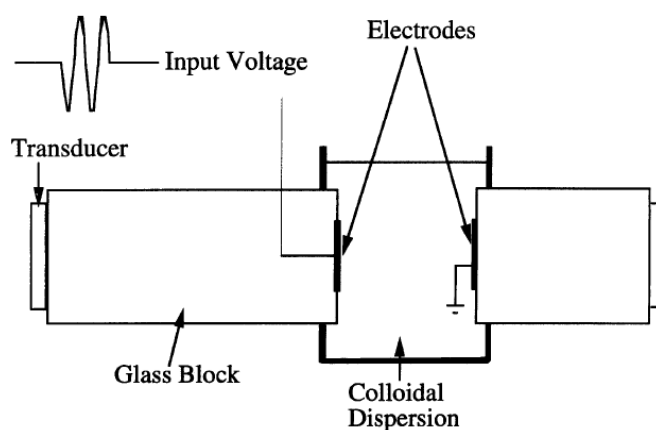
$f(\kappa \cdot a)$  = função de Henry

O termo  $\kappa$  relaciona-se com a espessura da dupla camada elétrica e “a” com o raio da partícula, portanto,  $\kappa a$  é a proporção entre a espessura da dupla camada elétrica e o raio da partícula. A determinação eletroforética do potencial zeta geralmente ocorre em meio aquoso com partículas de raio superior a 0,2  $\mu$ , utilizando eletrólitos de concentração moderada ( $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>) para os quais  $f(\kappa a)$  é igual a 1,5 (aproximação de Smoluchowski). Para partículas menores em meios não-aquosos  $f(\kappa a)$  é igual a 1,0 seguindo a aproximação de Huckel.

A magnitude e o sinal do potencial zeta na superfície dos sulfetos minerais são de grande importância para controle das interações entre as partículas do sulfeto, estudos de interações com os mais variados reagentes e avaliação do comportamento reológico que apresentam. Além disso, o potencial zeta permite diagnosticar a química da superfície e a pureza do sulfeto mineral. Os estudos de potencial zeta apresentam ainda como vantagem a possibilidade de realização de medidas em meio aquoso, fator especialmente importante para as partículas de sulfeto mineral susceptíveis à oxidação.

Geralmente a determinação do potencial zeta de sulfetos minerais é realizada por microeletroforese, técnica cuja desvantagem é a elevada diluição das suspensões de sólidos quando comparadas com os concentrados empregados no processamento mineral. Para suprir essa desvantagem, alguns trabalhos começaram a utilizar técnicas eletroacústicas para medida de potencial zeta uma vez que as mesmas permitem a utilização de uma porcentagem de sólidos superior aos métodos convencionais (PRESTIDGE; ROWLANDS, 1997).

O princípio da técnica é a aplicação de um campo alternado (ramo esquerdo da célula) que provoca a movimentação da suspensão particular, ocasionando a geração de ondas sonoras com a mesma frequência do campo aplicado. O ramo direito da célula possibilita a determinação da impedância acústica da suspensão. A Figura 14 é uma representação esquemática da configuração da célula presente no equipamento de medidas eletroacústicas.



**Figura 14** - Representação esquemática da célula presente no equipamento de medidas eletroacústicas (PRESTIDGE; ROWLANDS, 1997).

As ondas sonoras geram um sinal para o transdutor e, juntamente com a impedância acústica, permitem a determinação da mobilidade dinâmica. A mobilidade dinâmica depende principalmente da fração volumétrica da partícula, densidade do solvente, densidade da partícula, raio da partícula e viscosidade do solvente. Através da mobilidade dinâmica em diversos campos, com frequências distintas, obtêm-se um espectro de mobilidade dinâmica que permite determinar o potencial zeta e a distribuição de tamanho das partículas.

### 2.4.3. EXEMPLOS DE ESTUDOS DE SUPERFÍCIE ENVOLVENDO SULFETOS MINERAIS

A aplicação prática das informações geradas a partir de medidas de ângulo de contato e potencial zeta pode ser encontrada em diversos trabalhos, dentre eles o desenvolvido por Xia et al. (2008).

Nesse trabalho, os autores comparam células adaptadas e não adaptadas a calcopirita no que se refere à velocidade e porcentagem de recuperação de cobre.

As medidas de ângulo de contato permitiram verificar que as células adaptadas possuem caráter mais hidrofóbico que as não-adaptadas, podendo aderir mais facilmente à superfície da calcopirita.

A bactéria adaptada apresentou maior carga positiva quando crescida em valores de pH inferiores a 2,0. O potencial zeta também foi muito mais positivo para a bactéria adaptada reforçando a hipótese de que após adaptação foi sintetizada uma quantidade maior de proteína, possivelmente com agrupamentos amino. A justificativa para essa grande produção de proteína reside no fato da bactéria ter de aderir a um substrato sólido insolúvel (calcopirita) para obter energia.

Outros estudos desenvolvidos por Chandraprabha e Natarajan (2006) utilizaram medidas de mobilidade eletroforética para avaliar a química da superfície da pirita e da calcopirita após contato com a bactéria *Acidithiobacillus thiooxidans*. Após contato com a bactéria, os dois sulfetos minerais apresentaram uma diminuição da mobilidade eletroforética (relacionada com o potencial zeta pela equação de Henry) e um deslocamento do ponto isoelétrico para valores superiores de pH.

A bactéria também sofreu alterações após contato com os sulfetos minerais, de maneira mais acentuada para a pirita, apresentando deslocamento do ponto isoelétrico para valores maiores de pH e diminuição da mobilidade eletroforética. Os autores consideram que a diminuição da mobilidade eletroforética pode estar relacionada a um aumento de secreção de proteínas devido à interação da bactéria com os sulfetos minerais.

Finalmente, essas mudanças na superfície dos minerais após contato com a bactéria possibilitaram uma melhor separação desses sulfetos minerais por flotação utilizando o coletor xantato de potássio isopropílico.

Sendo assim, a utilização das técnicas de estudos de superfície, eletroquímicas e de microscopia eletrônica de varredura permitem avaliar de maneira completa os resíduos gerados pelos ensaios de biolixiviação. O estudo prévio dos potenciais redox das soluções lixiviantes também apresenta-se como ferramenta importante para o entendimento dos processos químicos envolvidos na biolixiviação.

### 3. OBJETIVOS

- Avaliar o efeito da utilização das bactérias *A. ferrooxidans*–LR e *A. thiooxidans* FG-01 na solubilização da calcopirita em biorreatores;
- Estudar o efeito da adição de íons cloreto e *Acidithiobacillus thiooxidans* durante o processo de dissolução da calcopirita em frascos agitados;
- Caracterizar os resíduos sólidos gerados durante os ensaios com frascos agitados utilizando técnicas eletroquímicas (voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica), difratometria de raios-X e microscopia eletrônica de varredura buscando identificar os principais produtos formados durante a oxidação da calcopirita;
- Estudar o potencial redox de soluções de diversas proporções do par  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ , em diferentes valores de pH, na presença de íons cloreto, íons cúpricos e calcopirita. Tal estudo buscou verificar o comportamento do potencial redox em condições próximas aquelas empregadas nos ensaios de biolixiviação, porém na ausência de bactéria;
- Realizar medidas de ângulo de contato para avaliar o grau de interação de diversas soluções lixiviantes com a superfície da calcopirita. É importante ressaltar que tais soluções eram compostas por agentes que potencialmente poderiam melhorar a solubilização do cobre presente na calcopirita de maneira direta ou indireta;
- Realizar medidas de potencial Zeta para avaliar a carga presente na superfície da calcopirita na presença de diferentes soluções;
- Realizar estudos de ruído eletroquímico em sistemas inoculados com *A. ferrooxidans* submetidos à adições sucessivas de pequenos incrementos de íons cloreto. O objetivo desse ensaio é estudar as perturbações causadas na superfície da calcopirita quando a mesma passa por adição de pequenos incrementos de cloreto e como a bactéria atua nestas situações.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Material de Partida

#### 4.1.1. Calcopirita

Foram utilizadas duas fontes de calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) com origens bem diferenciadas. A primeira proveniente da mina de Sossego-PA (cedida pela Companhia “Vale”) era uma amostra natural de calcopirita. As análises de difratometria de raios-X realizadas por Horta (2008) permitiram encontrar como impurezas mais importantes quartzo e compostos fosfatados de cálcio do tipo  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{S}$ ,  $\text{Ca}_9\text{HPO}_4(\text{PO}_4)_5\text{OH}$  ou  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ . No mesmo trabalho também foram realizadas análises da distribuição granulométrica da amostra, evidenciando grande distribuição de tamanho de partículas na faixa de  $0,1\mu\text{m}$  até  $100\mu\text{m}$ .

A outra fonte, cedida pela Escola de Engenharia Bioquímica da Pontifícia Universidade Católica de Valparaíso, Chile, provém de um concentrado de calcopirita da planta de fundição localizada em Ventana - Chile. A Tabela 2 mostra a composição química dessas amostras determinada por absorção atômica, na qual se pode notar que amostra de Ventana apresenta maiores quantidades de cobre, ferro e enxofre, fato já esperado por se tratar de um concentrado de calcopirita. Além disso, possui pequenas quantidades de zinco, alumínio e arsênio. A amostra de Sossego apresenta como diferença em relação à de Ventana, quantidades consideráveis de cálcio e sílica.

**Tabela 2** - Composição química das calcopiritas provenientes da mina de Sossego-PA e da fundição de Ventana-Chile.

| Fonte   | Cu % | Fe % | S %  | Zn % | As % | Al % | Ca % | Si % |
|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Ventana | 26,6 | 31,9 | 27,3 | 0,01 | 0,10 | 0,16 | 0,14 | 0    |
| Sossego | 23,0 | 27,3 | 22,9 | 0    | 0    | 0    | 7,0  | 3,2  |

#### 4.1.2. Material Biológico

Foram utilizadas as cepas *A. ferrooxidans*-LR isolada de uma lixívia ácida de mineral de urânio de Lagoa Real - Bahia e *A. thiooxidans*-FG01 isolada de drenagem ácida de mina de urânio de Figueira-Paraná (GARCIA JÚNIOR, 1991).

#### 4.1.3. Meio de cultivo

O meio de cultura T&K, desenvolvido por Tuovinen e Kelly (1973) foi usado para a manutenção periódica da linhagem bacteriana de *A. ferrooxidans*-LR e para a obtenção de suspensões celulares. O meio é composto das soluções A (0,5 g dos sais  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  e  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) e B (33,3 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ambas em pH 1,8.

A solução A foi esterilizada em autoclave (120°C, 20 min, 1 atm), e a solução B por filtração em membrana de éster de celulose (0,45  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro – Millipore – HAWP 04700). Usou-se uma mistura das soluções A e B na proporção 4:1.

Para manutenção periódica e obtenção de suspensões celulares de *A. thiooxidans*-FG01 foi utilizado o meio de cultura 9K (Silverman e Lundgren, 1959) com substituição da fonte energética, sendo composto por 0,15 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,025 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,025 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,005 g de KCl e 0,5 g de enxofre elementar (pH=2,8).

#### 4.2. Metodologia Analítica

##### 4.2.1. Medidas de pH e Eh

Para os ensaios de lixiviação e biorreatores, o pH e o potencial redox das amostras, coletadas a cada sete dias, foram medidos no sobrenadante com o eletrodo de pH, Hanna Instruments, HI9321PH e com o eletrodo de Eh, Schott, BlueLine 31 RX.

Para o estudo químico das soluções lixiviantes as medidas de pH e Eh foram realizadas com eletrodo combinado de vidro e eletrodo de Pt (contra  $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{\text{sat.}}$ ), respectivamente.

##### 4.2.2. Determinação de íons férricos e ferro total (KARAMANEV et al., 2002)



Para determinação de íons férricos 0,1mL das amostras foram colocados num balão volumétrico de 100 mL contendo 3 mL de solução de ácido sulfosalicílico 10%, completando-se o volume com água destilada. A leitura espectrofotométrica foi feita em relação a um branco no qual a amostra foi substituída por água destilada. O comprimento de onda para determinação de íons férricos foi 425 nm.

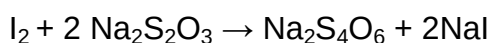
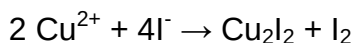
Para determinação de ferro total adicionava-se às soluções acima apresentadas (inclusive ao branco) 3 mL de solução de hidróxido de amônio 25%. A absorbância para determinação de ferro total foi lida a 500 nm.

A determinação das concentrações de íons férricos e ferro total foram realizados utilizando-se uma curva de calibração construída utilizando-se soluções padrões de  $\text{Fe}^{3+}$  com concentrações no intervalo de 10 a 100 ppm de  $\text{Fe}^{3+}$ . As medidas de absorbância foram feitas num espectrofotômetro Shimadzu UV-160A.

A concentração de íons ferrosos era determinada indiretamente através da diferença entre as concentrações de ferro total e íons férricos.

#### **4.2.3. Determinação de íons cúpricos (FLASHKA et al., 1969)**

A concentração de íons cúpricos era determinada indiretamente através de titulação com tiosulfato de sódio na presença de iodo. As principais reações envolvidas eram:



#### **Procedimento**

A 5 mL da amostra eram adicionadas gotas solução de permanganato de potássio (para oxidar os possíveis íons presentes em solução, principalmente ferrosos) até que a solução passasse a apresentar coloração rosa-pálida. Adicionava-se então meia espátula de acetato de sódio (para complexar os íons férricos), agitava-se rigorosamente e se deixava a solução em repouso durante 15 minutos.

Em seguida, a mesma era acidificada com 1mL de ácido acético glacial e se adicionava uma ponta de espátula de fluoreto de sódio, mediante agitação, até que a coloração passasse a azul celeste (indicativa da fixação dos íons férricos ao fluoreto). Finalmente adicionava-se meia espátula de iodeto de potássio e titulava-se com tiosulfato de sódio padronizado, utilizando amido como indicador.

### **4.3. Ensaio de biolixiviação**

Para realização dos ensaios de biolixiviação foram utilizados inóculos de *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* provenientes de soluções oxidadas do meio de cultivo T&K e 9K, respectivamente.

#### **4.3.1. Frascos agitados**

Os ensaios foram realizados em frascos erlenmeyer de 250 mL contendo a solução A do meio T&K e calcopirita (2,5% m/v) proveniente de Ventana. O volume final dos frascos foi de 150 mL e as condições experimentais testadas foram as seguintes:

1-) meio inoculado com *A. ferrooxidans*-LR (5% v/v) com adições sucessivas de cloreto a uma concentração de 0,05 mol L<sup>-1</sup> após 20, 26 e 30 dias;

2-) meio inoculado com *A. ferrooxidans*-LR (5% v/v) ) com adições sucessivas de cloreto a uma concentração de 0,1 mol L<sup>-1</sup> após 20 e 40 dias;

3-) meio inoculado com (5% v/v) da mistura das cepas *A. ferrooxidans*-LR e *A. thiooxidans*-FG01 em proporção volumétrica de 5:1 com adições sucessivas de cloreto a uma concentração de 0,05 mol L<sup>-1</sup> após 20, 26 e 30 dias.

Os resíduos sólidos gerados nas condições 1, 2 e 3 serão chamados **R1**, **R2** e **R3**, respectivamente. Todas as condições experimentais foram repetidas em controles abióticos e frascos inoculados na ausência de íons cloreto. A evaporação de cada frasco foi estimada pela perda de massa e compensada pela adição de água destilada esterilizada. Este controle foi feito a cada sete dias.

Periodicamente foram retiradas alíquotas das polpas dos frascos para separação das fases sólida e líquida. No sobrenadante foram realizadas medidas de pH, Eh, concentração de íons férricos e cúpricos. Os resíduos sólidos foram analisados por voltametria cíclica (CV), espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e difratometria de Raios-X (XRD).

#### **4.3.2. Biorreatores**

Os ensaios com biorreatores também foram realizados utilizando-se calcopirita proveniente da fundição de Ventana. Ocupou-se uma porcentagem de sólidos de 2,5 para estes ensaios que corresponde a uma massa de 50g para 2L de solução.

##### **4.3.2.1. Cultivo por lote com cultura de *A. ferrooxidans*-LR**

O ensaio foi realizado a uma temperatura próxima de 31°C utilizando termorregulador Julabo Labortechnik Deelbach modelo GMBH-D-7633, pH 1,8 e volume de 2 L. A velocidade de agitação de 500 rpm foi obtida com um rotor de agitação Heidolph RZR1 com hélice marinha. Um fluxo de ar de 1 L min<sup>-1</sup> foi regulado com um rotâmetro Coleparmer 60648 acoplado a um filtro de ar descartável Chromtech MCE 0,22 micrômetros. O pH foi controlado mediante adição de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Utilizou-se solução A do meio T&K e inóculo de *A. ferrooxidans*-LR (7,5% v/v) obtido de ensaio com frascos agitados sem cloreto.

##### **4.3.2.2. Cultivo por lote com mistura de culturas puras de *A. ferrooxidans*-LR e *A. thiooxidans*-FG01**

As condições para o lote com mistura de culturas foram as mesmas utilizadas para o cultivo puro, sendo utilizados inóculos de *A. ferrooxidans*-LR e *A. thiooxidans*-FG01 na proporção volumétrica de 5:1, respectivamente. A proporção entre a mistura de inóculos e o volume do reator foi de 7,5% v/v.

#### **4.4. Ensaios eletroquímicos**

##### **4.4.1. Preparo dos eletrodos de pasta de carbono (CPE's)**

Os eletrodos de pasta de carbono foram utilizados como eletrodos de trabalho para todos os ensaios eletroquímicos. Consistiam de uma pasta formada por grafite em pó (Aldrich), tamanho de partícula < 20 µm, espécie eletroativa (calcopirita ou os resíduos do ensaio de lixiviação em frascos devidamente triturados e homogeneizados para obter um tamanho de partícula próximo ao do grafite) e nujol numa proporção 4:1:3, respectivamente. A homogeneização da pasta era feita com 2,5 mL de clorofórmio. A pasta obtida era empacotada em uma cavidade no corpo do eletrodo, em contato com um disco de platina de área geométrica 7,54 mm<sup>2</sup>.

##### **4.4.2. Voltametria cíclica (CV)**

Para as medidas de voltametria cíclica, utilizou-se uma célula convencional de três eletrodos: CPE-calcopirita ou resíduos (eletrodo de trabalho), eletrodo de referência de Ag|AgCl|KCl<sub>sat</sub> e eletrodo auxiliar constituído por uma rede de platina com área bem maior que aquela do eletrodo de trabalho. A solução eletrolítica empregada foi a solução A do meio T&K preparada com reagentes de grau analítico e água Milli-Q, resistividade 18 MΩ cm.

As medidas de voltametria cíclica foram realizadas a 10 mV s<sup>-1</sup> com a célula eletroquímica conectada a um potenciostato MQPG-01, interligado a um computador por meio de uma interface MQI12/8PCC. A cada experimento, a solução eletrolítica e a pasta de carbono foram renovadas.

#### 4.4.3. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS)

Nas medidas de EIS utilizaram-se como eletrodo de trabalho CPE's cujas espécies eletroativas eram os resíduos sólidos gerados nos ensaios de biolixiviação em frascos. A célula eletroquímica era composta por eletrodo de trabalho (CPE), eletrodo auxiliar de rede de platina e eletrodo de referência de  $\text{Ag|AgCl|KCl}_{\text{sat}}$  conectado a um disco de platina através de um capacitor de 0,1  $\mu\text{F}$  (para eliminar ruídos espúrios). A solução eletrolítica empregada foi a solução A do meio T&K preparada com reagentes de grau analítico e água Milli-Q, resistividade 18  $\text{M}\Omega \text{ cm}$ . A cada experimento, a solução eletrolítica e a pasta de carbono foram renovadas.

Eram aplicados potenciais de circuito aberto para realização das medidas após estabilização do potencial do eletrodo em solução. O intervalo de frequências foi de  $1 \times 10^5$  a  $5 \times 10^{-3}$  Hz, com amplitude de 10 mV rms de perturbação no potencial e 10 pontos por década de frequência. As medidas foram realizadas para um eletrodo de trabalho, num potenciostato marca Gamry acoplado a um analisador de resposta de frequência (FRA-Frequency Response Analyser) modelo 1250. Os espectros de impedância eletroquímica foram ajustados pelo método dos mínimos quadrados não lineares utilizando-se o procedimento descrito por Boukamp (1985).

#### 4.4.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras submetidas a análises por microscopia eletrônica de varredura foram os resíduos sólidos **R2** e **R3** do ensaio de lixiviação em frascos. Tais resíduos foram lavados por três vezes com água ácida, secos a temperatura ambiente e armazenados em eppendorf contendo argônio. No momento da análise, as amostras foram colocadas em uma fita aderente condutora e, posteriormente submetidas à metalização com ouro. A camada de ouro formada após metalização era da ordem de nanômetros.

Foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura da marca Philips (modelo XL30) acoplado a um espectrômetro de energia dispersiva de raios-X.

#### 4.4.5. Medidas simultâneas dos ruídos eletroquímicos de potencial e de corrente

Para coleta dos dados de ENA utilizou-se um eletrodo de  $\text{Ag}|\text{AgCl}||\text{KCl}_{\text{sat}}$  como referência e outros dois eletrodos idênticos correspondentes ao CPE-calcopirita (proveniente de Sossego).

Foi utilizado um potenciostato marca GAMRY para registro dos ruídos de potencial e de corrente coletados simultaneamente a duas frequências de aquisição: 2Hz por 1024 segundos e 100 Hz por 21 segundos. A aquisição de pontos para a coleta e análise dos ruídos de potencial e de corrente foi realizada utilizando-se o programa ESA400.

As medidas de ruído eletroquímico foram utilizadas para avaliar a influência da adição de íons cloreto e da espécie *A. ferrooxidans*, linhagem LR, no processo oxidativo da calcopirita. Para tal avaliação foram feitos dois tipos de ensaio. No primeiro, a bactéria foi adicionada desde o início do ensaio, sendo posteriormente realizadas cinco adições sucessivas (concentração final de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) de íons cloreto a uma concentração de  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ . No segundo ensaio a bactéria foi adicionada após 90 h de ensaio, quando a concentração de cloreto no meio era de  $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ . Nesse mesmo ensaio, após adição da bactéria, ainda foram feitas mais quatro adições sucessivas de cloreto (concentração final  $0,14 \text{ mol L}^{-1}$ ) a uma concentração de  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  em cada uma das adições. O tempo exato para realizar as adições em ambos os ensaios foi determinado através da análise dos dados de ruído obtidos no decorrer dos mesmos. Quando os dados apontavam para uma estabilização dos sistemas, esses foram submetidos a novas perturbações mediante adição de íons cloreto.

É importante ressaltar que o inóculo utilizado nos dois ensaios foi constituído por células bacterianas limpas e ressuspensas em 5 ml da solução A do meio T&K (“pellets”) em pH 1,8. Tais pellets foram obtidos através da centrifugação de 1L de meio oxidado durante 60min a 4000 rpm (centrífuga Beckman Avanti J-25, rotor JA-10). As células assim coletadas foram lavadas três vezes com água ácida estéril (pH 1,8), centrifugando-se a suspensão a 4000 rpm por 15 minutos sob refrigeração (centrífuga Sorvall- RT7- Du Pont, rotor RTH-750). O sobrenadante foi desprezado e as células foram ressuspensas em 5 mL de solução A do meio T&K (pH 1,8).

#### **4.5. Estudos de superfície**

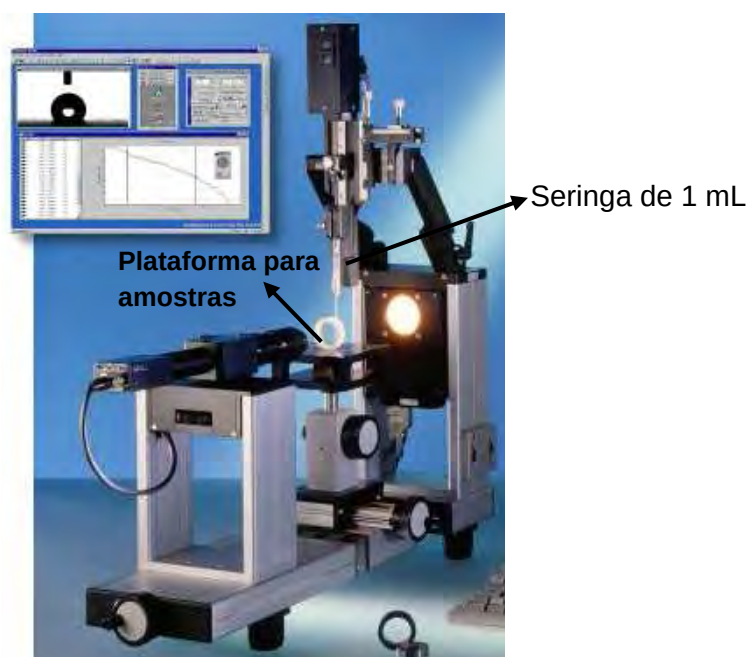
##### **4.5.1. Medidas de ângulo de contato**

Os líquidos utilizados nas medidas de ângulo de contato foram: água, água ácida pH 1,8, meio T&K, meio oxidado pela bactéria *A. ferrooxidans*-LR, solução contendo proteína rPCys (NOVO, 1993), tampão tris 0,01mol L<sup>-1</sup>/imidazol 0,01mol L<sup>-1</sup>, solução de ácido cítrico 0,5 %, cloreto de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup>, solução contendo o aminoácido cisteína em concentração de 1,0x10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> e suspensão celular de *A. ferrooxidans*. Foram analisadas as interações dos líquidos acima com peças maciças de calcopirita devidamente polidas (com lixas de 220 a 4000 µm). Também foram realizadas medidas com pastilhas de calcopirita utilizando uma massa de 2g (pó com granulometria <400 mesh) que foi colocada num pastilhador e posteriormente compactada, utilizando uma pressão de 12 t, com auxílio de uma prensa hidráulica com aquecimento da Solab (Figura 15).

Para realização de cada medida, as soluções foram colocadas em uma seringa de 1mL e a mesma foi acoplada ao equipamento de medida OCA20 da Dataphysics Instruments (Figura 16). No momento em que a gota (de volume aproximadamente igual a 15µL) tocava a superfície, a imagem filmada era congelada e armazenada. Os dados foram tratados com auxílio do software SCA20.



**Figura 15** - Imagem da prensa hidráulica com destaque para o pastilhador utilizado na confecção das pastilhas de calcopirita para as medidas de ângulo de contato.



**Figura 16** - Imagem do equipamento OCA20 utilizado para as medidas de ângulo de contato, com destaque para a plataforma de colocação das amostras e para a seringa na qual os líquidos eram inseridos.



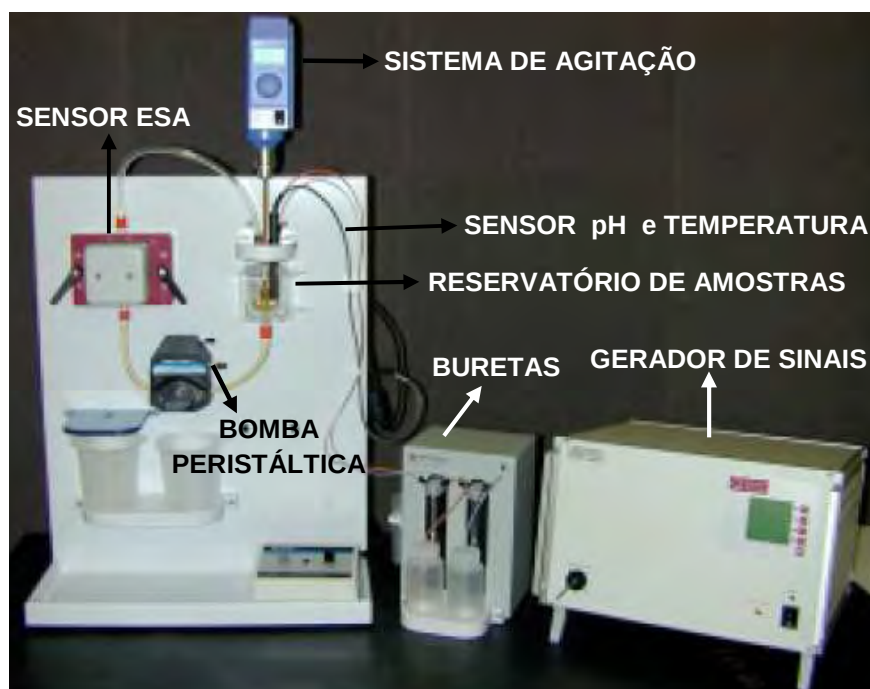
#### 4.5.2. Medidas de potencial Zeta

As medidas de potencial zeta foram realizadas com o equipamento AcoustoSizer IIM da marca Colloidal Dynamics (Figura 17). Todas as suspensões foram submetidas a titulações com hidróxido de sódio  $10 \text{ mol L}^{-1}$  e a cada incremento de base adicionado era realizada uma medida do potencial zeta. O tempo de espera entre a adição de base e a medida de potencial foi de 120 segundos e durante todo experimento a suspensão foi mantida sob agitação a uma velocidade de 2 rpm com auxílio de um agitador RW16 basic IKA-WERKE. Uma bomba peristáltica Masterflex L/S da Cole-Parmer Instruments manteve o fluxo do sistema.

O pH e a temperatura foram controlados durante todo experimento com auxílio de um sensor diretamente imerso na suspensão em estudo. As condições analisadas estão descritas na Tabela 3. As partículas de  $32 \mu\text{m}$  foram obtidas por simples peneiramento com peneira de 400 mesh e as de  $10 \mu\text{m}$  foram obtidas com auxílio de um moinho Atritor com rotação de 500 rpm por 1h.

**Tabela 3** - Descrição das suspensões de calcopirita (porcentagem de sólido 2,5) analisadas durante o experimento para medida de potencial zeta.

| <b>Tempo de contato anterior a medida/dias</b> | <b>Tamanho de partícula(<math>\mu\text{m}</math>)</b> | <b>Solução eletrolítica-<br/><math>1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}</math></b> |
|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| 0                                              | 32                                                    | sulfato                                                                           |
| 0                                              | 10                                                    | sulfato                                                                           |
| 7                                              | 32                                                    | sulfato                                                                           |
| 0                                              | 10                                                    | cloreto                                                                           |
| 0                                              | 32                                                    | cloreto                                                                           |



**Figura 17** - Imagem do equipamento Acoustosizer II e seus principais componentes.

#### 4.6. Estudos de potencial redox do par $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}]$

Neste ensaio procurou-se mimetizar as principais condições experimentais dos processos de biolixiviação, especialmente no que se refere à composição e pH do meio, porém na ausência de microrganismos. Inicialmente foram estudadas soluções de diferentes proporções de íons ferrosos/férricos (Tabela 4).

Numa etapa posterior, procurou-se estudar o comportamento de tais soluções na presença de calcopirita (porcentagem de sólidos 2,5), íons cloreto (concentração  $\text{mol L}^{-1}$ : 0,05, 0,1 e 0,2) e íons cúpricos (concentração  $\text{mol L}^{-1}$ : 0,10, 0,5, 1 e 2).

**Tabela 4** - Proporções de  $\text{Fe}^{2+}$ :  $\text{Fe}^{3+}$  mais freqüentemente encontradas nos ensaios de biolixiviação em frasco com calcopirita.

| Mistura | $[\text{Fe}^{2+}]/\text{mol L}^{-1}$ | $[\text{Fe}^{3+}]/\text{mol L}^{-1}$ | $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}]$ |
|---------|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| A       | 0,03                                 | 0,06                                 | 0,5                                 |
| B       | 0,06                                 | 0,03                                 | 2                                   |
| C       | 0,03                                 | 0,03                                 | 1                                   |
| D       | 0,06                                 | 0,06                                 | 1                                   |

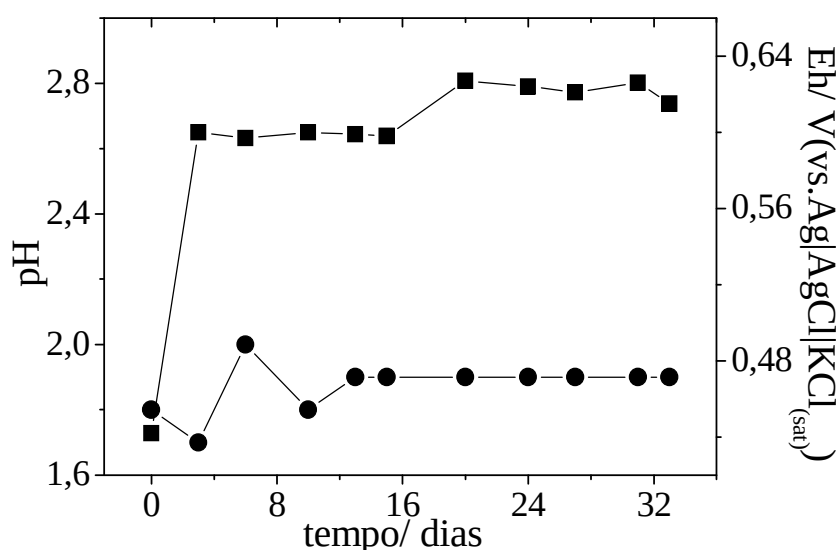
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO DE CALCOPIRITA (MINÉRIO VENTANA)

#### 5.1.1. ENSAIOS COM BIORREATORES

##### 5.1.1.1. LOTE COM *A. FERROOXIDANS*-LR

Nos ensaios de biolixiviação do minério de Ventana, o pH se manteve em valores próximos de 1,9 durante os 33 dias de ensaio, favorecendo o crescimento ótimo da bactéria que se dá entre 1,8 e 2,2. Os valores de Eh chegaram a um máximo de 0,63 V (vs. Ag/AgCl/KCl<sub>(sat)</sub>) após 20 dias de ensaio (Figura 18).



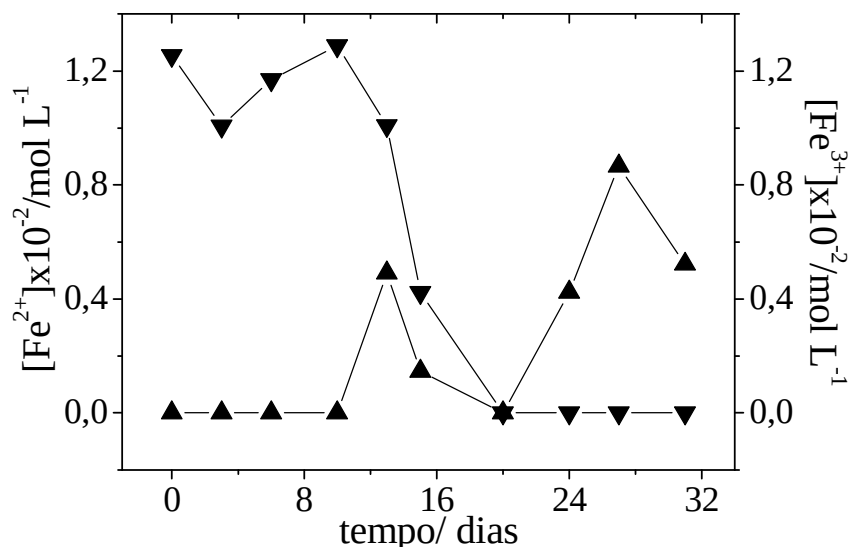
**Figura 18** - Valores de pH (●) e Eh (■) durante ensaio com cultura pura de *A. ferrooxidans*-LR.

Na Figura 19 estão representadas as concentrações de íons ferrosos e férricos em relação ao tempo para este mesmo ensaio. Pode-se observar que os íons ferrosos estavam presentes em concentrações muito baixas porque os mesmos não foram adicionados como fonte energética para a bactéria. A concentração desses íons apresentou uma pequena tendência ao aumento após o vigésimo dia de ensaio, o que pode ser atribuído à liberação de uma pequena quantidade desses íons a partir do sulfeto mineral.

Com relação aos íons férricos, a concentração nos primeiros dias de ensaio foi de aproximadamente  $0,012 \text{ mol L}^{-1}$ , o que é proveniente do inóculo adicionado no início do ensaio. A concentração desses íons começou a diminuir a partir do nono dia de ensaio possivelmente devido a precipitação na forma de jarositas ou pelo ataque deste íon ao substrato.

A porcentagem de extração de cobre atingiu um máximo de 6% no começo do ensaio e, em seguida, decaiu até o último dia, quando chegou a um valor próximo de 2,2%. As baixas porcentagens podem ser justificadas pela fonte de calcopirita utilizada neste ensaio, ou seja, um concentrado de flotação com elevadas quantidades desse sulfeto mineral altamente refratário. Além disso, o concentrado de flotação foi a única fonte energética disponibilizada para bactéria.

Possivelmente, se as bactérias tivessem sido submetidas a uma adaptação prévia à calcopirita, a adesão poderia ser mais eficiente e permitir uma melhor recuperação do metal presente no substrato.



**Figura 19** - Valores de concentração de ferro (II) (▲) e ferro (III) (▼) durante ensaio por lote com cultura pura de *A. ferrooxidans*-LR.

#### 5.1.1.2. LOTE COM A MISTURA *A. FERROOXIDANS*-LR E *A. THIOXIDANS*-FG01

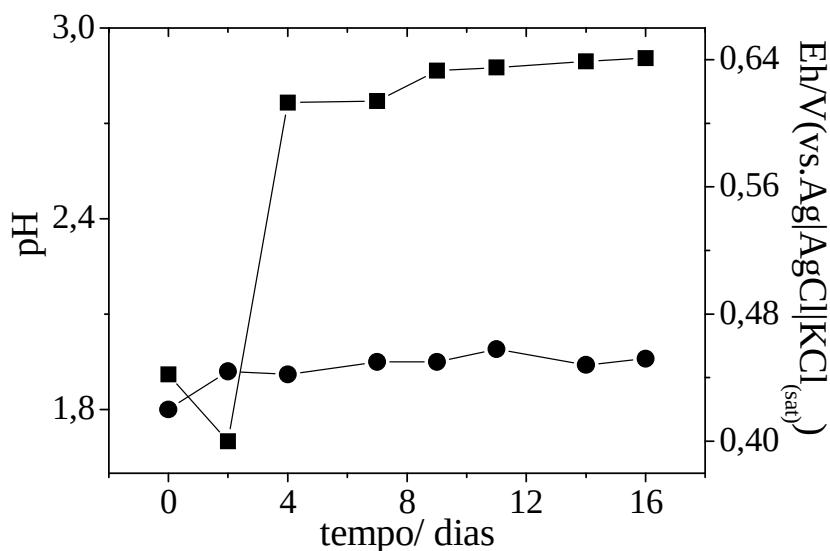
A Figura 20 mostra os valores de pH e Eh para o ensaio com a mistura de culturas bacterianas. Observa-se que os valores de Eh são altos durante todo o ensaio e o pH se mantém em torno de 2.

Para os íons ferrosos observa-se um comportamento irregular durante o ensaio enquanto que a concentração de íons férricos aumenta entre o quarto e o décimo quarto dia (Figura 21).

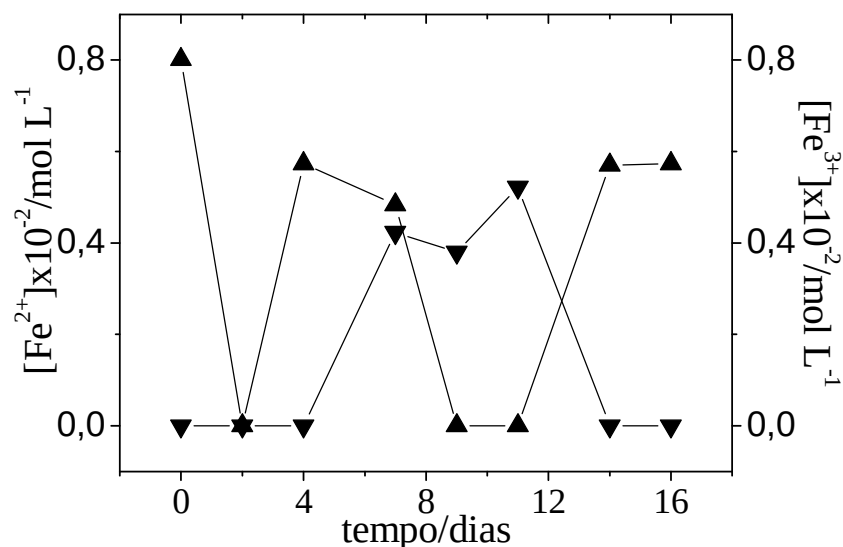
A extração final de cobre chegou a aproximadamente 5% após 16 dias de ensaio. Assim como no ensaio anterior, isso pode ser explicado pela fonte energética oferecida às bactérias (concentrado de calcopirita) e/ou pelo menor período de incubação empregado no presente ensaio (16 dias).

Consequentemente, se a *A. ferrooxidans* não foi capaz de oxidar a calcopirita pelos motivos já mencionados e a *A. thiooxidans* foi impossibilitada de exercer sua função principal no consórcio, ou seja, consumir (como uma fonte energética) a camada de enxofre formada durante a oxidação da calcopirita.

Isso também explica os valores de pH acima do esperado para um meio em presença de *A. thiooxidans*, no qual a oxidação de enxofre a sulfato provocaria uma liberação maior de prótons.



**Figura 20** - Valores de pH (●) e Eh (■) durante ensaio por lote com a mistura de culturas de *A. ferrooxidans*-LR e *A. thiooxidans*-FG01.



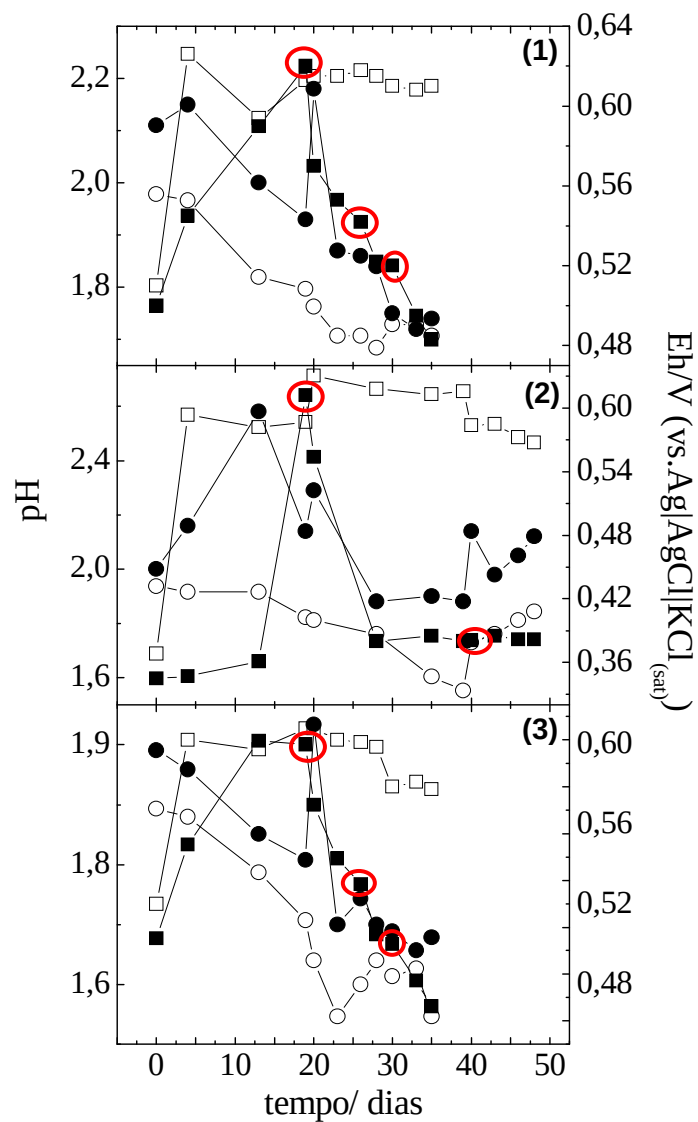
**Figura 21** - Valores de concentração de ferro (II) (▲) e ferro (III) (▼) durante ensaio por lote com a mistura de *A. ferrooxidans*-LR e *A. thiooxidans*-FG01.

### 5.1.2. ENSAIOS EM FRASCOS AGITADOS

Os valores de pH e Eh para todos os frascos inoculados na ausência (símbolos vazios) e presença de íons cloreto (símbolos cheios) estão mostrados na Figura 22. Os pontos em destaque no gráfico referem-se ao momento no qual os íons cloreto foram adicionados. Os dados para os controles abióticos não estão mostrados.

O tempo de duração do ensaio no qual foram adicionados dois incrementos de 0,1 mol L<sup>-1</sup> de íons cloreto (Figura 22-2) foi maior, pois procurou-se verificar se poderia ocorrer alguma alteração vários dias após a segunda adição.

Pode-se verificar que os valores de pH praticamente não variaram para os frascos com adição de 0,05 (Figura 22-1) ou 0,1 mol L<sup>-1</sup> (Figura 22-2) de íons cloreto, e foram ligeiramente menores para os controles sem cloreto. No caso do frasco com a mistura bacteriana (Figura 22-3), os valores de pH foram menores devido à presença de *A. thiooxidans*-FG01 que contribui para o aumento da acidez devido à produção de ácido sulfúrico proveniente da oxidação de enxofre elementar.



**Figura 22** - Valores de pH(círculos) e Eh (quadrados) para frascos inoculados com adição de íons cloretos (símbolos cheios) e sem adição de íons cloreto (símbolos vazios). **(1)** *A.f.* + 3 adições de 0,05 mol L<sup>-1</sup> de Cl<sup>-</sup>; **(2)** *A.f.* + 2 adições de 0,1 mol L<sup>-1</sup> de Cl<sup>-</sup>; **(3)** *A.f./A.t* + 3 adições de 0,05 mol L<sup>-1</sup> de Cl<sup>-</sup>.

Os valores de potencial de oxirredução se mantiveram altos ( $\approx 0,62$  V) para os frascos inoculados sem adição de íons cloreto. Os frascos com adição de cloreto na concentração  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (Figura 22-2) tiveram uma diminuição mais acentuada nos valores de potencial do que aqueles com adições de  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  (Figuras 22-1 e 22-3). Os frascos controle apresentaram valores de potencial redox próximos a  $0,35$  V durante todo o ensaio (dados não mostrados).

Em relação aos íons ferrosos, todos os frascos apresentaram concentrações muito próximas de  $0,35 \text{ g L}^{-1}$  ao longo de todo ensaio. A concentração de íons férricos se manteve constante e da ordem de  $0,3 \text{ g L}^{-1}$  para os frascos inoculados com adição de cloreto. Novamente, a única fonte energética disponibilizada para a bactéria foi o concentrado de flotação de Ventana (altamente refratário). Sendo assim, as bactérias presentes nos frascos que sofreram adição de cloreto tiveram sua atividade oxidativa prejudicada por terem que extrair energia de um substrato sólido refratário e ainda serem estressadas pela presença dos íons cloreto. Também nesse caso, uma adaptação prévia a calcopirita e aos íons cloreto poderia repercutir em melhores resultados. Os frascos sem cloreto apresentaram maiores concentrações de ferro (III) (em torno de  $1 \text{ g L}^{-1}$ ) e uma tendência de aumento durante os ensaios.

A extração final de cobre foi em torno de 7% para os frascos inoculados com adição de cloreto, 3,5% para os frascos inoculados sem adição de cloreto e 1,5% para os frascos abióticos com cloreto. As baixas porcentagens de extração mostram que possivelmente ocorreu um ataque químico à superfície da calcopirita devido à presença dos íons cloreto e ao ambiente ácido dos meios de cultivo. A bactéria não adaptada pode ter sido prejudicada pela presença desses íons e ter desempenhado apenas parcialmente sua função de oxidar a calcopirita para obtenção de energia.

#### **5.1.2.1. ESTUDOS ELETROQUÍMICOS E DE MICROSCOPIA DOS RESÍDUOS SÓLIDOS**



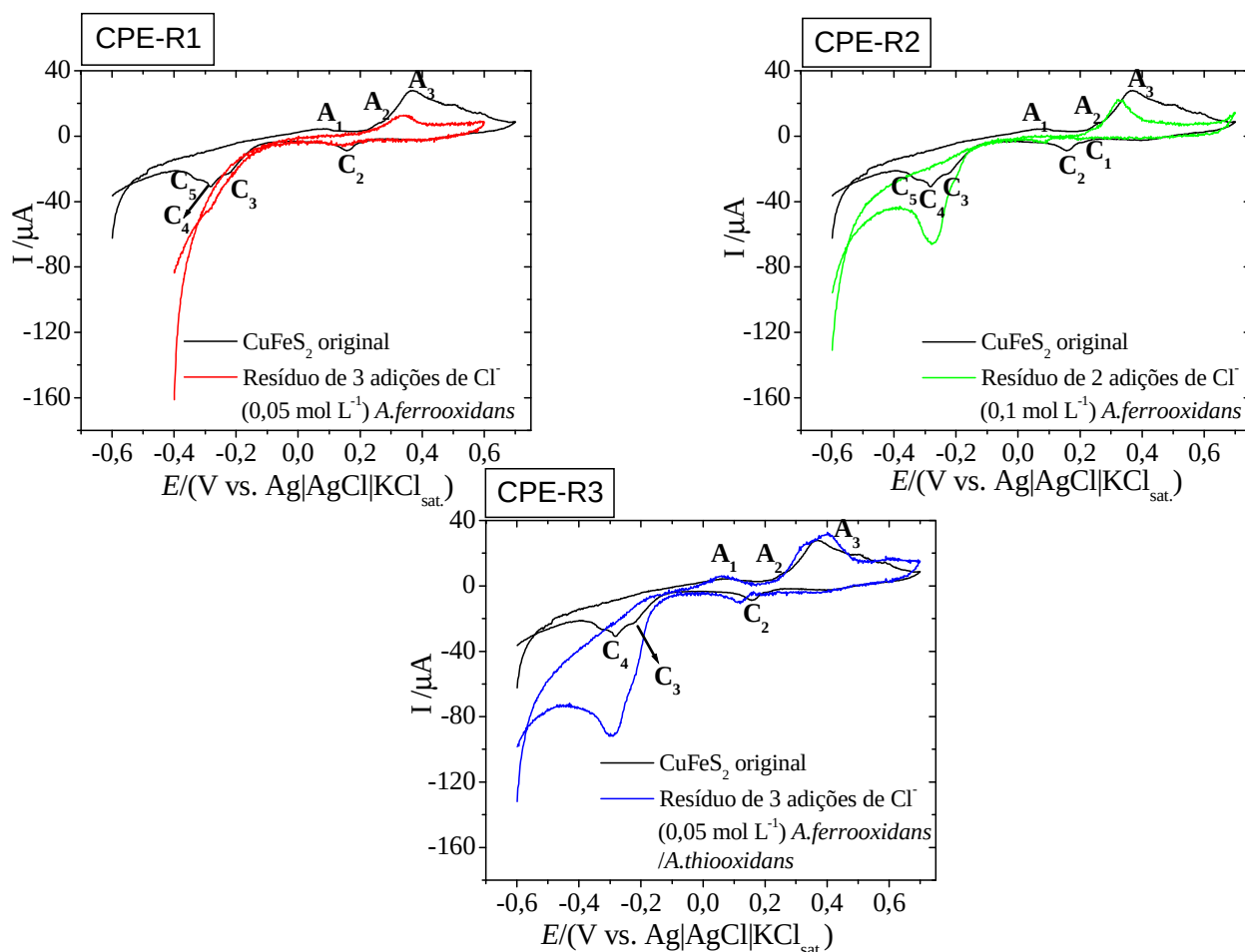
Os resíduos finais do ensaio de lixiviação em frascos agitados analisados por técnicas eletroquímicas e de microscopia foram denominados: **R1** (calcopirita após ensaio de biolixiviação em presença de *A. ferrooxidans*-LR com adições sucessivas de  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  de cloreto até concentração final de  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ ); **R2** (calcopirita após ensaio de biolixiviação em presença de *A. ferrooxidans*-LR com adições sucessivas de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de cloreto até concentração final de  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ) e **R3** (calcopirita após ensaio de biolixiviação em meio inoculado com a mistura *A. ferrooxidans*-LR e *A. thiooxidans*-FG01 com adições sucessivas de  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  de cloreto até concentração final de  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ ).

#### 5.1.2.1.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA

Os voltamogramas obtidos para os resíduos sólidos do ensaio de lixiviação em frascos foram comparados com os obtidos para uma amostra de calcopirita original, também proveniente de Ventana. Tais voltamogramas estão ilustrados na Figura 23 (varredura na direção positiva) e na Figura 24 (varredura na direção negativa).

Através da Figura 23 é possível verificar que as correntes de pico não se alteraram consideravelmente na região anódica. Para a região catódica, é possível observar um aumento considerável da intensidade de corrente do máximo  $C_4$ , que aparece bem mais intenso do que na amostra original para os CPE-R2 e CPE-R3. Nenhuma afirmação pode ser feita em relação a esse pico para o CPE-R1, uma vez que a varredura de potenciais empregada foi distinta.

A amostra original apresentou vários picos anódicos e catódicos que não foram mantidos em sua totalidade nos voltamogramas dos resíduos, uma vez que a calcopirita, após o ensaio de lixiviação, tende a gerar produtos ainda mais refratários como jarositas e enxofre, geralmente na forma  $S_8$  (Klauber, 2008). Os picos anódicos da amostra original podem estar relacionados à oxidação da calcopirita a bornita ( $Cu_5FeS_4$ ) e, posteriormente a covelita ( $CuS$ ). Os picos catódicos da mesma possivelmente relacionam-se à redução de covelita a calcocita ( $Cu_2S$ ) via compostos intermediários não estequiométricos (Bevilaqua et al., 2009).



**Figura 23** - Voltamogramas cíclicos do eletrodo de CPE-calcopirita(preto) e dos resíduos: CPE-R1(vermelho); CPE-R2(verde) e CPE-R3(azul). Os voltamogramas foram realizados em solução A do meio T&K ( $\text{pH}=1,8$ ),  $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$  e para a direção positiva. Os picos indicados referem-se ao voltamograma do CPE-calcopirita.

O pico anódico  $A_3$  foi mantido para todos os resíduos embora, em relação ao voltamograma da amostra original, apareceu com menor intensidade no CPE-R1 e se deslocou para potenciais ligeiramente menos positivos no CPE-R2. Para o CPE-R3 o pico  $A_1$  também foi mantido, enquanto nos demais desapareceu. No voltamograma deste mesmo resíduo o pico  $C_2$  se manteve embora tenha aparecido com um leve deslocamento para potenciais mais negativos em relação à amostra original.

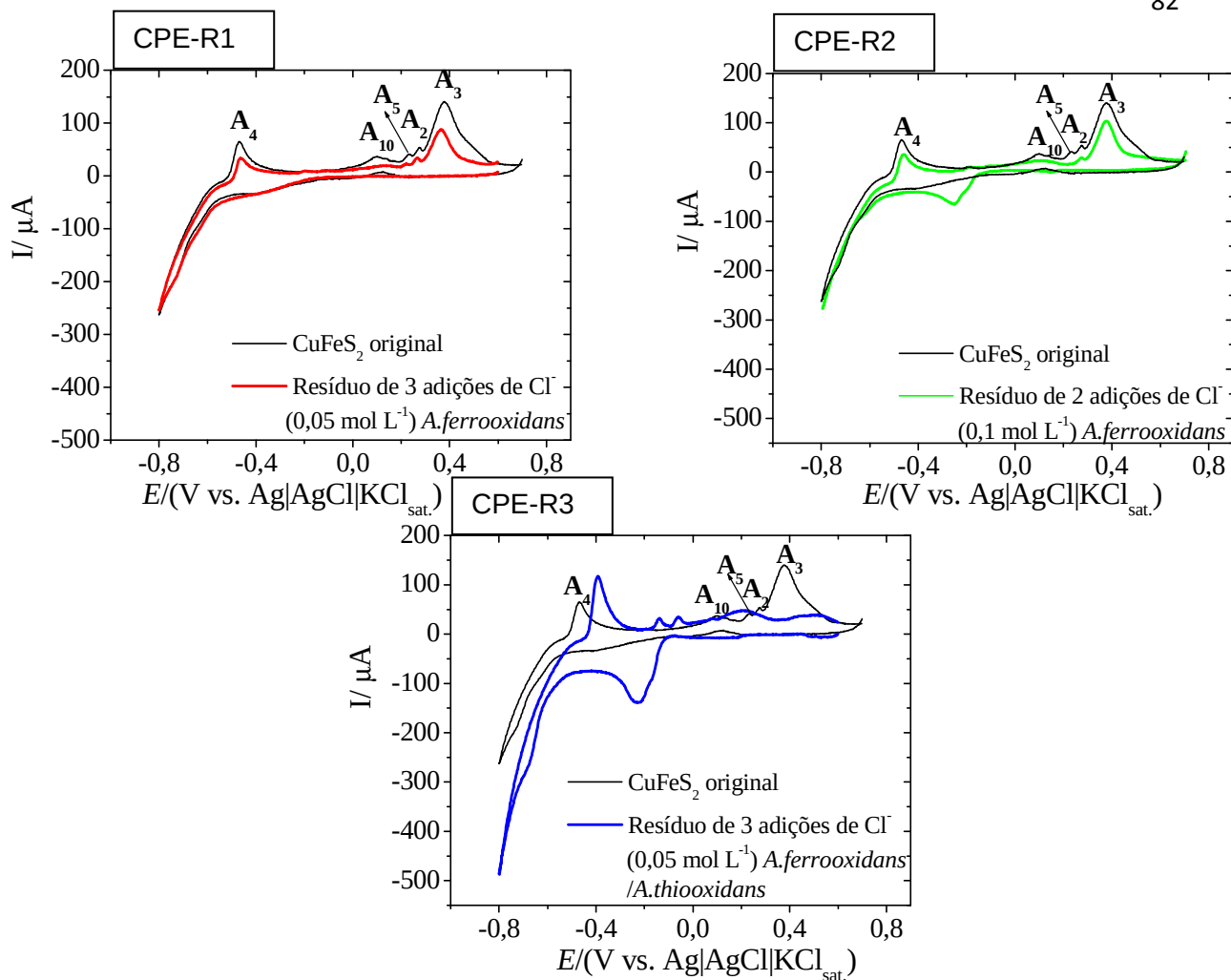
Analisando os voltamogramas para a direção negativa (Figura 24), observaram-se cinco picos anódicos  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$ ,  $A_5$  e  $A_{10}$  para a amostra de calcopirita original e nenhum pico catódico. A manutenção do pico  $A_3$  para a amostra original é um indício de que o mesmo forma-se independentemente de qualquer produto de redução da calcopirita, uma vez que aparece também quando se inicia a varredura na direção positiva.

O pico  $A_4$  se manteve em todas as condições, indicando a formação de um produto de oxidação que se reduz independentemente da presença de íons cloreto.

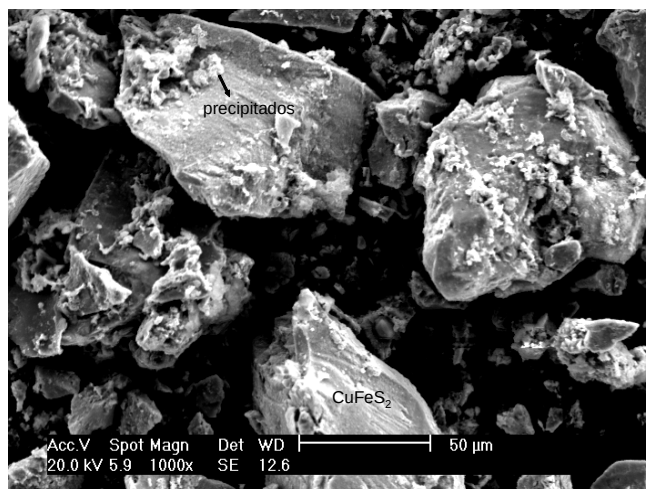
Para o CPE-R1 observou-se a manutenção dos picos  $A_2$  e  $A_3$  e nenhum pico catódico quando se iniciou a varredura para direção negativa. Tais informações são indício de uma superfície altamente refratária.

Para o CPE-R2 foi possível observar a manutenção de  $A_2$ ,  $A_3$  e  $A_{10}$ . Além do mais surgiu um novo pico  $C_3$  (-0,26 V) de pequena intensidade provavelmente relacionado à formação de algum produto de oxidação diferente da amostra original, porém ainda com caráter refratário.

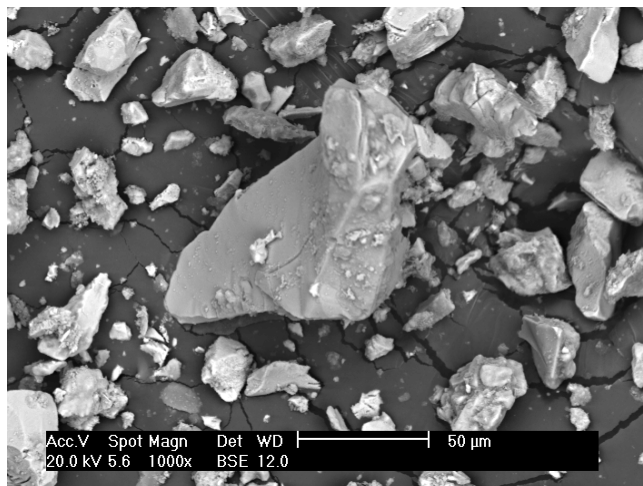
Novos picos anódicos  $A_7$  (-0,14 V) e  $A_8$  (-0,059 V), não indicados na Figura 25, surgiram para o CPE-R3 e devem estar relacionados à oxidação de um novo produto presente na superfície do resíduo R3. Também se observou para esse resíduo o pico catódico  $C_3$ , porém com intensidade de corrente maior que para o caso de CPE-R2. Considerando essas informações, o resíduo R3 parece ter sido o mais modificado durante o ensaio de lixiviação em frascos. As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), acopladas ao EDS, mostraram maior quantidade de precipitados para o resíduo R3 (Figura 25) quando comparado com R2 (Figura 26), sendo que tais precipitados poderiam ser jarositas ou enxofre elementar.



**Figura 24:** Voltamogramas cíclicos do eletrodo de CPE-calcopirita(preto) e dos resíduos: CPE-R1(vermelho); CPE-R2(verde) e CPE-R3(azul). Os voltamogramas foram realizados em solução A do meio T&K (pH=1,8),  $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$  e para a direção negativa. Os picos indicados referem-se ao voltamograma do CPE-calcopirita.



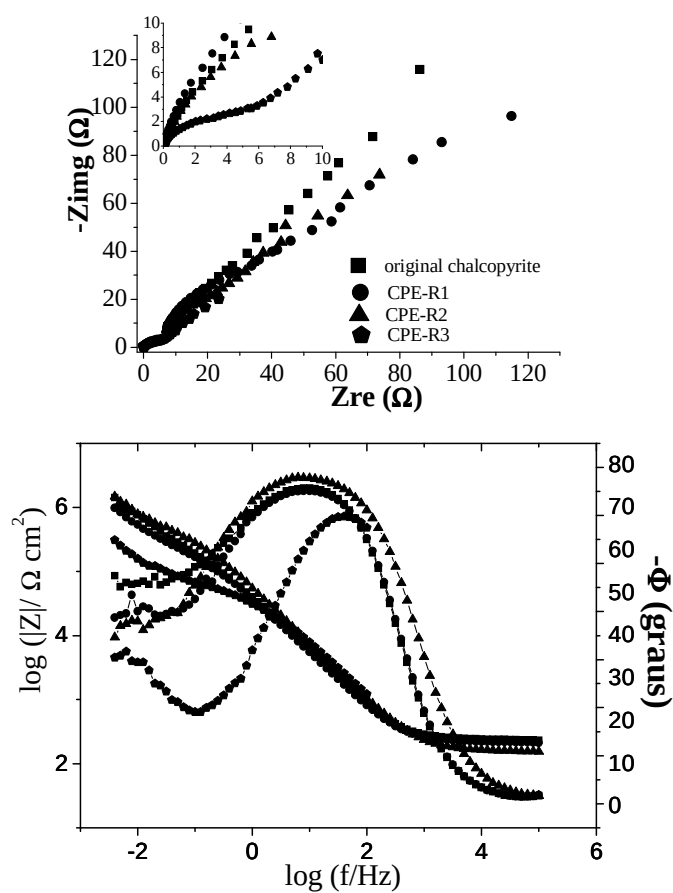
**Figura 25:** Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) obtida para o resíduo R3.



**Figura 26:** Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) obtida para o resíduo R1.

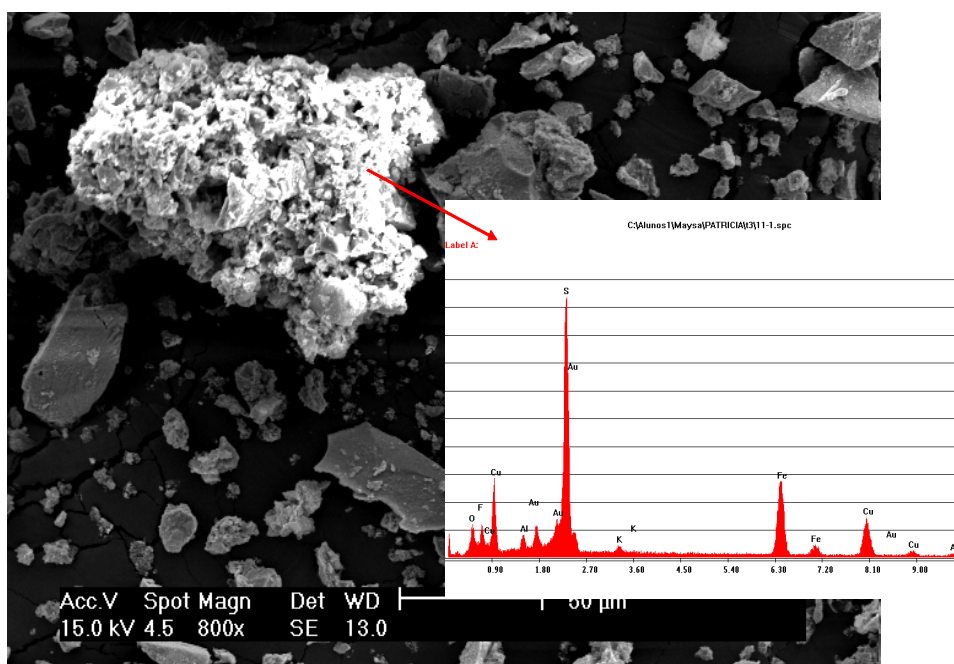
#### 5.1.2.1.2. ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA

Os resultados das medidas de impedância eletroquímica estão mostrados na Figura 27.



**Figura 27:** Gráficos de EIS para calcopirita e resíduos R1, R2 e R3.

O módulo da impedância da amostra R3 diminuiu quando comparado com R1 e R2, seguindo a ordem: calcopirita > **R1**  $\cong$  **R2** > **R3** em 5 mHz. Os gráficos para ângulo de fase são similares para calcopirita, R1 e R2 enquanto que para R3 o ângulo de fase diminui de 75° para 65° e a constante de tempo se deslocou para região de maiores frequências (de 6Hz para 56Hz). Provavelmente, a bactéria *A. thiooxidans* ajuda a evitar ou diminuir a formação de uma camada fina e compacta, provavelmente de enxofre (ver Figura 28), ou a aumentar a porosidade de tal camada, apresentando uma resistência de polarização na região de altas frequências com relação às outras amostras. Tais informações são coerentes com a análise de EDS que mostram fases ricas enriquecidas com enxofre na superfície de R3 (Figura 28). As mudanças significativas observadas para o resíduo R3 sugerem que a presença da mistura de culturas pode modificar o processo de oxidação, consumindo algum intermediário inibitório para a dissolução do cobre presente na calcopirita ou formando outros produtos.



**Figura 28:** Imagem de MEV obtida para o resíduo R3. Em destaque análise de EDS para um dos precipitados formados na superfície do resíduo.

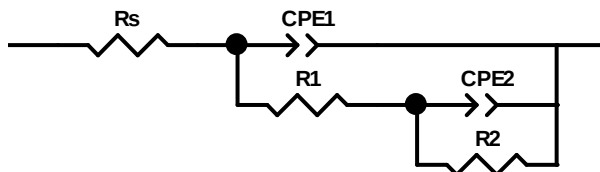
Os diagramas de EIS para esses resíduos foram modelados como uma interface mineral/camada/eletrolito na qual o sulfeto mineral original está parcialmente exposto à solução lixiviante, sugerindo o uso de um circuito elétrico equivalente com os elementos em paralelo. O circuito equivalente (Figura 29) foi proposto para ajustar os dados e é aplicável a todas as condições estudadas. No mesmo,  $R_s$  corresponde à resistência do eletrólito parecendo ter outra resistência em série ainda não atribuída.  $R_1/CPE_1$  está relacionado com o possível filme de enxofre formado na superfície e  $R_2/CPE_2$  refere-se às características superficiais da calcopirita. A Tabela 5 mostra os parâmetros ajustados para os resultados experimentais com o circuito equivalente da Figura 29.

**Tabela 5:** Parâmetros de impedância obtidos para calcopirita e resíduos R1, R2 e R3. Os valores entre parênteses indicam os erros.

| Amostra                     | $R_s / \Omega$ | $R_1 / \Omega$              | $Y_1 \cdot 10^{-6} / \mu F \text{ cm}^{-2}$ | $n_1$          | $R_2 / \Omega$              | $Y_2 \cdot 10^{-6} / \mu F \text{ cm}^{-2}$ | $n_2$          | $\chi^2$             |
|-----------------------------|----------------|-----------------------------|---------------------------------------------|----------------|-----------------------------|---------------------------------------------|----------------|----------------------|
| <b>Calcopirita original</b> | 239<br>(0,55)  | $2,1 \times 10^5$<br>(8,48) | 4,67<br>(1,44)                              | 0,87<br>(0,30) | $1,3 \times 10^7$<br>(51,3) | 5,9<br>(5,78)                               | 0,61<br>(4,15) | $6,3 \times 10^{-4}$ |
| <b>R1</b>                   | 217<br>(0,53)  | $2,3 \times 10^5$<br>(3,94) | 3,60<br>(1,09)                              | 0,86<br>(0,24) | $2,2 \times 10^6$<br>(11,5) | 13<br>(6,37)                                | 0,74<br>(3,22) | $5,8 \times 10^{-4}$ |
| <b>R2</b>                   | 160<br>(0,65)  | $4,9 \times 10^5$<br>(3,86) | 5,21<br>(1,04)                              | 0,87<br>(0,22) | $2,4 \times 10^6$<br>(12,0) | 11,3<br>(10,8)                              | 0,80<br>(4,32) | $8,0 \times 10^{-4}$ |
| <b>R3</b>                   | 56<br>(0,60)   | $5,3 \times 10^4$<br>(6,8)  | 4,35<br>(5,48)                              | 0,81<br>(1,47) | $1,5 \times 10^6$<br>(62)   | 38<br>(8,4)                                 | 0,62<br>(6,26) | $2,3 \times 10^{-3}$ |

A soma dos desvios quadráticos entre os dados experimentais e calculados,  $\chi^2$ , apresentou valores aceitáveis, sugerindo que o circuito proposto está adequado para explicar os espectros de EIS. O elemento  $CPE_1$  apresentou valores constantes e  $n_1$  foi próximo de 0,85 para todas as amostras. Valores de  $n_1$  entre 0,5 e 1 estão associados à rugosidade e heterogeneidade de cargas na superfície do eletrodo. A possível camada de enxofre formada em R3 pode diminuir a área ativa do eletrodo, causando uma diminuição da heterogeneidade que pode ser compensada pelo aumento da rugosidade na superfície.

O elemento  $CPE_2$  tem menor valor para a amostra original de calcopirita e os valores de  $n_2$  para a mesma permanecem entre 0,5 e 1. O valor de  $R_2$  para calcopirita foi de uma ordem de magnitude maior que aquele encontrado para os resíduos. A Tabela 5 também mostra que a resistência da solução ( $R_s$ ) é menor para o resíduo R3, indicando alterações na superfície do mesmo.



**Figura 29:** Circuito elétrico equivalente proposto para linearização dos espectros de impedância da calcopirita e dos resíduos R1, R2 e R3.

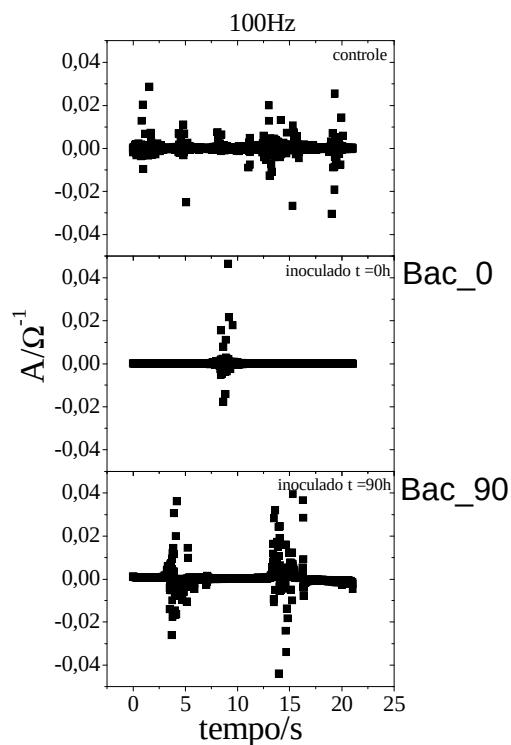
## 5.2. ANÁLISE DO RUÍDO ELETROQUÍMICO DE SISTEMAS INOCULADOS COM *A. FERROOXIDANS* NA PRESENÇA DE ÍONS CLORETO

O estudo do efeito corrosivo ocasionado pela adição de pequenos incrementos ( $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ ) de íons cloreto sobre o CPE-calcopirita foi realizado empregando-se ruído eletroquímico através da análise de gráficos de admitância (PARK; KWON, 2005). A admitância pode ser definida como  $A_c = \sigma I / \sigma E$ . Os gráficos de admitância para todas as condições estudadas no presente ensaio, antes da 1ª adição de íons cloreto, estão mostrados na Figura 30. Os gráficos obtidos momentos após a 1ª adição de cloreto estão mostrados na Figura 31.

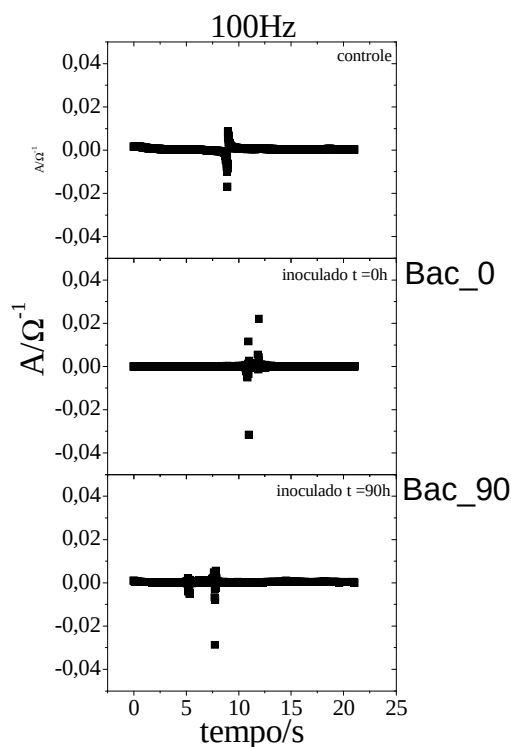
Para facilitar a descrição dos gráficos de admitância o ensaio no qual a bactéria foi adicionada em  $t = 0 \text{ h}$  será denominado Bac\_0 e o ensaio no qual a bactéria foi adicionada em  $t = 90 \text{ h}$  será chamado Bac\_90.

Pode-se verificar através da Figura 30 que a admitância antes da adição de íons cloreto é similar para situação controle e para Bac\_90. No ensaio Bac\_0 os pontos estão menos dispersos, o que pode significar que a bactéria presente no meio impede o fluxo de elétrons na superfície do eletrodo mediante adesão.





**Figura 30:** Espectros de admitância ( $A_c$ ) correspondentes ao controle, ensaio inoculado em  $t = 0$  e ensaio inoculado em  $t = 90h$  antes da 1ª adição de cloreto.

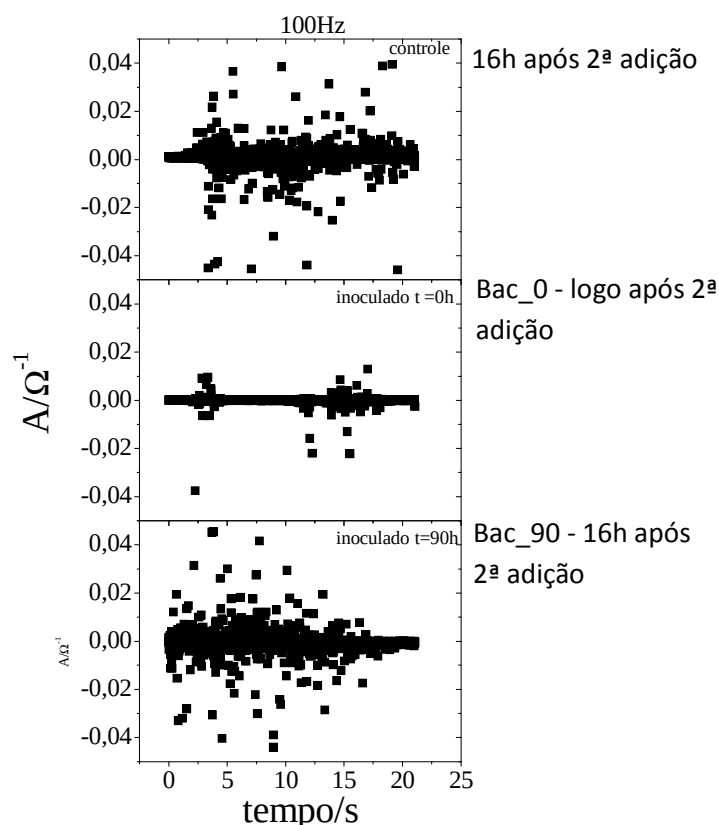


**Figura 31:** Espectros de admitância ( $A_c$ ) correspondentes ao controle, ensaio inoculado em  $t = 0$  e ensaio inoculado em  $t = 90h$  momentos após a 1ª adição de cloreto.

Logo após a adição do primeiro incremento de  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  de cloreto (Figura 31) não foram observadas mudanças significativas nos gráficos de

admitância. No entanto, após 16h uma considerável dispersão de pontos foi observada para o sistema Bac\_90 que retorna ao estágio inicial em  $t = 21$  h. Considerando que o controle é igual ao sistema Bac\_90 antes da adição de bactéria, seria esperado que ambos tivessem o mesmo comportamento. A diferença observada pode ser devido ao fato dos eletrodos de pasta de carbono não serem idênticos.

A 2ª adição de íons cloreto causou mudanças significativas após 16 h para o controle e para Bac\_90. No caso de Bac\_0 as mudanças foram pouco significativas e ocorreram imediatamente após a adição. A Figura 32 mostra o comportamento da admitância para todas essas situações.



**Figura 32:** Espectros de admitância ( $A_c$ ) correspondentes ao controle, ensaio inoculado em  $t = 0$  e ensaio inoculado em  $t = 90$ h momentos após a 2ª adição de cloreto.

A adição do terceiro incremento de cloreto teve pouco efeito sobre o ensaio Bac\_0. Para o controle a perturbação gerada pela terceira adição foi intensa e, o sistema demorou cerca de 48h para retornar ao seu estágio inicial. No caso de Bac\_90, observou-se uma resposta à 3ª adição de cloreto aproximadamente 10 horas após a mesma. Quando o sistema retornou ao estágio inicial a bactéria *A. ferrooxidans* LR foi adicionada e o sistema foi monitorado até que fosse observada uma estabilização.

A 4ª adição de cloreto provocou o mesmo comportamento da 3ª adição para o sistema controle e para o sistema Bac\_0. No caso de Bac\_90, a adição do quarto incremento não teve muito efeito possivelmente porque a bactéria adicionada pode ter aderido à superfície do substrato. Somente os sistemas controle e Bac\_90 responderam à quinta, sexta e sétima adições de íons cloreto.

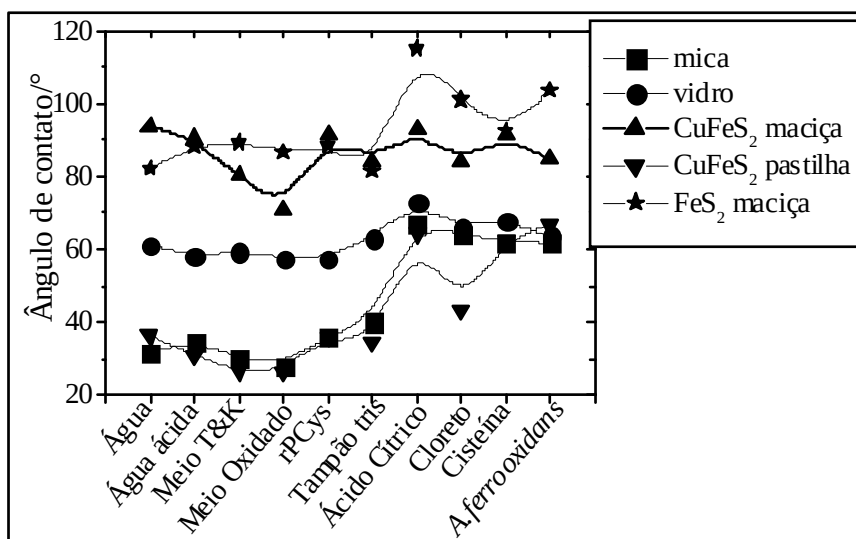
A adição de bactéria após 90 h de ensaio ( $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ ) parece ter sido mais promissora do que no caso do ensaio onde a mesma é adicionada desde o início. Isso porque o sistema Bac\_90 respondeu de maneira mais eficiente a todas as adições de cloreto, inclusive à 5ª adição, fato não observado para Bac\_0. Essa informação é condizente com a encontrada por Melo (2010) em ensaios de biolixiviação com adições sucessivas de íons cloreto. Nesse trabalho a adição de bactéria no meio com concentração de  $0,06 \text{ mol L}^{-1}$  de cloreto (alcançada por adições sucessivas de  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ ) provocou uma retomada na dissolução da calcopirita. Tal retomada foi mantida até concentrações de cloreto próximas de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Concentrações superiores são inibitórias para a bactéria *A.ferrooxidans*-LR, (MELO, 2010) embora possam auxiliar na lixiviação química da calcopirita.

### **5.3. ESTUDOS DE SUPERFÍCIE COM CALCOPIRITA (MINÉRIO SOSSEGO)**

#### **5.3.1. MEDIDAS DE ÂNGULO DE CONTATO**

As medidas de ângulo de contato permitiram a comparação do comportamento de peças maciças de calcopirita com pastilhas do mesmo material e também com uma peça maciça de outro sulfeto mineral (pirita- $\text{FeS}_2$ ). A idéia de utilizar a pastilha reside na busca de uma superfície mais homogênea e que pudesse representar melhor o comportamento do sulfeto mineral estudado. Os dados destes estudos estão apresentados na Figura 33.

A pastilha de calcopirita, embora seja mais homogênea, apresenta uma interação maior com as soluções lixiviantes se comparada com a peça maciça. Isso pode estar relacionado com a porosidade da pastilha (prensada na presença de oxigênio) e com o pequeno tamanho das partículas que pode provocar efeitos de capilaridade que não necessariamente refletem um caráter hidrofílico do sulfeto mineral (Figura 33). Além do mais, as partículas constituintes da pastilha podem estar em um elevado grau de oxidação. Independentemente da utilização de pastilha ou peça maciça, as melhores interações (menores valores de ângulo de contato) ocorreram com água, água ácida, meio oxidado, meio T&K e na presença de íons cloreto. As interações menos favoráveis foram aquelas com ácido cítrico. A peça maciça de pirita, tão hidrofóbica quanto a peça maciça de calcopirita, apresentou interações muito distintas da pastilha de calcopirita.



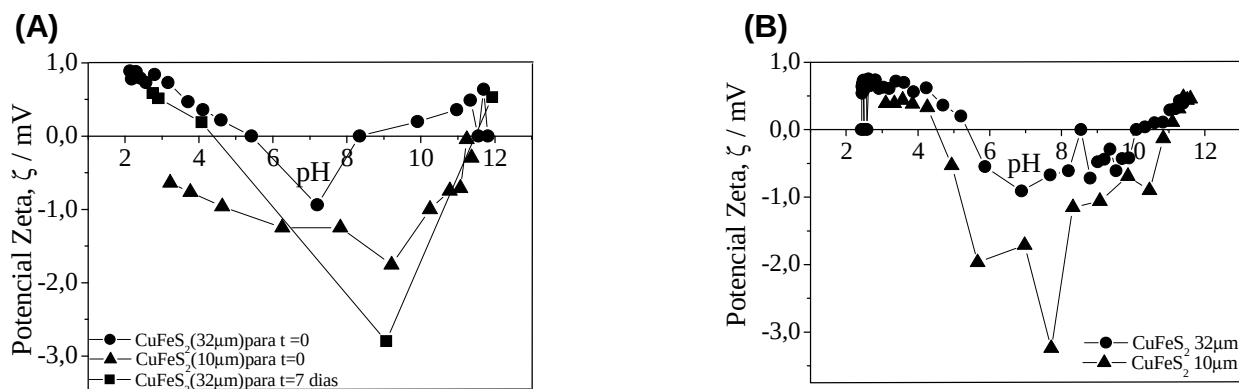
**Figura 33:** Medidas de ângulo de contato realizadas utilizando peça maciça de calcopirita, pastilha de calcopirita, peça maciça de pirita, mica e vidro.

É importante destacar que a escolha dos líquidos utilizados nas medidas de ângulo de contato foi diretamente relacionada com sua aplicação nos ensaios de biolixiviação. A água foi estudada porque a maioria das soluções são preparadas em meio aquoso. Já a água ácida é muito empregada quando se realiza o ensaio na presença de *A. ferrooxidans*, uma vez que 1,8 é o pH ótimo para desenvolvimento da mesma. Conforme já descrito anteriormente, o meio T&K é o meio de cultivo para *A. ferrooxidans*. O meio oxidado é aquele resultante da ação bacteriana.

Procurou-se estudar também a interação da própria bactéria com a superfície dos sulfetos. Os íons cloreto foram estudados devido a sua conhecida ação corrosiva sobre os sulfetos minerais. O ácido cítrico é um ácido orgânico que poderia ser um complexante das jarositas formadas durante a oxidação da calcopirita. A rPCys, mantida em tampão tris, é uma proteína possivelmente relacionada com a tolerância que a bactéria possui em relação ao cobre (NOVO, 1993). A cisteína foi estudada por ser um aminoácido presente na maioria das proteínas com uma característica importante, ou seja, a presença de um agrupamento tiol em sua cadeia lateral que poderia se ligar ao enxofre presente na estrutura da calcopirita (ROJAS-CHAPANA; TRIBUTSCH, 2000).

### **5.3.2. MEDIDAS DE POTENCIAL ZETA**

As medidas de potencial zeta utilizando suspensões de calcopirita numa porcentagem de sólidos de 2,5 mostraram um sistema muito complexo, apresentando várias interações entre cargas, tanto na presença de sulfato quanto na presença de cloreto. A diminuição do tamanho de partículas durante o experimento parece ter favorecido a realização das medidas, porém apesar dos experimentos terem sido realizados em fluxo e sob agitação, ocorreu a formação de aglomerados.



**Figura 34:** Medidas de potencial Zeta em diferentes condições para suspensão contendo íons sulfato (A) e cloreto (B), ambos em concentração da ordem de  $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ .

Os valores de potencial zeta para a suspensão com sulfato (Figura 34A) parecem não ter sofrido alterações pelo tempo de contato (0 ou 7 dias) anterior as medidas. As suspensões com cloreto (Figura 34B) apresentaram valores maiores de potencial zeta, principalmente no caso das partículas de  $10 \mu\text{m}$ . A inversão de cargas parece ocorrer em valores de pH próximos de 5 para os dois meios estudados, no entanto tal inversão não se mantém e o potencial torna-se positivo novamente em pH 10.

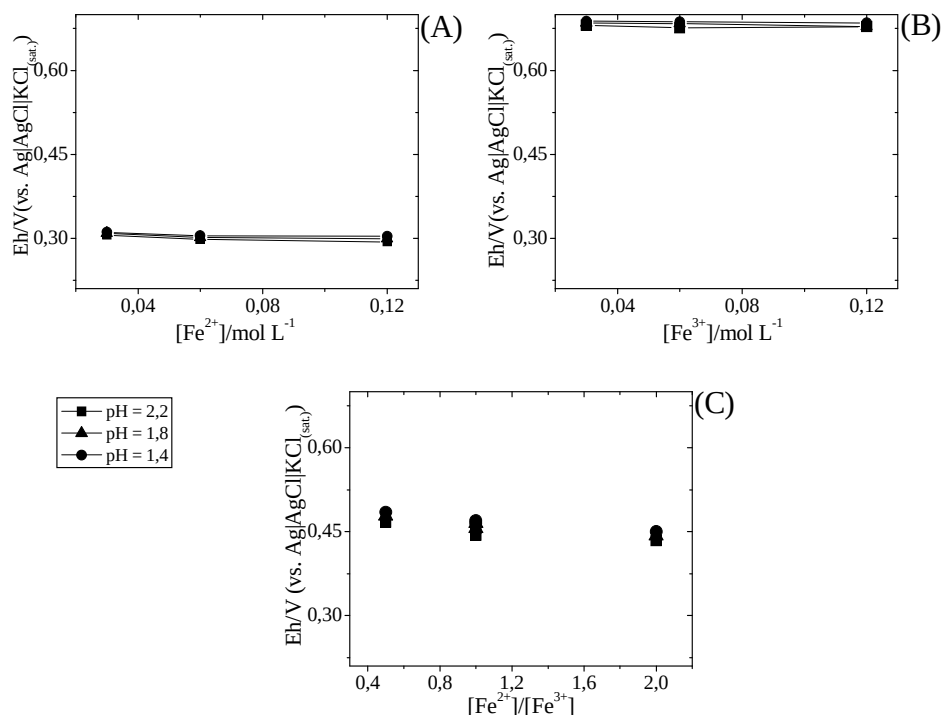
O experimento correspondente à Figura 34 teve caráter exploratório no que se refere ao tamanho de partículas e meio iônico, mas permitiu verificar que as principais mudanças na superfície das partículas de calcopirita ocorrem em pH 5 e 10, valores muito distantes dos empregados nos ensaios de biolixiviação (pH=1,8).

#### 5.4. ESTUDOS DO POTENCIAL REDOX DO PAR $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ APLICADOS A LIXIVIAÇÃO DE CALCOPIRITA

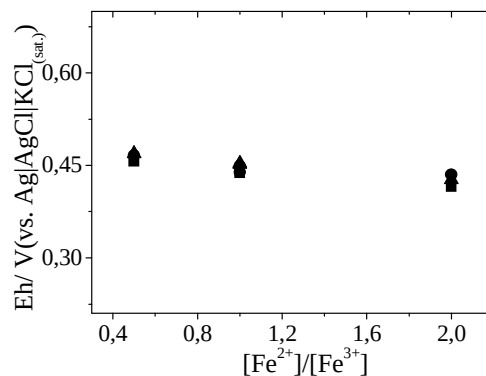
Na Figura 35 estão apresentados os dados de potencial de oxirredução de soluções de íons ferrosos (A), férricos (B) e misturas de ambos (C) nas proporções apresentadas pela Tabela 4.

A Figura 35 mostra que o potencial de oxirredução se mantém constante para as soluções preparadas separadamente no intervalo de concentrações de  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  comumente encontrado nos ensaios de biolixiviação, ou seja, entre 0,03 e 0,120 mol L<sup>-1</sup>. Quando os dois íons estão presentes em diferentes proporções, o potencial de oxirredução é de aproximadamente 0,45 V (vs. Ag/AgCl/KCl<sub>(sat)</sub>), valor intermediário entre aqueles encontrados para as soluções de íons ferrosos (0,30 V vs. Ag/AgCl/KCl<sub>(sat)</sub>) e férricos (0,68 V vs. Ag/AgCl/KCl<sub>(sat)</sub>). A variação do potencial em relação aos diferentes valores de pH é praticamente desprezível. Para todas as proporções e valores de pH observou-se uma pequena diminuição do potencial à medida que foi aumentada a concentração de  $\text{Fe}^{2+}$ , o que é previsto pela equação de Nernst.

Dentro deste mesmo estudo procurou-se avaliar a influência da presença de calcopirita no comportamento do potencial de oxirredução das misturas com íons ferrosos e férricos (Figura 36). A porcentagem de sólidos foi de 2,5 (mais utilizada nos ensaios de biolixiviação) uma vez que minimiza a maioria dos efeitos de rompimento de parede celular por tensão de cisalhamento.



**Figura 35:** Variação do potencial de oxirredução em função da concentração de  $\text{Fe}^{2+}$  (A),  $\text{Fe}^{3+}$  (B) e de diferentes proporções de  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  (C).



**Figura 36:** Variação do potencial de oxirredução em função de diferentes proporções de  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  em presença de calcopirita, porcentagem de sólidos 2,5, após 1 hora de agitação a 150 rpm e 30°C.

O comportamento do potencial de oxirredução (Figura 36) parece não se alterar significativamente pela presença de calcopirita utilizando-se 1h de contato. No entanto, deve-se considerar que para tempo maior de ensaio os resultados podem ser diferentes.

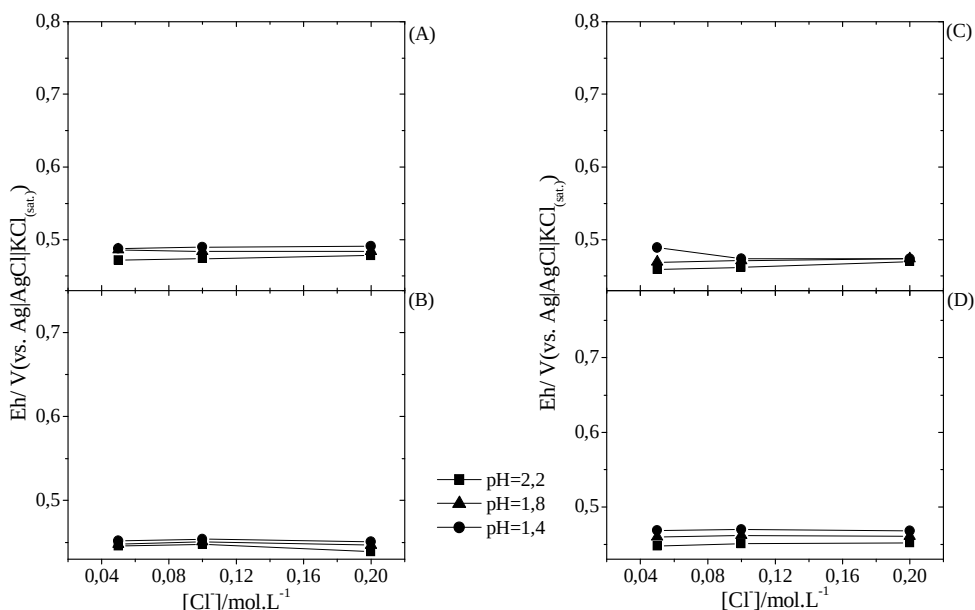
Em seguida, iniciou-se o estudo dessas soluções utilizando agentes lixiviantes comumente empregados com o objetivo de aumentar a porcentagem de extração de cobre presente na calcopirita.

#### 5.4.1. ESTUDOS DO POTENCIAL DE OXIRREDUÇÃO EM PRESENÇA DE ÍONS CLORETO

A importância de se conhecer os potenciais de oxirredução em presença de íons cloreto está relacionada à utilização desse íon como um agente para o aumento da lixiviação de calcopirita (Arena, 2007; Horta, 2008, Senanayake, 2009). O mecanismo de atuação desse íon não está completamente elucidado, mas acredita-se que seu papel principal é de aumentar a porosidade da camada de enxofre ou dificultar sua formação durante o processo de oxidação da calcopirita (Senanayake, 2009).

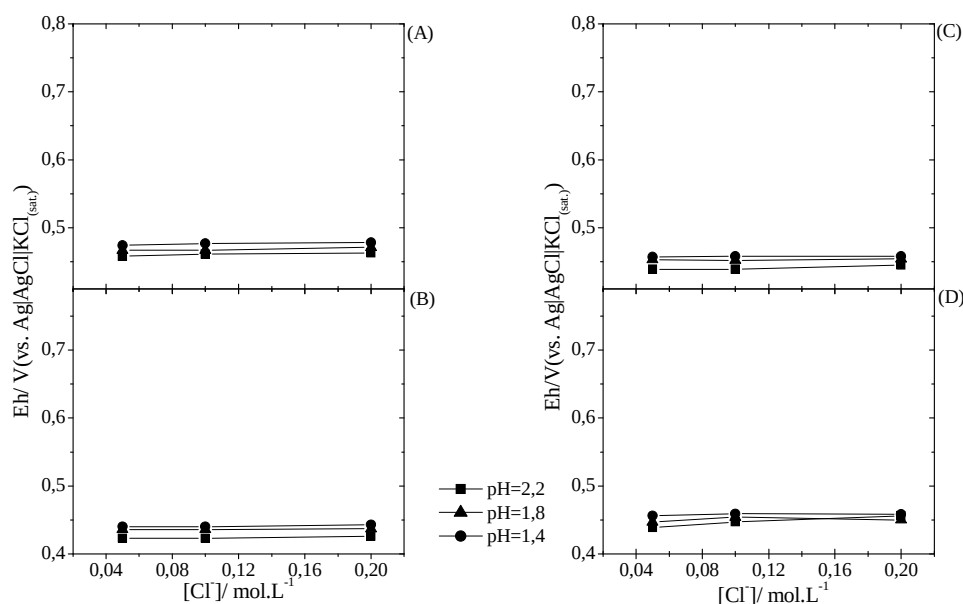


A Figura 37 mostra que para todas as proporções  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  utilizadas os valores de potenciais de oxirredução estão no mesmo intervalo encontrado para os ensaios realizados na ausência de íons cloreto, indicando a pouca influência desses íons no potencial de oxirredução das misturas contendo ferro. Essa influência praticamente desprezível do cloreto no valor do potencial está de acordo com o diagrama potencial  $-\log [\text{Cl}^-]$  para o intervalo de concentrações de 0,04 a 0,1  $\text{mol L}^{-1}$ .



**Figura 37:** Potencial de oxirredução em função da concentração de íons cloreto para misturas contendo as seguintes relações  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  em  $\text{mol L}^{-1}$ : **A-** 0,03/0,06; **B-** 0,06/0,03; **C-** 0,03/0,03 e **D-** 0,06/0,06. As medidas foram realizadas após 1 hora de agitação a 150 rpm e 30°C .

Dando continuidade aos estudos com íons cloreto foi realizado um ensaio com calcopirita (porcentagem de sólidos de 2,5) e as misturas de íons ferrosos e férricos (nas proporções apresentadas pela Tabela 4). Pode-se observar, através da Figura 38, que o intervalo de valores de potencial de oxirredução das soluções contendo ferro em presença de diferentes concentrações de cloreto manteve-se praticamente inalterado mesmo após adição da calcopirita.



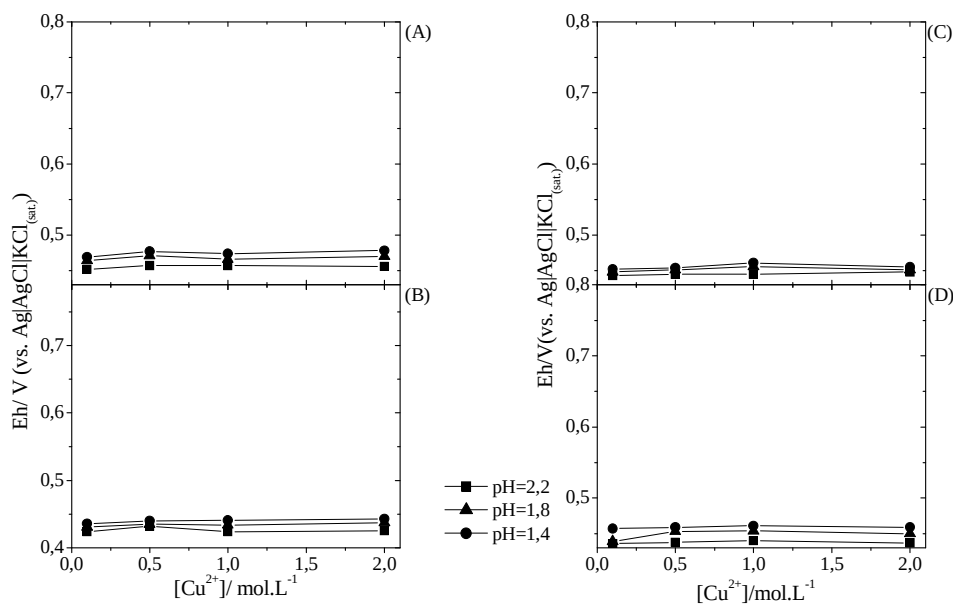
**Figura 38:** Potencial de oxirredução em função da concentração de cloreto em presença de calcopirita (2,5% m/v) para misturas contendo as seguintes concentrações  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  em  $\text{mol L}^{-1}$ : **A-** 0,03/0,06; **B-** 0,06/0,03; **C-** 0,03/0,03 e **D-** 0,06/0,06. As medidas de potencial de oxirredução foram realizadas após 1 hora de agitação a 150 rpm e 30 °C.

#### 5.4.2. ESTUDOS DO POTENCIAL DE OXIRREDUÇÃO EM PRESENÇA DE ÍONS CÚPRICOS

A concentração de íons cúpricos em solução durante os ensaios de biolixiviação com calcopirita é baixa devido à grande refratariedade deste sulfeto mineral, mas isso não torna menos importante o estudo da influência desses íons no potencial de oxirredução de soluções lixiviantes.

Pode-se verificar (Figura 39) que a presença de íons cúpricos, no intervalo de concentrações estudado praticamente não exerce influência no intervalo de valores de potencial de oxirredução das soluções contendo ferro.

O comportamento do potencial de oxirredução de soluções contendo íons  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ , nas proporções mais comumente encontradas nos ensaios de biolixiviação, é bastante estável. Desta forma, o intervalo de valores de potencial sofreu pequenas variações em presença de calcopirita, íons cloreto ou íons cúpricos.



**Figura 39:** Potencial de oxirredução em função da concentração de íons cúpricos em presença de calcopirita (porcentagem de sólidos de 2,5) para misturas contendo as seguintes concentrações  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  em mol L<sup>-1</sup>: **A-** 0,03/0,06; **B-** 0,06/0,03; **C-** 0,03/0,03 **D-** 0,06/0,06. As medidas de potencial de oxirredução foram realizadas após 1 hora de agitação a 150 rpm e 30°C.

É notável em todos os experimentos que o potencial de oxirredução aumenta ligeiramente com a diminuição do pH, embora aparentemente não haja reações nesse sistema que envolvam o íon  $H^+$ . No entanto, pode haver influência de oxigênio e pequena hidrólise de íons  $Fe^{3+}$ . Além do mais, para todas as condições estudadas, o potencial de oxirredução apresentou uma tendência a diminuir com o aumento da concentração de íons ferrosos, comportamento previsto pela equação de Nernst.

## 6. CONCLUSÕES

Os ensaios de biolixiviação com a calcopirita proveniente de Ventana apresentaram baixas porcentagens de recuperação de cobre, possivelmente devido à elevada refratariedade desse concentrado de calcopirita que foi a única fonte energética oferecida para as bactérias. No caso do ensaio com biorreatores, a dificuldade de oxidar a calcopirita foi ainda maior provavelmente devido à tensão de cisalhamento sofrida pelas células bacterianas com a agitação. Ainda nesse ensaio, a bactéria *A. thiooxidans* foi impossibilitada de cumprir satisfatoriamente a função de consumir a camada de enxofre elementar formada durante a oxidação da calcopirita uma vez que o sulfeto mineral não alcançou um estado de oxidação elevado nas condições empregadas no ensaio. No entanto, é importante destacar que o estudo com biorreatores permitiu conhecer os principais parâmetros experimentais assim como a metodologia envolvida nesse tipo de ensaio.

Em relação ao ensaio em frascos agitados pode-se dizer que embora as porcentagens de recuperação de cobre tenham sido baixas, os ensaios eletroquímicos e de microscopia mostraram que a adição de incrementos de  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  de íons cloreto em meio com mistura de culturas bacterianas favoreceram o aumento da porosidade da camada de enxofre formada durante a oxidação da calcopirita.

A análise de ruído eletroquímico de sistemas que sofreram adição de pequenos incrementos de íons cloreto ( $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ ) mostrou que tais íons são capazes de causar perturbações consideráveis na superfície do eletrodo de calcopirita. Tais perturbações foram mantidas quando a bactéria *A. ferrooxidans* foi adicionada ao sistema após 90h de ensaio, quando a concentração de íons cloreto já era de  $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ . Essa manutenção não foi observada no ensaio em que a bactéria foi adicionada desde o início. Portanto, a vantagem de se adicionar a bactéria após 90h de ensaio deve estar relacionada a uma corrosão inicial do eletrodo pela presença de íons cloreto que pode facilitar a ação bacteriana subsequente. No entanto, isso é válido para concentrações de cloreto não inibitórias.

As medidas de ângulo de contato permitiram verificar diferenças marcantes entre as peças maciças e pastilhas. As peças maciças apresentam maior heterogeneidade porém seu caráter hidrofóbico aproxima-se mais do comportamento esperado para os sulfetos minerais.

As pastilhas são mais homogêneas porém seu processo de empacotamento (em presença de oxigênio) e sua elevada área superficial proporcionam efeitos de capilaridade que podem ser confundidos com um possível caráter hidrofílico do sulfeto mineral. Tal comportamento também pode estar relacionado com a oxidação desta superfície já que as partículas conferem uma área de contato maior e mais susceptível aos processos oxidativos.

Tanto as pastilhas como a peça maciça de calcopirita apresentaram interações mais intensas com o meio oxidado, água ácida, meio T&K e cloreto. As interações menos favoráveis foram aquelas com ácido cítrico.

As medidas de potencial zeta utilizando suspensões de calcopirita semelhantes aquelas utilizadas durante os ensaios de lixiviação em frascos pareceu ser inviável uma vez que as alterações de carga para tal sistema ocorreram em valores de pH muito distintos daquele utilizado nos ensaios de biolixiviação.

O comportamento do potencial de oxirredução de soluções contendo íons  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ , nas proporções mais comumente encontradas nos ensaios de biolixiviação, é bastante estável. Desta forma, o intervalo de valores de potencial apresentou pequenas variações em presença de calcopirita, íons cloreto ou íons cúpricos

## REFERÊNCIAS

- AL-HARAHSEH, M.; KINGMAN, S.; AL-HARAHSEH, A. Ferric chloride leaching of chalcopyrite: synergetic effect of  $\text{CuCl}_2$ . **Hydrometallurgy**, v. 91, p. 89-97, 2008.
- ARENA, F. A. **Estudo do comportamento químico e eletroquímico da calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) na presença de *Acidithiobacillus ferrooxidans***. 2007. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) –Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.
- BEVILAQUA, D.; ACCIARI, H. A.; BENEDETTI, A. V.; FUGIVARA, C. S.; TREMILIOSI FILHO, G.; GARCIA JÚNIOR, O. Electrochemical noyse analysis of bioleaching of bornite ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 83, p. 50-54, 2006.
- BEVILAQUA, D.; DIÉZ-PEREZ, I.; FUGIVARA, C. S.; SANZ, F.; BENEDETTI, A.V.; GARCIA JÚNIOR, O. Oxidative dissolution of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* analysed by electrochemical impedance spectroscopy and atomic force microscopy. **Bioelectrochemistry**, v. 64, p. 79-84, 2004.
- BEVILAQUA, D.; ACCIARI, H. A.; ARENA, F. A.; BENEDETTI, A. V.; FUGIVARA, C. S.; TREMILIOSI FILHO, G.; GARCIA JÚNIOR, O. Utilization of electrochemical impedance spectroscopy for monitoring bornite oxidation ( $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ) by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Minerals Engineering**, v. 22, p. 254-262, 2009.
- BONORA, P. L.; DEFLORIAN, F.; FEDRIZZI, I. Electrochemical impedance spectroscopy as a tool for investigating underpaint corrosion. **Electrochimica Acta**, v. 41, p. 1073-1082, 1995.
- BOUKAMP, B. A. A nonlinear least square fit procedure for analysis of immittance data of electrochemical systems. **Solid State Ionics**, v. 20, p. 31-44, 1985.
- CARNEIRO, M. F. C.; LEÃO, V. A. The role of sodium chloride on surface properties of chalcopyrite leached with ferric sulphate. **Hydrometallurgy**, v. 87, p. 73-82, 2007.
- CHANDRAPRABHA, M. N.; NATARAJAN, K. A. Surface chemical and flotation behavior of chalcopyrite and pyrite in the presence of *Acidithiobacillus thiooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 83, p. 146-152, 2006.
- 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 Engeneering**, v. 22, p. 229-235, 2008a.

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

DONATI, E. R.; SAND, W. **Microbial processing of metal sulfides**. Dordrecht: Springer, 2006. p. 18.

EG&G PRINCEPTON APPLIED RESEARCH. **AC-1**: basis of AC impedance measurements. Manhattan, 1985. 92 p.

EVANS, S. H.; O'CONNELL, K. M.; PETERSEN, R. A.; KELLY, M. J. Cyclic voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 60, p. 290-292, 1983.

FELÍCIO, A. P.; GARCIA JÚNIOR, O.; BERTOLINI, M. C.; OTTOBONI, L. M. M.; NOVO, M. T. M. The effects of copper ions on the synthesis of periplasmic and membrane proteins in *Acidithiobacillus ferrooxidans* as analysed by SDS-PAGE and 2D-PAGE. **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 165-171, 2003.

FISHER, W. W.; FLORES, F. A.; HENDERSON, J. A. Comparison of chalcocite dissolution in the oxygenated aqueous, sulfate and chloride systems. **Minerals Engeneering**, v. 5, p. 817-834, 1992.

FLASHKA, H. A.; BARNAD, A. J.; STURROCK, P. E. Iodine methods in titrimetry. In: \_\_\_\_\_. **Quantitative analytical chemistry**. New York: Barnes and Noble, 1969. v. 1, p.195-197.

FU, B.; ZHOU, H.; ZHANG, R.; QIU, G. Bioleaching of chalcopirite by pure and mixed cultures of *Acidithiobacillus* ssp and *Leptospirillum ferriphilum*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 62, p. 109-115, 2008.

GARCIA JÚNIOR, O. Isolation and purification of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans* from some coal and uranium mines of Brazil. **Revista de Microbiologia**, v. 20, p. 1-6, 1991.

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

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

HIROYOSHI, N.; TSUNEKAWA, M.; OKAMOTO, H.; NAKAYAMA, R.; KUROIWA, S. Improved chalcopirite leaching through optimization of redox potential. **Canadian Metallurgical Quarterly**, v. 47, p. 253-258, 2008.

HORTA, D. **Influência da adição da espécie *Acidithiobacillus* e de íons  $\text{Cl}^-$  na dissolução da calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ )**. 2008. 100 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

HORTA, D. G.; BEVILAQUA, D.; CAPELA, M. V.; ACCIARI, H. A.; FUGIVARA, C. S.; BENEDETTI, A. V.; GARCIA JÚNIOR, O. Cyclic voltammetry of carbon paste electrodes (CPE-chalcopirite): evaluation of repetitiveness. In: HYDROCOPPER, 3 th, 2005, Santiago. **Proceedings...**Santiago: Universidad de Chile, 2005, p. 373-380.

INFOMINE. **Valor do cobre em dólares de julho de 2009 a abril de 2010.** Disponível em: < <http://www.infomine.com/commodities/>> Acesso em: 27 abr. 2010.

JOHNSON, D. B. Biodiversity and interactions of acidophiles: key to understanding and optimizing microbial processing of ores and concentrates. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, v. 18, p. 1367-1373, 2008.

KARAMANEV, D. G.; NIKOLOV, L. N.; MAMATARKOVA, V. Rapid simultaneous quantitative determination of ferric and ferrous ions in drainage waters and similar solutions. **Minerals Engineering**, v. 15, p. 341-346, 2002.

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

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

LAHTI, H. **Chalcopirite bioleaching using mesophiles with emphasis on surface passivation.** 2009. 75 f. (Master of Science).- Tampere University of Technology, Tampere, 2009.

LEE, C. C.; MANSFELD, F. Analysis of electrochemical noise data for a passive system in the frequency domain. **Corrosion Science**, v. 40, p. 959-962, 1998.

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

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

MANSFELD, F.; HAN, L. T.; LEE, C. C.; CHEN, C.; ZHANG, G.; XIAO, H. Analysis of electrochemical impedance and noise data for polymer coated metals. **Corrosion Science**, v. 39, p. 255-279, 1997.



- MELO, W. C. M. A. **Biossolubilização da calcopirita na presença dos íons cloreto e ácidos orgânicos**. 2010. 121 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.
- NIKOL, M.; MIKE, H.; YÉVENES, L. V. The dissolution of chalcopirite in chloride solutions. Part 3: mechanisms. **Hydrometallurgy**, 2010. In press. doi: 10.1016/j.hydromet.2010.03.003.
- NOEL, M.; VASU, K. I. Cyclic voltammetry and the frontiers of electrochemistry. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 305, p. 164-166, 1991.
- NOVO, M. T. M. **Clonagem molecular do determinante genético de resistência ao manganês do *Thiobacillus ferrooxidans* em *Escherichia coli***. 1993. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1993.
- OLIVER, D. J.; DE, G. C.; PESIC, B. M. Effect of heavy metals in the ferrous iron oxidizing ability of *Thiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 44, p. 53-63, 1997.
- PARK, C.; KWON, H. Electrochemical noise analysis of localized corrosion of duplex stainless steel aged at 475°C. **Materials Chemistry and Physics**, v. 91, p. 355-360, 2005.
- PLUMB, J. J.; MCSWEENEY, N. J.; FRANZMANN, P. D. Growth and activity of pure and mixed bioleaching strains on low grade chalcopirite ore. **Minerals Engineering**, v. 21, p. 93-99, 2008.
- PRESTIDGE, C. A.; ROWLANDS, W. N. Electroacoustic measurements of sulfide mineral particles. **Minerals Engineering**, v. 10, p. 1107-1118, 1997.
- 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.
- ROJAS-CHAPANA, J. A.; TRIBUTSCH, H. Bio-leaching of pyrite accelerated by cysteine. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 815-824, 2000.
- SAND, W.; GERKE, T.; JOZCA, P. G.; SCHIPPERS, A. (Bio)chemistry of bacterial leaching-direct vs. indirect bioleaching. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 159-175, 2001.
- SASAKI, K.; NAKAMUTA, Y.; HIRAJIMA, T.; TUOVINEN, O. H. Raman characterization of secondary minerals formed during chalcopirite leaching with *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 95, p. 153-158, 2009.
- SENANAYAKE, G. A review of chloride assisted copper sulfide leaching by oxygenated sulfuric acid and mechanistic considerations. **Hydrometallurgy**, v. 98, p. 21-32, 2009.

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

TUOVINEN, O. H.; KELLY, D. P. Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. Use of membrane filters and ferrous iron agar to determine viable number and comparison CO<sub>2</sub>-fixation and iron oxidation as measures of growth. **Archives of Microbiology**, v. 88, p. 285-298, 1973.

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

YÉVENES, L. V.; MIKE, H.; NIKOL, M. The dissolution of chalcopryrite in chloride solutions. Part 2: effect of various parameters on the rate. **Hydrometallurgy**, 2010. In press. doi: 10.1016/j.hydromet.2010.03.004.

YÉVENES, L. V.; NIKOL, M.; MIKE, H. The dissolution of chalcopryrite in chloride solutions. Part 1: the effect of solution potential. **Hydrometallurgy**, 2010. In press. doi: 10.1016/j.hydromet.2010.03.001.

XIA, L.; LIU, X.; ZENG, J.; YIN, C.; GAO, J.; LIU, J.; QIU, G. Mechanism of enhanced bioleaching efficiency of *Acidithiobacillus ferrooxidans* after adaptation with chalcopryrite. **Hydrometallurgy**, v. 92, p. 95-101, 2008.