

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
UNESP

INSTITUTO DE QUÍMICA – CAMPUS DE ARARAQUARA/SP

BEATRIZ MARIA SAMPAIO BOCCHINI

BIOLIXIVIAÇÃO DE CONCENTRADO CALCOPIRÍTICO UTILIZANDO
Sulfolobus acidocaldarius

Araraquara

2019

BEATRIZ MARIA SAMPAIO BOCCHINI

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E TECNOLOGIA QUÍMICA

BIOLIXIVIAÇÃO DE CONCENTRADO CALCOPIRÍTICO UTILIZANDO
Sulfolobus acidocaldarius

Monografia apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Química.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Denise Bevilaqua

Co-orientadora: Dr.^a Fabiana Antônia Arena Delfino

Araraquara

2019

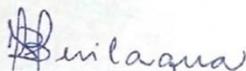
BEATRIZ MARIA SAMPAIO BOCCHINI

**BIOLIXIVIAÇÃO DE CONCENTRADO CALCOPIRÍTICO UTILIZANDO
*Sulfolobus acidocaldarius***

Monografia apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Química.

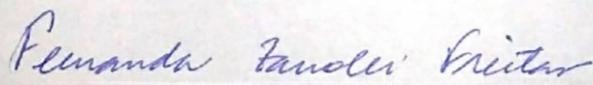
Araraquara, 12 de Dezembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Denise Bevilaqua

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"



Prof.^a Dr.^a Fernanda Zanolli Freitas

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"



Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

Dedico este trabalho à minha mãe. Sem o seu empenho, dedicação e amor nada disso seria possível.

Muito obrigada por ser quem você é. É uma honra ser sua filha.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus por mais este abençoado presente e por ser tão maravilhoso em minha vida, sempre ao meu lado, sempre fiel.

A minha mãe, Ivani, por todo amor, carinho e tanto mais que palavras não são suficientes para traduzir o que vai no meu coração. Muito, muito obrigada, mãe, por sempre ter estado ao meu lado. Te amo.

A minha orientadora, prof.^a Dr.^a Denise Bevilaqua, por ter me dado a oportunidade de integrar seu grupo de pesquisa e de desenvolver este trabalho, por todo seu apoio, paciência e ensinamentos, tanto ao ministrar as disciplinas de Bioquímica I e II quanto ao desempenhar o papel de orientadora. Muito obrigada, profa., de coração, por tudo o que a senhora fez.

A minha co-orientadora, Dra. Fabiana Antônia Arena Delfino, por todo apoio, colaboração e ensinamentos práticos e teóricos e por sua participação na escrita deste trabalho. Muito obrigada, Fabi!

Aos demais membros do grupo de pesquisa do laboratório de Biohidrometalurgia: Prof. Dr. Assis, Maurício, Rachel, Fabiana, Milena, Riberto, Samir, Ailton, Maybi, Diana, Raul, Waldenir, Amanda, Rebecca, Ysabella – agradeço a todos pelas contribuições e pela parceria profissional. Foi gratificante dividir minha rotina com todos vocês e poder aprender com cada um. Obrigada.

A prof.^a Dr.^a Denise e a Dr.^a Fabiana por toda ajuda e especialmente correção e revisão do conteúdo escrito e falado deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Versiane Albis Leão por ter cedido a cepa de *Sulfolobus acidocaldarius*, sem a qual este estudo não teria sido possível. Obrigada.

Ao Laboratório de Caracterização Mineralógica da Escola Politécnica da USP pela análise para determinação da porcentagem em massa de metais presentes na amostra de concentrado de flotação calcopirítico.

Aos professores Dra. Fernanda Zanolli Freitas e Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques pela colaboração na banca como avaliadores deste trabalho.

A todos os professores do IQ por sua dedicação em nos ensinar e por toda a contribuição com nosso crescimento profissional e pessoal. Esta profissão é maravilhosa e todos a exerceram com maestria. Obrigada.

Ao GFQM-IQ pela realização das medidas de Difração de Raios X.

Ao Instituto Tecnológico Vale ITV por fornecer amostra mineral de calcopirita e apoio financeiro sem os quais não seria possível a realização deste trabalho.

Os meus agradecimentos ao Reitor Sandro Roberto Valentini e ao Diretor prof. Dr. Eduardo Maffud Cilli.

A todos os funcionários do IQ – portaria, biblioteca, cantina, limpeza, secretarias, seções técnicas – a todos os servidores, muito obrigada por exercerem seus papéis com tanta dedicação, sempre eficientes e respeitosos.

Finalmente, meus profundos agradecimentos ao Instituto de Química, minha segunda casa, onde aprendi mais do que é possível dizer e/ou mensurar, onde amadureci meu espírito e minhas ideias, onde alicersei meus conhecimentos. Levarei comigo para sempre tudo que o IQ tão generosamente me ofereceu. Obrigada por tudo.

“Nós não precisamos de magia para mudar o mundo, nós carregamos todo o poder que precisamos já dentro de nós: o poder de imaginar o melhor.”

– J. K. Rowling

RESUMO

O aumento da utilização de cobre com o desenvolvimento tecnológico tem impulsionado a busca por métodos alternativos de recuperação. A maior fonte natural desse metal é a calcopirita. Entretanto, devido à sua elevada refratariedade, apresenta aplicabilidade econômica apenas mediante extração por processos agressivos ambientalmente e com elevado aporte financeiro. Nesse contexto, buscam-se processos mais amenos e baratos para a recuperação desse metal utilizando calcopirita a fim de aumentar os lucros e minimizar o problema ambiental. Dentre esses processos, destaca-se a biolixiviação, técnica que usa microrganismos capazes de obter energia a partir de sulfetos metálicos. No caso específico da calcopirita, tem se mostrado muito promissora a utilização de arqueias em meios com baixo potencial para recuperação de cobre. Isso porque esses potenciais são capazes de fragilizar a calcopirita e aumentar sua solubilização. Sendo assim, esse trabalho mostra a utilização da arqueia *Sulfolobus acidocaldarius* na biolixiviação de concentrado calcopirítico em meios contendo íons ferrosos ($0,200 \text{ mol L}^{-1}$). Os resultados foram satisfatórios, ao redor de 86,6% de extração de cobre após 110 dias, demonstrando a potencialidade desse microrganismo em manter baixos valores de potencial e proporcionar uma recuperação de cobre eficiente mesmo após grande intervalo de tempo. Outra vantagem adicional foram as elevadas temperaturas que favoreceram ainda mais o processo.

Palavras-chave: Calcopirita. Potencial redox. *Sulfolobus acidocaldarius*. Recuperação de cobre.

ABSTRACT

The increased use of copper with technological development has driven the search for alternative recovery methods. The largest natural source of this metal is chalcopyrite. However, due to its high refractoriness, it has economic applicability only through extraction by environmentally aggressive processes and with high financial contribution. In this context, we seek milder and cheaper processes for the recovery of this metal using chalcopyrite in order to increase profits and minimize the environmental problem. Among these processes, bioleaching is a technique that uses microorganisms capable of obtaining energy from metal sulfides. In the specific case of chalcopyrite, the use of archaeas in low potential mediums for copper recovery has been very promising. This is because these potentials are capable of weakening chalcopyrite structure and increasing its solubilization. Thus, this work shows the use of *Sulfolobus acidocaldarius* archaea in the bioleaching of chalcopyritic concentrate in medium containing ferrous ions (0.200 mol L⁻¹). The results were satisfactory around 86,6% of copper extraction after 110 days, demonstrating the potential of this microorganism to maintain low potential values and provide an efficient copper recovery even after a long time. Another added advantage was the high temperatures which further favored the process.

Keywords: Chalcopyrite. Redox potential. *Sulfolobus acidocaldarius*. Copper recovery.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Micrografia eletrônica de uma secção fina de célula de <i>S. acidocaldarius</i>	16
Figura 2 - Esquema de uma pilha de biolixiviação de minério de cobre de baixo teor.....	18
Figura 3 - Esquema da cela unitária da calcopirita com os respectivos ângulos dos tetraedros. Os átomos de S estão representados pelas esferas claras, grandes; de Cu, pelas escuras, pequenas; de Fe, pelas pequenas.....	19
Figura 4 - Variação do pH para os frascos referentes ao primeiro ensaio.....	29
Figura 5 - Variação do Eh para os frascos referentes ao primeiro ensaio.....	29
Figura 6 - Frascos 1 a 3 apresentaram mudança notável de coloração devido à precipitação de jarositas.....	30
Figura 7 - Mudança de coloração dos frascos 1 a 3 comparados aos demais frascos.....	30
Figura 8 - Variação da concentração de Fe^{2+} para os frascos referentes ao primeiro ensaio.....	31
Figura 9 - Variação da concentração de ferro total para os frascos referentes ao primeiro ensaio.....	31
Figura 10 - Variação da extração de cobre (em porcentagem) para os frascos referentes ao primeiro ensaio.....	32
Figura 11 - Variação da extração de cobre (em porcentagem) para os frascos referentes ao segundo ensaio.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do meio 88.....	26
---------------------------------------	----

Sumário

1. Introdução.....	12
1.1. Biolixiviação como solução para extração de cobre.....	13
1.2. Mecanismos de ataque e dissolução dos sulfetos minerais.....	16
1.3. Modalidades Operacionais de Lixiviação Biológica.....	17
1.1.1. Refratariedade da calcopirita.....	19
1.1.1.1. Temperatura.....	22
1.1.1.2. Potencial de óxido-redução (Eh).....	22
1.1.1.3. pH.....	24
2. Objetivo.....	25
3. Materiais e Métodos.....	25
3.1. Amostra mineral.....	25
3.2. Material biológico.....	25
3.3. Ensaio de lixiviação.....	25
3.4. Metodologia Analítica.....	27
3.4.1. Íons ferrosos.....	27
3.4.2. Ferro total e cobre total.....	28
3.4.3. pH e Eh.....	28
4. Resultados e Discussão.....	28
5. Conclusões.....	34
6. Referências.....	34

1. Introdução

Minerais são compostos químicos cristalinos e, em sua maioria, sólidos, formados a partir de processos físico-químicos ocorridos na crosta-terrestre. Quando um agregado de minerais possui quantidade elevada de determinado mineral (metálicos, como ouro, cobre, etc, e não-metálicos, como argilas, sais de potássio, etc) possibilitando exploração econômica, é chamado minério e a respectiva extração, mineração [1, 2].

A obtenção de minerais (metálicos e não-metálicos) recebe destaque na história da humanidade, visto que possibilitam desde a fabricação de utensílios, armas, equipamentos de pequeno porte até obras arquitetônicas e grandes edificações [3].

O conhecimento e o domínio demonstrados sobre o uso de metais foram utilizados para classificar o grau de desenvolvimento de civilizações antepassadas e para definir o poderio industrial, econômico, militar e político das contemporâneas (a partir da Primeira Revolução Industrial).

Entretanto, a atividade de mineração é um processo complexo e caro que se inicia com a descoberta das jazidas minerais nas quais é feita a prospecção e, só então, segue-se para os processos de beneficiamento do minério com o objetivo de obter o metal de interesse [3]. A etapa de beneficiamento consiste em separar da ganga (rejeito do minério sem interesse econômico) os minerais desejados e concentrá-los para posterior extração do metal de interesse [4].

Neste estudo, o enfoque é o cobre, terceiro metal mais utilizado no mundo depois do ferro e do alumínio [5]. Na maior parte, é destinado a fiações e motores devido à excelente capacidade de condução de calor e eletricidade, além de sua maleabilidade e ductibilidade. Também possui aplicações no ramo da construção (coberturas e encanamentos), maquinário industrial (trocadores de calor), transporte (indústrias naval, aeronáutica, automobilística e ferroviária) e indústrias elétrica e eletrônica (fabricação de equipamentos elétricos, eletrônicos, eletrodomésticos e transmissão de energia) [6, 7]. O cobre é explorado por grandes multinacionais, como por exemplo, a companhia Vale em diversas partes do globo, como por exemplo no Canadá e no Brasil, neste último na região de Carajás, utilizando-se a logística já implementada para escoamento do minério de ferro [5]. É comumente encontrado em associação a outros elementos químicos, variando-se estruturas e estequiometrias, e aproximadamente 70% de sua totalidade está sob a forma de calcopirita (CuFeS_2), a

mais abundante e bem distribuída no globo. É classificada como sulfeto primário de cobre, ou seja, é originária de zonas mais profundas da crosta terrestre, cujo teor em cobre normalmente é mais alto. Os minérios de baixo teor normalmente possuem 0,5% de Cu ou menos, enquanto os de alto teor a partir de 1% [7]. Possui fórmula CuFeS_2 , com 34,5% de Cu, 30,5% de Fe e 35% de S [7, 8].

Cerca de 80 a 90% do cobre é extraído pelo processo pirometalúrgico, por possibilitar elevado rendimento [9, 10]. Entretanto, por extrair metais utilizando fornos apropriados em altas temperaturas, consome elevada quantidade de energia, tornando a aplicação economicamente viável apenas para minérios de alto teor [11]. Além disso, os processos pirometalúrgicos geram contaminantes gasosos e material particulado [7, 12].

Com o progresso tecnológico e a consequente amplificação das aplicações dos diversos metais, principalmente no caso do cobre, a demanda alcançou escalas não suportadas pela natureza, visto que se trata de um bem não renovável. Como resultado, tornou-se imperativo o desenvolvimento de métodos alternativos aos pirometalúrgicos que permitam a exploração de minérios de baixo teor e/ou polimetálicos e de localização adversa utilizando-se métodos ambientalmente mais amigáveis e economicamente viáveis.

1.1. Biolixiviação como solução para extração de cobre

Considerando os métodos alternativos de extração de cobre, merece destaque a hidrometalurgia que utiliza soluções ácidas ou básicas para dissolução do metal a partir do minério, posteriormente recuperando-o dessa solução [11]. Dentre as vertentes desse método está a biohidrometalurgia, na qual microrganismos específicos contribuem para a lixiviação do metal por utilizarem sulfetos minerais como fonte de energia. Os processos biohidrometalúrgicos podem ser divididos em bio-oxidação, aplicada a metais preciosos, e biolixiviação, utilizada para metais de elevado valor econômico, como o cobre.

Os microrganismos envolvidos nos processos de biolixiviação são classificados de acordo com a temperatura ótima de crescimento em: mesofílicos (abaixo de 40 °C), termofílicos moderados (40 a 55 °C) e termofílicos extremos (55 a 88 °C) [12, 13]. Como exemplo dos microrganismos que podem ser utilizados temos: *Acidithiobacillus*

ferrooxidans, *Acidithiobacillus thiooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans*, bactérias mesofílicas; *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, bactéria termofílica moderada e *Sulfolobus acidocaldarius*, arqueia termofílica extrema [14]. Tais microrganismos possuem elevada resistência a meios com baixos valores de pH, elevadas temperaturas e com elevada concentração de metais, o que os torna propícios ao desenvolvimento em ambientes de minas. Estes seres utilizam os elétrons gerados na oxidação de íons ferrosos e formas reduzidas de enxofre inorgânico para obter energia. Seu uso é vantajoso na dissolução de cobre, pois possibilitam a geração de reagentes necessários ao processo e realizam a excreção da EPS (substância extracelular polimérica), que também contribui na lixiviação [15].

Donati e colaboradores [16] trazem ao nosso conhecimento explicações operacionais destes microrganismos. Eles são adaptados a ambientes muito distantes do considerado normal para a vida humana, prova disto é o fato de que podem ser encontrados em ambientes cuja acidez (pH entre 1,5 e 3,0) e/ou temperatura (até 70°C) são tão elevadas que dificilmente promoveriam o desenvolvimento de outros seres vivos.

Para uso na biolixiviação, organismos precisam ser aptos a viver sob baixos valores de pH, a elevadas temperaturas e em contato com elevadas concentrações de metais tóxicos. Frente a esses desafios, eles apresentam uma série de adaptações que os tornam especiais e bem preparados para o uso na lixiviação de metais de uma forma que organismos comuns não o seriam [16].

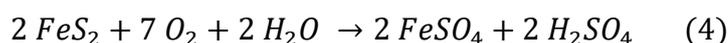
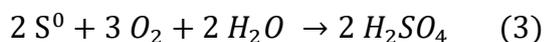
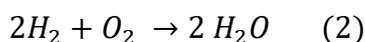
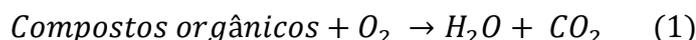
Uma das adaptações é uma modificação em suas proteínas a fim de sobreviver adequadamente sob elevadas temperaturas. Suas proteínas, em relação a outras criaturas, possuem maior carga superficial através de uma maior quantidade de resíduos carregados e interações iônicas, substituição de aminoácidos como cisteína, asparaginas, dentre outros. Outra adaptação está relacionada à manutenção da estabilidade e do estado semifluido de suas membranas celulares, objetivo alcançado pela existência de ligações entre ácidos graxos e glicerol muito mais resistentes ao calor e hidrólise ácida se comparado a outros organismos [16].

A fim de conservar intactas suas células, os seres termofílicos extremos possuem membranas mais impermeáveis a prótons, evitando danos devido à alta concentração dessa espécie no meio lixiviante [16].

Finalmente, para tolerar a alta concentração de metais tóxicos, estes seres possuem mecanismos ainda não muito bem elucidados e compreendidos que associados a enzimas e proteínas atuam em mobilização, quelação ou modificação destes metais de modo a não afetar negativamente seu funcionamento celular [16].

Na classe de microrganismos termofílicos extremos é possível encontrar espécies de arqueias. As arqueias são organismos procarióticos como as bactérias, porém diferem destas ao apresentarem: a) parede celular de composição variada sem a presença de peptidoglicano, b) lipídeos de membrana compostos por cadeias ramificadas de carbono ligadas ao glicerol, c) metionina como primeiro aminoácido na síntese de proteínas e d) ausência de sensibilidade a antibióticos. Já as bactérias possuem a) peptidoglicano em sua parede celular, b) cadeias lineares para lipídeos de membrana c) formilmetionina como primeiro aminoácido e d) sensibilidade a antibióticos [8].

No presente estudo, o microrganismo utilizado foi a arqueia *Sulfolobus acidocaldarius*, espécie termofílica originária de fontes termais ácidas ricas em enxofre, com variações de temperatura até 90 °C e de pH 1 a 5, apresentando condições ótimas de crescimento a 75 °C e pH 2 a 3. Quimiolitotrófica, aeróbia, mostra atividade oxidativa para enxofre ao oxidar H₂S ou S⁰ a H₂SO₄ e também para íons ferrosos em menor extensão. Além de fixar CO₂ como fonte de carbono, também pode se desenvolver quimiorganotroficamente. Tais características são observadas pelas seguintes reações [13]:



Possui células em formato de cocos lobuladas, habilitadas a fixarem-se aos cristais de enxofre. Sua elevada tolerância à presença de metais se deve aos complexos de metal-fosfatos que têm função desintoxicante pela hidrólise de polifosfato inorgânico (polyP). Ela também pode sobreviver diante de elevados níveis de Cl⁻ devido à camada superficial proteica (camada-S) que compõe a parede celular, conferindo estabilidade e manutenção da morfologia celular [17, 18].

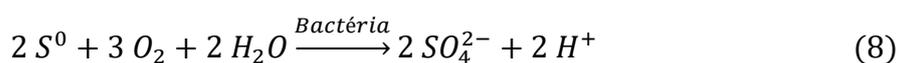
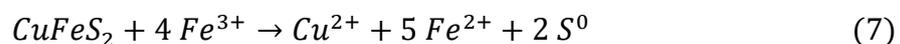
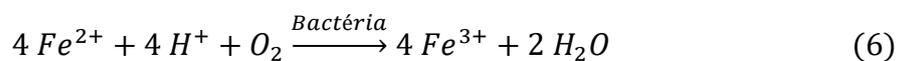
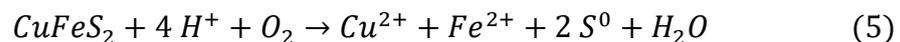
Figura 1 - Micrografia eletrônica de uma secção fina de célula de *S. acidocaldarius*. [13]



Todas as características e adaptações acima citadas tornam a *S. acidocaldarius* muito apropriada para utilização em processos de recuperação de metais a partir de fontes mais recalcitrantes, como a calcopirita (CuFeS_2) a ser discutida mais adiante.

1.2. Mecanismos de ataque e dissolução dos sulfetos minerais

De acordo com Li et al., Zhao et al. e Panda et al., [12, 15 e 19], inicialmente os mecanismos utilizados para descrever o processo de biolixiviação eram denominados “direto” e “indireto”. Porém, com o avanço dos estudos, demonstrou-se que o mecanismo direto não era uma opção, já que não foi possível comprovar o princípio desse mecanismo, ou seja, a transferência direta de elétrons entre o minério e o microrganismo a ele aderido. Nesse caso, ficava evidente que a lixiviação na realidade é um processo químico no qual a função dos microrganismos é contribuir com o fornecimento de reagentes necessários para sua ocorrência. No caso específico da calcopirita, a oxidação ocorre pelo ataque de prótons que gera íons ferrosos e enxofre elementar (reação 5). Os íons ferrosos são oxidados a íons Fe^{3+} pela ação das bactérias (reação 6) e, sequencialmente, atacam a calcopirita (reação 7). Já o enxofre elementar é oxidado a sulfato, passando por diversos intermediários, também mediante ação bacteriana (reação 8) [12].



Pode ocorrer ainda a lixiviação por contato, na qual logo após a fixação do microrganismo na superfície do minério, ocorre a secreção das EPS (substâncias poliméricas extracelulares), que formam um meio reacional no qual ocorrem os processos físico e químicos, como a quebra de ligações, fragmentação do minério e produção de espécies intermediárias. Nos estudos com CuFeS_2 , a maioria das EPS eram compostas por açúcares, proteínas, ácidos graxos, íons metálicos e ácidos urônicos [12, 15 e 19]. Tem-se ainda finalmente, o mecanismo cooperativo, onde ocorre simultaneamente a excreção de EPS com fixação de microrganismos na superfície do mineral e ainda a produção, por microrganismos planctônicos, de agentes oxidantes para realizar a lixiviação indireta [19].

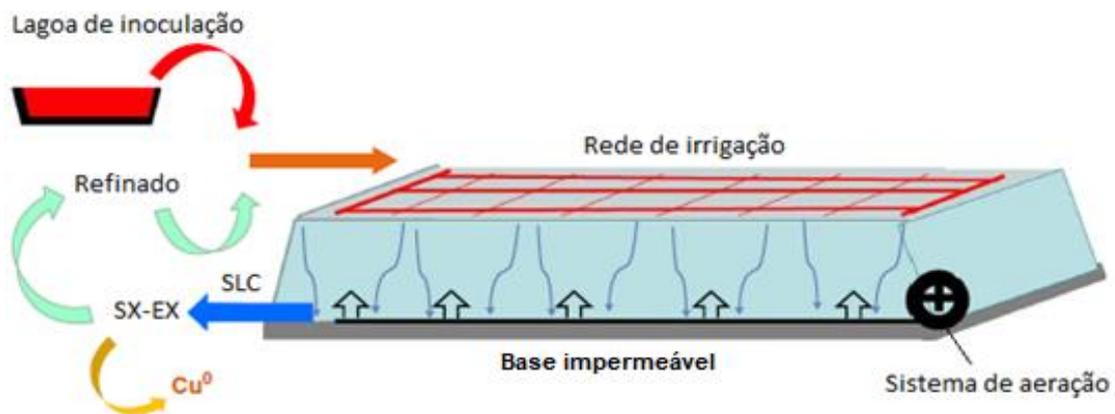
Além dos mecanismos de ataque, a dissolução dos sulfetos minerais pode ser classificada de acordo com o tipo de composto intermediário formado durante o processo em dois segmentos distintos: a “Via do Tiosulfato”, para sulfetos metálicos “insolúveis” em ácido (como a pirita (FeS_2)), e a “Via dos Polissulfetos”, para sulfetos metálicos “solúveis” em ácido (como a calcopirita e a esfalerita (ZnS)). Neste segundo segmento foi proposto um mecanismo no qual o ataque aos sulfetos é feito por prótons, rompendo-se as ligações metal-enxofre sob baixos valores de pH e oxidando enxofre elementar a polissulfetos. Como o enxofre elementar também pode ser oxidado biologicamente a ácido sulfúrico, o pH do meio é conservado de modo autossuficiente [19].

1.3. Modalidades Operacionais de Lixiviação Biológica

Do ponto de vista prático existem duas modalidades de biolixiviação: estática e dinâmica. Na modalidade estática, aplicada a metais de elevado valor econômico, é montada uma pilha do minério de interesse sobre uma base impermeabilizada e é percolada uma solução diluída de ácido sulfúrico (pH 2). No caso dos minérios de cobre, ocorre a oxidação tanto por ação do oxigênio dissolvido quanto do Fe^{3+} , gerando Cu^{2+} e Fe^{2+} . Parte do líquido resultante (~10%) segue para a planta de precipitação, onde o metal será recuperado por métodos tradicionais. O restante da solução volta para a pilha. Quando necessário, são feitas correções de pH para que este se mantenha em torno de 2 [13]. A Figura 2 ilustra um exemplo de um processo de biolixiviação de minério de cobre de baixo teor. A pilha é construída sobre uma base

impermeável de uma forma que permita aeração na base e irrigação no topo. Em seu interior, a dissolução oxidativa dos minérios de cobre é acelerada pela atividade de microrganismos ali presentes. Deste sistema provém a solução de lixiviação concentrada (SLC), a partir da qual pode-se recuperar o cobre através de extração por solvente associada a eletroextração (SX-EX), gerando catodo de cobre de grau puro (Cu^0). A solução remanescente recebe o nome de refinado, é ácida e contém baixa concentração de cobre. Ela percola a pilha por meio de um sistema de tubos distribuídos no topo; eles possuem uma cobertura térmica impermeável a fim de manter a umidade e o calor. Na lagoa de inoculação se desenvolvem microrganismos acidófilos que podem ser adicionados ao refinado antes de retornar à pilha [20].

Figura 2 - Esquema de uma pilha de biolixiviação de minério de cobre de baixo teor. [21]



Essa alternativa é altamente promissora em comparação ao processo pirometalúrgico, uma vez que o consumo energético e a poluição atmosférica são drasticamente diminuídos, além do baixo custo operacional devido à simplicidade do sistema e reduzida quantidade de mão de obra especializada. Adicionalmente, o uso dos microrganismos promove uma aceleração no processo de lixiviação, pois são capazes de regenerar os agentes oxidantes do sulfeto mineral. Não obstante, esse método pode ser aplicado tanto a rejeitos de minério, onde os teores são baixos, quanto a jazidas de pequeno porte e/ou situadas em regiões de difícil acesso e exploração [22].

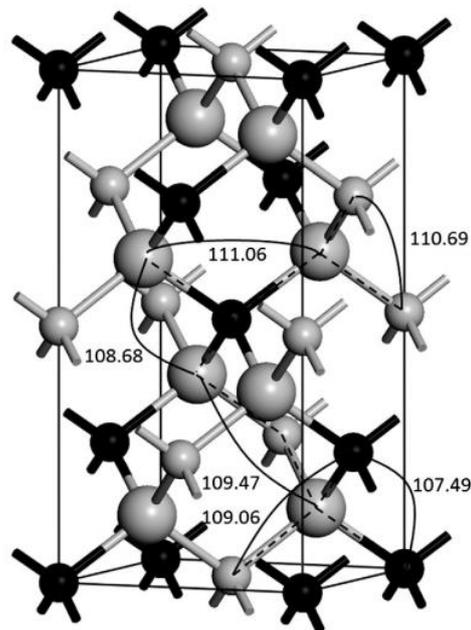
Todavia, existem desvantagens envolvidas nos processos de biolixiviação, sendo a principal delas a geração de drenagem ácida de mina. Esta solução aquosa, ácida, contém os metais oxidados no processo e pode levar à contaminação do solo e da água nas proximidades das atividades de mineração. Como há geração de ácido

sulfúrico, no caso de rios, ocorre diminuição do pH para valores inferiores a 1, solubilizando não apenas Fe^{2+} , mas também outros metais, como alumínio, cádmio, chumbo. Isto conduz à degradação da qualidade da água e à formação de um ambiente tóxico para a vida ali presente [13]. Além dos possíveis danos ambientais, deve-se destacar que a aplicação industrial em larga escala da biolixiviação de sulfetos primários de cobre, principalmente calcopirita, apresenta obstáculos devido ao caráter refratário desse sulfeto mineral, resultando em baixa velocidade de dissolução e reduzida eficiência de extração do cobre. Dessa forma, o processo de biolixiviação a partir da calcopirita ainda é economicamente inviável e, por esse motivo, tem sido objeto de estudo de diversas pesquisas acadêmicas e industriais [12, 19, 22].

1.1.1. Refratariedade da calcopirita

A calcopirita (CuFeS_2) recebeu este nome em 1917, concomitantemente à determinação de sua estrutura cristalina, isoestrutural à esfalerita (ZnS). Sua cela unitária contém 4 átomos de Cu e Fe e oito de S. Cada átomo de S é coordenado por um tetraedro de quatro íons metálicos (dois Fe e dois Cu) [15].

Figura 3 - Esquema da cela unitária da calcopirita com os respectivos ângulos dos tetraedros. Os átomos de S estão representados pelas esferas claras, grandes; de Cu, pelas escuras, pequenas; de Fe, pelas claras, pequenas. [15]



Devido às ligações covalentes, a CuFeS_2 é considerada um semicondutor degenerado, cujo nível de dopagem permite atuar de forma mais semelhante a um metal. Ainda em função destas ligações, existem dois possíveis estados de oxidação na superfície, $\text{Cu}^+\text{Fe}^{3+}(\text{S}^{2-})_2$ e $\text{Cu}^{2+}\text{Fe}^{2+}(\text{S}^{2-})_2$, sendo o segundo mais comumente encontrado na forma dissolvida, visto que na primeira forma o Cu^+ é rapidamente oxidado a Cu^{2+} quando em exposição ao ar e à água. [15]

O comportamento refratário observado para esse sulfeto mineral tem sido atribuído ao que os estudiosos do assunto nomeiam “passivação da calcopirita”. Trata-se da formação de substâncias na superfície mineral que dificultam, ou mesmo impedem, a dissolução. Das substâncias apontadas como as principais causadoras de passivação, as mais mencionadas são enxofre elementar (S^0) e as jarositas [$\text{MFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$], onde M pode ser K^+ , Na^+ , H_3O^+ ou NH_4^+ [12, 15, 19 e 23].

A formação das jarositas segundo Li et al., Zhao et al. e Panda et al., [12, 15 e 19] depende da razão $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ que, para elevadas concentrações de íons férricos, é elevada, favorecendo sua formação e a elevação dos valores de Eh do meio para um intervalo 748 a 828 mV (SHE). Li et al. [15] destacam que em alguns estudos, foi notada a elevação da cinética para baixos valores de Eh – em torno de 620 mV (SHE) – em relação a altos valores – acima de 800 mV (SHE). Nesses sistemas, a quantidade de jarosita era maior nos de menor cinética (elevado Eh), enquanto abaixo de 650 mV não se notava significativa atuação, corroborando para a ideia de que a jarosita possui efeito passivador e sua formação é estimulada mediante elevados valores de Eh. Entrementes, a oxidação de íons ferrosos a férricos ocorre pelo consumo de ácido da ganga que compõe o minério, provocando também a elevação do pH e favorecendo ainda mais a produção de jarositas [12, 15, 19 e 23]. Assim, como formas de contornar ou, pelo menos controlar a formação da jarositas, deve-se controlar rigidamente os valores de Eh e pH do meio a fim de se evitar sua elevação em demasia.

Em relação à precipitação de enxofre elementar (S^0), sua precipitação na superfície mineral dificulta o fluxo de elétrons, moléculas e espécies oxidantes com o meio. Tal ideia é fortalecida pela observação de um efeito sobremaneira mais efetivo para organismos cuja bio-oxidação se dá por mecanismo indireto. Sua interferência prejudica as reações de óxido-redução e afeta significativamente o processo de dissolução. Como alternativa para solucionar o problema, sugere-se o aumento da temperatura do sistema, pois sulfetos e espécies contendo S^0 têm aumento na sua solubilidade com elevação da temperatura. Outra possibilidade é a oxidação de S^0 a

sulfato que, solúvel, não contribui para a passivação. Esta oxidação também pode ser promovida por microrganismos com atividade oxidante para S^0 e seus compostos reduzidos [12, 15 e 19]. Considerando-se os processos de formação e os efeitos passivadores do S^0 e da jarosita, surgem controvérsias entre os pesquisadores acerca dos papéis dos microrganismos, cuja presença, para alguns, poderia agravar a baixa taxa de dissolução do metal de interesse. Como os organismos têm a habilidade de produzir uma sequência de reações de oxidação de polissulfetos reativos a S^0 e deste para sulfato, elevar-se-ia a quantidade desta espécie no meio. Como mencionado anteriormente, a combinação de sulfato e íons Fe^{3+} gera sulfatos férricos, os quais induzem a formação de jarosita. Ainda, além de polissulfetos, os referidos organismos podem oxidar Fe^{2+} a Fe^{3+} e o aumento da concentração deste íon promove um aumento nos valores de Eh, também constituindo um quadro favorável à formação de jarosita. Dentre as espécies passivadoras de sulfato insolúvel, a jarosita é a principal da categoria. Em alguns estudos, o S^0 tem se mostrado mais fácil de remover do que a jarosita, de modo que o efeito passivador desta é considerado mais efetivo [12, 15 e 19].

Outra categoria citada como passivadora é a dos polissulfetos formados devido à liberação preferencial de ferro a partir da calcopirita, porém a atuação dessas camadas como barreira à dissolução é questionada por muitos pesquisadores devido à alta instabilidade que apresentam [12]. Existem ainda citações acerca das espécies não-estequiométricas ($FeOOH$), óxidos (Fe_2O_3) e hidróxidos de ferro ($Fe(OH)_3$), cuja solubilidade é drasticamente diminuída com a elevação do pH. Com sua precipitação, podem atuar também como passivadores da calcopirita [12].

Apesar do elevado número de trabalhos que apontam para a “passivação” da calcopirita como sendo motivada pela formação de camadas superficiais, é importante ressaltar que estudos mais recentes mostram que a dificuldade de solubilizar cobre a partir desse sulfeto mineral é motivada pelas características semicondutoras que apresenta e as camadas, principalmente jarositas, dificultam, mas não impedem a solubilização do cobre [24, 25].

Pelo exposto, apesar de não existir convergência na literatura acerca dos reais motivos da refratariedade da calcopirita, um grande número de estudos considera a importância de tentar controlar os parâmetros dos ensaios de biolixiviação, que serão apresentados na sequência, como uma forma de melhorar a recuperação do cobre a partir da calcopirita.

1.1.1.1. Temperatura

A elevação da temperatura acelera a taxa de dissolução da calcopirita, visto que ocorre um aumento no fornecimento de energia ao sistema e, conseqüentemente, maior número de choques e interações entre as espécies químicas responsáveis pela dissolução. Não obstante, as reações de oxidação são aceleradas pelo fornecimento de energia, favorecendo o processo [26]. Tal favorecimento foi comprovado em estudos anteriores [27], inclusive verificando-se por meio de ensaios com bactérias termofílicas moderadas (50 °C ou menos) e termofílicas extremas (na faixa de 70 a 80 °C). Dessa forma operar a elevadas temperaturas pode ajudar a superar as dificuldades apresentadas pela etapa determinante na cinética do processo, especialmente acrescentando-se a atividade biológica das termofílicas, as quais devem ser adequadas à temperatura escolhida [16]. Entretanto, é importante destacar que embora o aumento da temperatura favoreça o processo de solubilização, a formação de jarosita também é mais intensa, fato que exige um estudo mais aprofundado do sistema de biolixiviação.

1.1.1.2. Potencial de óxido-redução (Eh)

O Eh fornece a relação entre as concentrações de agentes oxidantes e redutores presentes no meio. Ele pode ser calculado através da equação de Nernst, abaixo representada [11, 23].

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

Onde:

E: Potencial de óxido-redução do meio (V);

E⁰: Potencial de óxido-redução padrão (0,77 V para Fe³⁺/Fe²⁺);

R: Constante dos gases perfeitos (8,314 J/mol K);

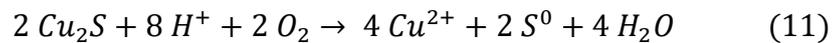
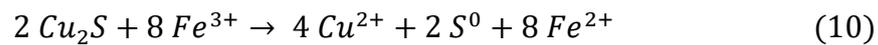
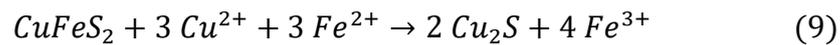
T: Temperatura (K);

n: Número de moles de elétrons envolvidos na equação global;

a: Atividade iônica das espécies iônicas.

Nos processos de lixiviação, o par redox predominante é o Fe^{3+}/Fe^{2+} [26]. A maioria dos termos na equação são constantes, exceto pelas atividades iônicas, que serão as responsáveis pelo valor final do Eh caso não haja outro(s) par(es) redox no meio. Dessa forma, as concentrações dos agentes redutor e oxidante afetam diretamente os valores de Eh do sistema [12, 26].

O modelo mais bem aceito com relação à influência do potencial de oxirredução na lixiviação da calcopirita é o proposto por Hiroyoshi, sem considerar a ação biológica e composto por duas etapas. Na primeira, ocorre a redução da calcopirita por íons ferrosos em meio contendo íons cúpricos, formando a calcocita (Cu_2S) (reação 9). Na segunda, a calcocita, que apresenta menor resistência à lixiviação do que a calcopirita, é oxidada por íons férricos e/ou oxigênio dissolvido no meio (reações 10 e 11) [28, 29].



Conseqüentemente, é imprescindível que o potencial seja baixo o bastante para a redução da calcopirita e alto o suficiente para a oxidação da calcocita. A faixa ideal para estes valores é apontada como sendo entre 600 a 680 mV (SHE) [29].

Mediante elevadas concentrações de Fe^{3+} , há elevação do Eh e contribuição para geração de jarosita, conhecida por “passivar” a calcopirita e restringir a dissolução do cobre. Assim, é de suma importância para o processo de dissolução controlar os valores de Eh, não apenas para evitar a formação de jarosita, mas também para garantir que o sistema se mantenha na faixa ótima de desempenho.

Isto pode ser feito adicionando-se um novo par redox ou ajustando a razão do par Fe^{3+}/Fe^{2+} já existente. Entrementes, o Eh também sofre influência de fatores como temperatura, pH, composição da solução, dentre outros, direta ou indiretamente, visto que eles afetam tanto o par redox já existente quanto outras espécies reativas do meio [12]. Existem também sugestões acerca do uso de microrganismos termofílicos com atividade oxidante para S^0 em vez de Fe^{2+} , evitando-se o acúmulo de Fe^{3+} e conseqüente elevação do Eh [30].

1.1.1.3. pH

A quantidade de ácido presente no meio afeta consideravelmente o progresso da biolixiviação, sendo consumido e produzido no decorrer das reações como demonstrado anteriormente. Ainda, o pH do meio influencia as reações químicas que estão ocorrendo, podendo favorecer a biolixiviação ou não, como, por exemplo, ao estimular a geração de jarosita [12]. Isto ocorre para elevados valores de pH, de modo que se tem como alternativa corrigi-lo para menor a fim de evitar a formação dessa espécie passivadora.

Entretanto, valores muito baixos de pH (menores do que 1,0) normalmente não são bem aceitos por microrganismos termofílicos. Assim, nos sistemas em que eles estão presentes é mais difícil de contornar o problema com a jarosita. É possível diminuir a formação dessa espécie se as termófilas forem capazes de realizar as reações para gerar ácido com velocidade maior ou igual às de consumo pelo material calcopirítico, o que pode ser atingido mantendo-se a temperatura ótima para seu crescimento. Contudo, as termófilas requerem valores elevados de temperatura, os quais também favorecem a formação de jarosita [30].

Frente ao seu elevado impacto, percebe-se que é preciso manter este fator sob rígido controle, especialmente em meios contendo microrganismos, pois, como mencionado anteriormente, cada um possui um valor de pH ótimo para seu crescimento e desvios desse valor podem promover malefícios aos microrganismos semelhantes aos dos desvios da temperatura ótima. Assim, é preciso também escolher os microrganismos adequados aos valores de pH selecionados para a realização do ensaio.

Sendo assim, face ao exposto, observa-se o indubitável potencial da biolixiviação como solução para exploração e obtenção de metais de interesse econômico a partir de minérios de baixo teor e também para resolver questões geográfico-econômico-ambientais. Ficam claras as possibilidades apresentadas por ele em nossa realidade atual. Para que sua aplicação se torne ainda mais adequada e ampla, é necessário que se façam pesquisas cada vez mais aprofundadas neste tema. Nesse sentido, selecionou-se os parâmetros temperatura, potencial, pH e o uso de microrganismo termofílico extremo, a *Sulfolobus acidocaldarius*, para avaliar e comparar lixiviação química e biológica, cujos resultados serão expostos posteriormente.

2. Objetivo

Avaliar o desempenho da *Sulfolobus acidocaldarius* em ensaios de biolixiviação de concentrado calcopirítico em frascos a 65°C, através do monitoramento do cobre total, ferro total e íons ferrosos em solução, além dos valores de pH e Eh.

3. Materiais e Métodos

3.1. Amostra mineral

Para os ensaios de biolixiviação foi utilizado um concentrado de flotação calcopirítico proveniente do beneficiamento da Mina de Sossego, localizada em Carajás no sudeste do estado do Pará. A análise da porcentagem em massa de metais presentes na amostra são 30,3% de Cu, 26,6% de Fe e 17,9% de enxofre. Os teores apresentados foram determinados por análise quantitativa em amostra preparada por digestão multiácida e dosados em espectrômetro de emissão óptica (ICP OES). Tais análises foram realizadas pelo Laboratório de Caracterização Mineralógica da Escola Politécnica da USP.

3.2. Material biológico

Utilizou-se cepa de arqueias termofílicas da espécie *Sulfolobus acidocaldarius* previamente cedida pelo Prof. Dr. Versiane Albis Leão da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), Minas Gerais.

3.3. Ensaio de lixiviação

Os ensaios foram feitos em frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 2,5 g de calcopirita e meio 88 em pH 2,0 (ajustado com ácido sulfúrico concentrado), indicado pelo instituto DSMZ, cuja composição está mostrada na Tabela 1 [12].

Tabela 1: Composição do meio 88.

Componente	Quantidade
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,30 g L ⁻¹
KH ₂ PO ₄	0,28 g L ⁻¹
MgSO ₄ ·7 H ₂ O	0,25 g L ⁻¹
CaCl ₂ ·2 H ₂ O	0,07 g L ⁻¹
FeCl ₃ ·6 H ₂ O	0,02 g L ⁻¹
Extrato de levedura	1,00 g L ⁻¹
MnCl ₂ ·4 H ₂ O	180,00 mg L ⁻¹
Na ₂ B ₄ O ₇ ·10 H ₂ O	450,00 mg L ⁻¹
ZnSO ₄ ·7 H ₂ O	22,00 mg L ⁻¹
CuCl ₂ ·2 H ₂ O	5,00 mg L ⁻¹
Na ₂ MoO ₄ ·2 H ₂ O	3,00 mg L ⁻¹
VO ₂ SO ₄ ·2 H ₂ O	3,00 mg L ⁻¹
CoSO ₄ ·2 H ₂ O	1,00 mg L ⁻¹

Os frascos foram incubados a 65°C sob agitação de 150 rpm em Shaker Biológico Innova® S44i da marca Eppendorf e as condições avaliadas foram:

- Meio 88 abiótico;
- Meio 88 abiótico com adição de íons ferrosos (120 mmol L⁻¹);
- Meio 88 com *Sulfolobus acidocaldarius* (10% de inóculo (m/v));
- Meio 88 com *Sulfolobus acidocaldarius* na presença de íons ferrosos (10% de inóculo (m/v) e 120 mmol L⁻¹ de Fe²⁺).

Todas as condições foram avaliadas em triplicata e o ensaio foi realizado em condições estéreis por duas vezes. A diferença entre os dois ensaios é a concentração de íons férricos, tendo sido 0,0666 mmol L⁻¹ para o primeiro e 0,0733 mmol L⁻¹ para o segundo.

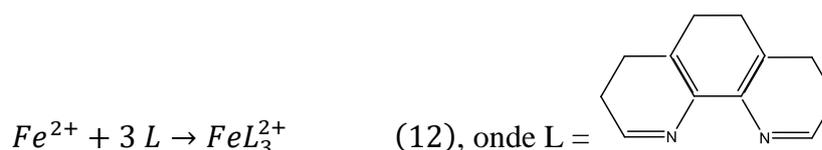
Periodicamente foram retiradas alíquotas homogêneas de cada frasco nas quais considerou-se que em um volume aproximado de 3 mL a quantidade de

sólido e líquido é aproximadamente a mesma. Sequencialmente, as amostras foram centrifugadas a 4.000 rpm por 9,5 minutos, o sólido foi armazenado para análises posteriores e no líquido foram realizadas análises de pH, Eh, íons ferrosos, ferro total e cobre total.

3.4. Metodologia Analítica

3.4.1. Íons ferrosos

Para esta análise utilizou-se o método da Fenantrolina proposto por diversos autores, um deles Sandell [31]. Baseia-se na formação de um complexo altamente estável e fortemente colorido (FeL_3^{2+}) entre 1,10-fenantrolina e íons ferrosos em meio levemente ácido ou básico.



Este método apresenta interferência para espécies como Ni, Cu e Co, com as quais a 1,10-fenantrolina forma complexos coloridos, e Zn, complexo incolor. No primeiro caso, o resultado fornecido pelo equipamento estará errado para valores maiores (há maior absorção do comprimento de onda incidido), enquanto no segundo para menores (a 1,10-fenantrolina pode ter deixado de complexar com a espécie de interesse, absorvendo, portanto, menos).

Inicialmente, obteve-se a curva analítica. Para tal, preparou-se soluções padrão de Fe^{2+} (70 mg L^{-1}) de concentrações de 0 a 20 mg L^{-1} contendo 10 mL de tampão acetado de sódio, 20 mL de 1,10-fenantrolinamonohidratada (2 g L^{-1}) e 1 mL de HCl concentrado. Realizou-se a leitura das absorvâncias a 510 nm, em Espectrofotômetro – 600 S da marca Femto.

Relacionando-se as absorvâncias às respectivas concentrações de Fe^{2+} nas soluções, pôde-se construir a curva analítica.

De posse da curva, partiu-se para análise das amostras coletadas dos ensaios de lixiviação. Estas foram preparadas adicionando-se a 2 mL de tampão acetato de sódio, 4 mL de 1,10-fenantrolinamonohidratada, 800 μL de solução de fluoreto de sódio ($2,0 \text{ mol L}^{-1}$). As quantidades das amostras variaram de acordo com as diluições necessárias para respeitar a linearidade da curva.

3.4.2. Ferro total e cobre total

As concentrações de ambos os metais foram determinadas utilizando-se Espectroscopia de Absorção Atômica em Chama (FAAS), utilizando o equipamento Agilent Technologies modelo 200 series AA localizado no Laboratório de Biohidrometalurgia.

As amostras foram adequadamente diluídas com HNO₃ 2% (v/v) a fim de respeitar a linearidade das curvas de calibração do equipamento para cada metal, obtidas preparando-se diluições de soluções padrões de íons férricos e cúpricos.

3.4.3. pH e Eh

Para as medidas de pH e Eh (potencial de óxido-redução) das amostras, utilizou-se pHmetro de bancada PG2000 da marca Gehaka, um eletrodo combinado de vidro Kasvi e um eletrodo de Pt (com referência de Ag|AgCl|KCl_(sat)) ROX673C Analion, respectivamente.

4. Resultados e Discussão

Primeiramente, serão apresentados os dados referentes ao primeiro ensaio de biolixiviação na presença de íons ferrosos, com os respectivos controles.

A Figura 4 mostra que inicialmente os valores de pH foram em torno de 2,1. Nos frascos com Fe²⁺ foi observada uma diminuição dos valores de pH até o 7° dia de ensaio, seguida de estabilização para os frascos abióticos. Entretanto, a partir do 7° dia, para os frascos contendo inóculo, ocorreu um aumento de pH até o 21° dia, quando os valores estabilizaram. Esse aumento possivelmente está relacionado ao consumo de ácido que ocorre durante a solubilização da calcopirita, conforme indicado na reação 12 [32].



Nos frascos sem íons ferrosos, os valores de pH aumentaram de 2,1 para 2,4 em 4 dias e permaneceram constantes até o final do ensaio. O ligeiro aumento inicial

de pH está relacionado ao consumo de ácido inicial pelo sulfeto mineral, conforme discutido anteriormente.

Figura 4 – Variação do pH para os frascos referentes ao primeiro ensaio.

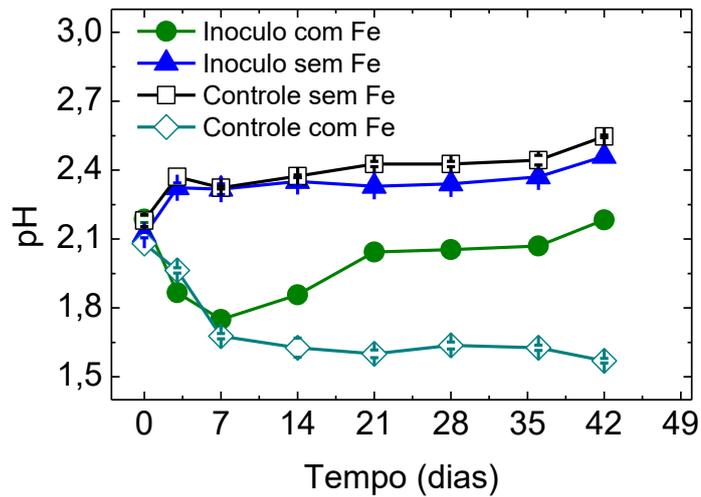
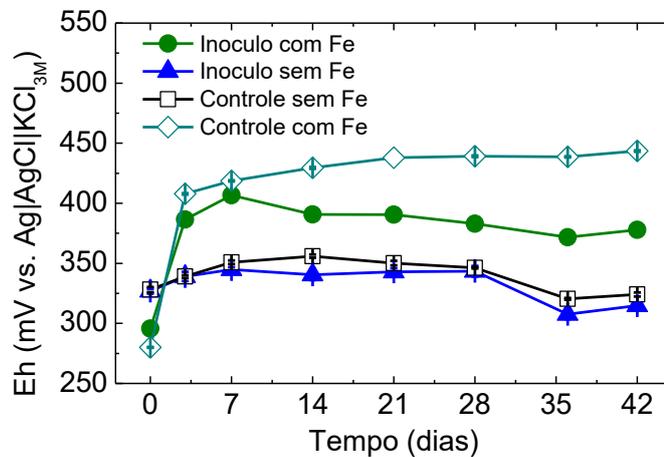


Figura 5 - Variação do Eh para os frascos referentes ao primeiro ensaio.



Em relação ao potencial de oxirredução, Figura 5, é possível observar que, para os frascos sem adição de íons ferrosos, os valores permaneceram próximos a 330 mV durante todo o ensaio. Nos frascos contendo íons ferrosos, os valores de Eh aumentam até o 7º dia de ensaio. Na sequência, esse aumento persiste para os frascos abióticos até o 21º dia de ensaio e está relacionado à oxidação dos íons ferrosos pelo oxigênio dissolvido no meio. Nos frascos contendo *S. acidocaldarius*, os valores de Eh são ainda menores que no controle, fato relacionado à oxidação preferencial do enxofre

por ação dessas arqueias, mantendo uma maior concentração de íons ferrosos em solução e, conseqüentemente, valores mais baixos de Eh.

Os dados obtidos para as concentrações de Fe^{2+} e ferro total durante o ensaio estão representados nas Figuras 8 e 9, respectivamente. Nos meios com adição de íons ferrosos, a concentração de Fe^{2+} e ferro total apresentou queda progressiva e semelhante, exceto aos dias 14 e 28 (valores mais elevados para o meio biótico). O meio abiótico apresentou uma diminuição de 100 mmol L^{-1} , enquanto o biótico, de 96 mmol L^{-1} , entretanto esse decréscimo não é proporcional à geração de íons férricos em solução, pois ocorre a precipitação dos mesmos na forma de jarositas (Figuras 6 e 7).

Figura 6 - Frascos 1 a 3 apresentaram mudança notável de coloração devido à precipitação de jarositas. Fonte: própria autora.



Figura 7 - Mudança de coloração dos frascos 1 a 3 comparados aos demais frascos. Fonte: própria autora.



Esta hipótese pode ser reforçada pelos valores de Eh que se relacionam ainda com a geração de íons ferrosos a partir da calcopirita pela ação da arqueia que oxida preferencialmente o enxofre. Nesse sentido, a arqueia é benéfica ao processo de biolixiviação pela ação lixiviante e manutenção do potencial dentro da faixa ótima de solubilização da calcopirita.

Nos meios sem adição de íons ferrosos, a concentração de Fe^{2+} e ferro total variou entre 1,0 e 2,0 mmol L^{-1} , valores muito pequenos, que permaneceram praticamente constantes durante todo o ensaio.

Figura 8 - Variação da concentração de Fe^{2+} para os frascos referentes ao primeiro ensaio.

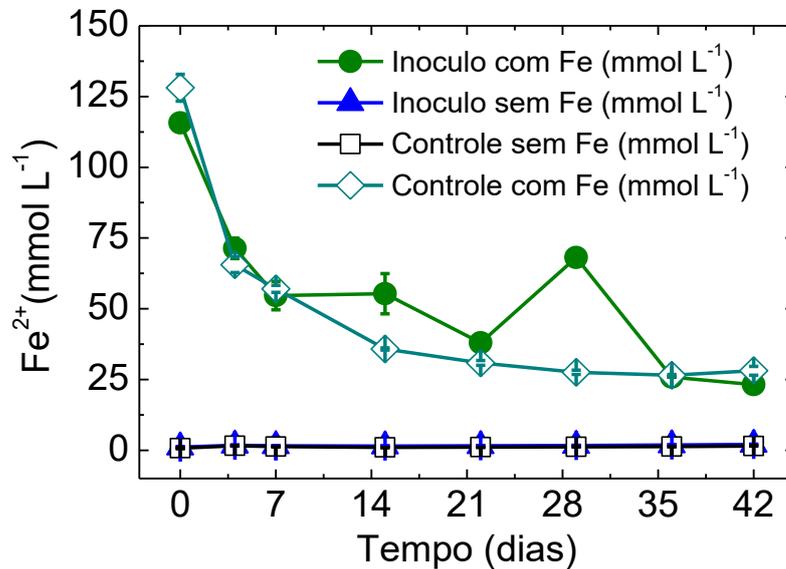


Figura 9 – Variação da concentração de ferro total para os frascos referentes ao primeiro ensaio.

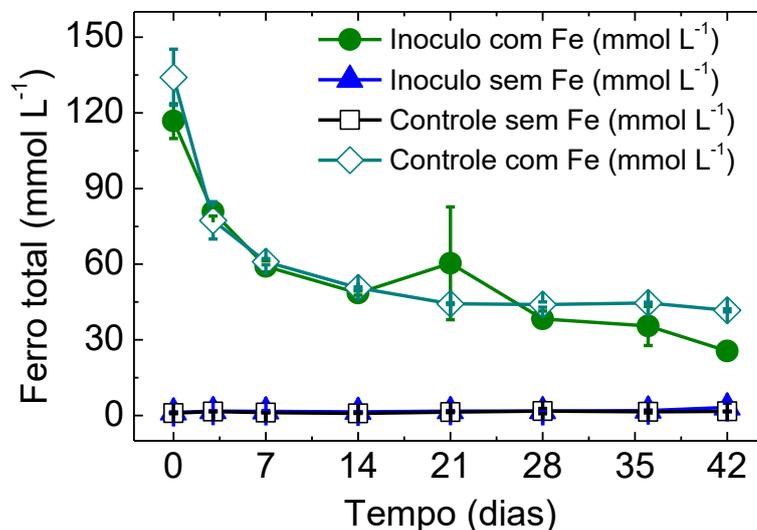
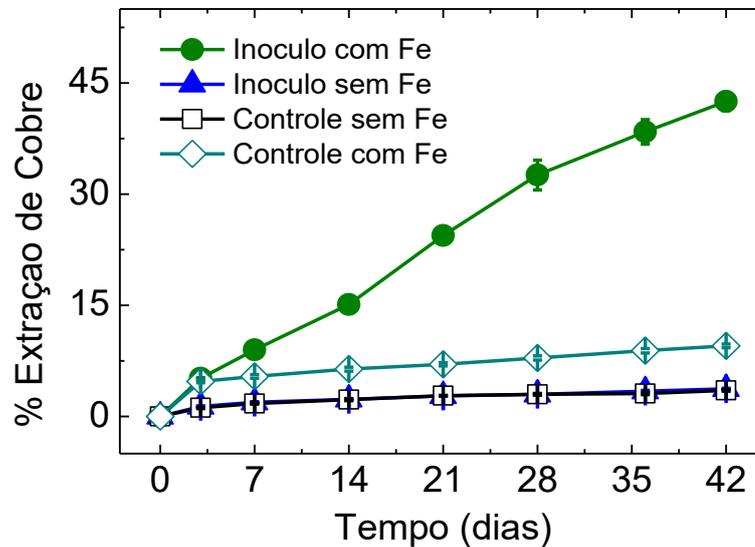


Figura 10 – Variação da extração de cobre (em porcentagem) para os frascos referentes ao primeiro ensaio.



A solubilização de cobre no meio biótico inoculado com íons ferrosos apresentou aumento contínuo com o tempo de ensaio, atingindo aos 42 dias 42,5% de extração. As demais condições apresentaram valores de porcentagem de extração de cobre praticamente constantes a partir da segunda amostragem, alcançando 9,5% no meio abiótico suplementado, 3,8% no meio biótico não-suplementado e 3,5% no meio abiótico não-suplementado. Claramente, a extração metálica foi muito mais eficiente para o meio biótico suplementado em comparação com o meio abiótico suplementado. Apesar de a extração do meio biótico sem suplementação ter sido aquém dos meios suplementados ainda foi melhor do que no meio abiótico sem suplementação.

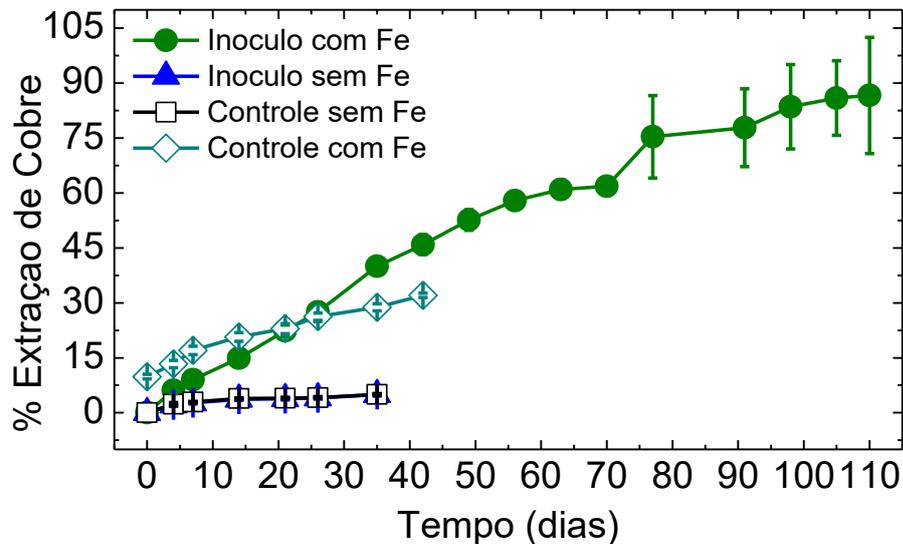
Naturalmente, esperava-se extração maior para o meio biótico em relação ao abiótico, visto que, como já mencionado no item 1., nestes meios ocorre a lixiviação química concomitantemente com a biológica, aumentando a dissolução de cobre. A ação do microrganismo é comprovada comparando-se os meios sem suplementação, onde, apesar da pouca diferença, a presença da *S. acidocaldarius* afeta positivamente o processo.

Percebe-se ainda que a suplementação com Fe^{2+} também aumentou a porcentagem de extração do cobre. Isto era esperado, pois, como visto no item 1., o processo de dissolução química conta com o Fe^{2+} para reduzir a calcopirita e com Fe^{3+} para oxidar a calcocita, liberando-se os íons cúpricos em solução. Ainda, no processo de dissolução biológica, a arqueia oxida Fe^{2+} a Fe^{3+} e este último oxida a calcopirita,

disponibilizando Cu^{2+} no sistema. Dessa forma, a adição de Fe^{2+} permite aumentar a eficiência do processo.

Sequencialmente, o ensaio acima foi repetido com o objetivo de avaliar a capacidade da arqueia em prosseguir com a extração de cobre por tempo indeterminado. Todas as variáveis apresentaram comportamento semelhante ao observado no primeiro ensaio, entretanto, percebe-se através da Figura 11, que a arqueia tem a capacidade de dar continuidade à dissolução mesmo após 110 dias de ensaio. Aos 110 dias de ensaio, foi extraído 86,6% de cobre dos frascos bióticos suplementados, 32,5% dos frascos abióticos suplementados, 4,9% dos frascos bióticos não-suplementados e 4,99% dos frascos abióticos não-suplementados. Assim como no primeiro ensaio, a maior extração de cobre apresentada parte dos frascos suplementados, bióticos e, em seguida, abióticos.

Figura 11 - Variação da extração de cobre (em porcentagem) para os frascos referentes ao segundo ensaio.



Os resultados do segundo ensaio demonstraram a potencialidade de utilização dessa arqueia para solubilização de cobre a partir de minério calcopirítico. Essa aplicação seria muito promissora em processos prolongados e estáticos de extração de cobre a partir da calcopirita considerada a diminuição das fontes de alto teor e localização privilegiada. Castro e Donatti [33] alcançaram com a arqueia *Acidianus copahuensis*, também a 65 °C, os mesmos valores de porcentagem de extração, entretanto com uma cinética inicial mais lenta do que a observada para a *S. acidocaldarius*. Outro aspecto relevante da utilização das arqueias do gênero

Sulfolobus sp. é a capacidade que possuem de resistir à tensão de cisalhamento, conforme observado em ensaios com elevadas porcentagens de sólidos [34]. Adicionalmente, apresentam, assim como a *Acidianus brierleyi*, capacidade de manter o potencial de oxirredução dos meios de biolixiviação dentro da faixa ótima para a solubilização da calcopirita por oxidarem preferencialmente o enxofre [30].

5. Conclusões

O presente trabalho permitiu a verificação da elevada potencialidade da arqueia *S. acidocaldarius* em extrair cobre a partir da calcopirita de forma prolongada devido à sua elevada robustez. Os motivos para isso estão relacionados à capacidade que esse microrganismo apresentou em manter os potenciais de oxirredução dentro da faixa ótima para recuperação do cobre a partir da calcopirita em meios contendo íons ferrosos. Essas condições favorecem a redução da calcopirita a compostos menos refratários que facilmente se oxidam, tornando esses meios muito promissores para a resolução da questão que gira em torno da recuperação de cobre a partir de uma fonte que atualmente é um resíduo gerador de problemas ambientais.

6. Referências

- [1] <http://www.dnpm-pe.gov.br/Geologia/Mineracao.php> > Acesso em: 4 de setembro de 2019.
- [2] <http://www.vale.com/brasil/PT/aboutvale/news/Paginas/descubra-diferenca-entre-minerio-metal-minerais-rochas.aspx> > Acesso em: 4 de setembro de 2019.
- [3] <http://www.dnpm-pe.gov.br/Detalhes/Mineral.htm> > Acesso em: 4 de setembro de 2019.
- [4] <http://www.grupovision.com.br/areas-de-atuacao/mineracao/extracao-do-minerio-de-ferro/beneficiamento-de-minerio-de-ferro/> > Acesso em: 4 de setembro de 2019.
- [5] <http://www.vale.com/brasil/PT/business/mining/copper/Paginas/default.aspx> > Acesso em: 4 de setembro de 2019.
- [6] <http://www.rsc.org/periodic-table/element/29/copper> > Acesso em: 4 de setembro de 2019.
- [7] <http://www.dnpm.gov.br/dnpm/paginas/balanco-mineral/arquivos/balanco-mineral-brasileiro-2001-cobre> > Acesso em: 4 de setembro de 2019.

- [8] TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE C. L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. Cap. 10.
- [9] CASTRO, C.; Interacción de una arquea termófila con la superficie mineral y su influencia en la biolixiviación de minerales. **Tese (Doutorado em Química) - Facultad De Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata**. La Plata. 2016.
- [10] FARIS, N. et al.; The effect of thermal pre-treatment on the dissolution of chalcopyrite (CuFeS₂) in sulfuric acid media. **Hydrometallurgy**, v. 169, p. 68–78, 2017.
- [11] ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de Química: Questionando A Vida Moderna E O Meio Ambiente**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2012. Cap. 16.
- [12] ZHAO, H. et al. The dissolution and passivation mechanism of chalcopyrite in bioleaching: An overview. **Minerals Engineering**, v. 136, p.140–154, 2019.
- [13] MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Cap. 16 e 21.
- [14] <http://www.temasbio.ufscar.br/?q=artigos/bact%C3%A9rias-mineradoras> > Acesso em 14 de outubro de 2019.
- [15] LI, Y., et al. A review of the structure, and fundamental mechanisms and kinetics of the leaching of chalcopyrite. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 197/198, p.1-32, 2013.
- [16] DONATI, E. R.; CASTRO, C.; URBIETA, M. S. Thermophilic microorganisms in biomining, **World J Microbiol Biotechnol**, v. 32, p. 179, 2016.
- [17] RANAWAT, P., RAWAT, S.; Metal-tolerant thermophiles: metals as electron donors and acceptors, toxicity, tolerance and industrial applications. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 25, p. 4105–4133, 2018.
- [18] MEYER, B.H., et al.; Agl16, a thermophilic glycosyltransferase mediating the last step of N-glycan biosynthesis in the thermoacidophilic Crenarchaeon *Sulfolobus acidocaldarius*. **J. Bacteriol.** v. 195, p. 2177-86, 2013.
- [19] PANDA, S. et al. Current scenario of chalcopyrite bioleaching: A review on the recent advances to its heap-leach technology, **Bioresource Technology**, v. 196, p. 694–706, 2015.
- [20] JOHNSON, D. B. Biomining — biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 30, p. 24-31, 2014.

- [21] TOLEDO, A. G. R.; Biossolubilização de minério calcopirítico de baixo teor utilizando microrganismos extremofílicos. Exame de Qualificação para Doutorado - **Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista**. Araraquara. 2013.
- [22] GARCIA JÚNIOR, O.; BEVILAQUA, D. Micro-organismos, minerais e metais. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Microbiologia ambiental**. 2. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. Cap. 3.
- [23] SANTOS, A. L. A.; Efeito do potencial de óxido-redução na biolixiviação da calcopirita. **Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista**. Araraquara. 2014.
- [24] BRYSON, L.J. et al. Investigation of the Mechanism of Dissolution of Chalcopyrite using Photo-Effects. **Hydrometallurgy Conference 2016: Sustainable Hydrometallurgical Extraction of Metals**, Cape Town, 1–3 August 2016, Southern African Institute of Mining and Metallurgy.
- [25] SANTOS, A. L. A. et al.; Effect of redox potential on chalcopyrite dissolution imposed by addition of ferrous ions. Physics and Chemistry of Minerals. **Eclética Química Journal**, v. 42, 2017.
- [26] LIMA, U. A. et al; **Biotecnologia Industrial – Volume III: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. 1. ed. São Paulo: Edgar Blücher LTDA, 2001. Cap. 22.
- [27] LIUA, W.; GRANATAB, G.; Temperature control in copper heap bioleaching; **Hydrometallurgy**, v. 176, p. 26–32, 2018.
- [28] HIROYOSHI, N. et al.; A model for ferrous-promoted chalcopyrite leaching. **Hydrometallurgy**, v. 57, p. 31–38, 2000.
- [29] KHOSHKHOO, M. et al.; New insights into the influence of redox potential on chalcopyrite leaching behaviour. *Minerals Engineering*, v. 100, p. 9–16, 2017.
- [30] VILCÁEZ, J.; SUTO. K., INOUE, C.; Bioleaching of chalcopyrite with thermophiles: Temperature–pH–ORP dependence. **Int. J. Miner. Process.**, v. 88, p. 37–44, 2008.
- [31] E.B. SANDELL. "Colorimetric Determination of Traces of Metals", 3. ed., Interscience, New York, 1959, pp. 537-542.
- [32] BEVILAQUA, D. Solubilização da calcopirita (CuFeS_2) e da bornita (Cu_5FeS_4) por *Thiobacillus ferrooxidans*. **Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista**. Araraquara, 1999.

- [33] CASTRO, C.; DONATI, E.; Effects of different energy sources on cell adhesion and bioleaching of a chalcopyrite concentrate by extremophilic archaeon *Acidianus copahuensis*. **Hydrometallurgy**, v. 162, p. 49–56, 2016.
- [34] KONISHI, Y.; TOKUSHIGE, M.; ASAI, S.; Bioleaching of chalcopyrite concentrate by acidophilic thermophile *Acidianus brierleyi*. **Biotechnol. Prog.**, v. 15 (4), p. 681-8, 1999.
- [35] BROCK, T. D. et al. (1972). *Sulfolobus*: a new genus of sulfur-oxidizing bacteria living at low pH and high temperature. **Arch.Mikrobiol.** v. 84, p.54-68.
- [36] <https://www.ufrgs.br/napead/projetos/reciclagem-materiais-metalicos/pag6.php> > Acesso em: 4 de setembro de 2019.
- [37] https://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ_Medium88.pdf > Acesso em: 01 de outubro de 2019.