Débora Monteiro de Oliveira

USO DE ÁCIDO SULFÚRICO BIOGÊNICO NA LIXIVIAÇÃO DE MINÉRIO INTEMPERIZADO DE COBRE

Orientadores:
Eliana Flávia Camporese Sérvulo, D.Sc.
Luis Gonzaga Santos Sobral, Ph.D.

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Escola de Química
Outubro de 2017

USO DE ÁCIDO SULFÚRICO BIOGÊNICO NA LIXIVIAÇÃO DE MINÉRIO INTEMPERIZADO DE COBRE

Débora Monteiro de Oliveira

Orientadores:
Eliana Flávia Camporese Sérvulo, D.Sc.
Luis Gonzaga Santos Sobral, Ph.D.

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos como parte dos pré-requisitos para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Escola de Química
Outubro de 2017

O48u

Oliveira, Débora Monteiro de
Uso de ácido sulfúrico biogênico na lixiviação de minério primário de cobre / Débora Monteiro de Oliveira. Rio de Janeiro, 2017.
125 f.

Orientadora: Eliana Flávia Camporese Sérvulo.
Orientador: Luis Gonzaga Santos Sobral.
Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2017.

1. Lixiviação. 2. Acidithiobacillus. 3. Cobre. 4. Ácido Sulfúrico. 5. Biolixiviação. I. Sérvulo, Eliana Flávia Camporese, orient. II Sobral, Luis Gonzaga Santos, orient. III. Título

USO DE ÁCIDO SULFÚRICO BIOGÊNICO NA LIXIVIAÇÃO DE MINÉRIO INTEMPERIZADO DE COBRE

Débora Monteiro de Oliveira

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Aprovada em 30/10/2017.

Dra. Eliana Flávia Camporese Sérvulo (EQ-UFRJ)
Orientadora

Luis Gonzaga Santos Sobral, Ph.D. (CETEM-MCTIC)
Orientador

Dra. Ana Paula de Castro Rodrigues (UFF)

Dra. Márcia Monteiro Machado Gonçalves (UERJ)

Dra. Selma Gomes Ferreira Leite (EQ-UFRJ)

Dra. Lídia Yokoyama (EQ-UFRJ)

Rio de Janeiro
2017

Dedico esta tese aos meus exemplos de vida:
meus pais José Norberto e Jerusa Monteiro
por todo apoio e cuidado ao longo de toda a
minha vida. Cada conquista se deve, e muito,
à dedicação de vocês.

AGRADECIMENTOS

Ao meu amigo e orientador Luis Gonzaga Santos Sobral, grande incentivador desde o início da minha jornada acadêmica e profissional, pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa, por toda paciência, empenho e confiança em mim depositada.

À minha orientadora Eliana Flávia Camporese Sérvulo, por acreditar na proposta do trabalho, pelo carinho e cuidado, que excedem a sua função acadêmica e por todos os ensinamentos que certamente me acompanharão no decorrer da minha vida profissional.

À Susan e Gregory Olson, pelas sugestões dadas para enriquecimento do trabalho, pelo convívio agradável durante sua estadia no Brasil no qual pude desfrutar de valiosas discussões científicas.

À direção do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM), pela infra-estrutura para realização dos experimentos em suas instalações.

Aos colegas do laboratório de biohidrometalurgia do CETEM, que contribuíram dando apoio na montagem das colunas, no monitoramento dos experimentos e na realização de análises químicas: Diogo Padrão, Rômulo Paixão, Isaías Viana, Jorge Ramiro, Carlos Eduardo Gomes de Souza, Giovana Rossini e Naiara Bello.

Aos profissionais da COAMI/CETEM pela realização da caracterização tecnológica e análise de cobre.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de doutorado.

À minha filha Glenda, pelo carinho, amor e por entender que com capricho e dedicação podemos alcançar nossos objetivos.

Ao meu esposo Paulo, por compreender minhas ausências, pelo amor, companheirismo e incentivo constante em todas as etapas das nossas vidas.

À minha família: meus pais (Jerusa e José Norberto), minha irmã Daniela, meus sogros (Sandra e Cunha), meu cunhado Fábio, meus sobrinhos, meus inúmeros tios e primos, sempre presentes em minha vida, me apoiando em todos os momentos.

Aos professores que tive ao longo da minha vida acadêmica, em especial ao Jorge Sobral por ter me incentivado a fazer iniciação científica, onde tudo começou; e ao Douglas Guimarães por ter me impactado com algumas palavras de incentivo que me impulsionaram a chegar mais longe.

Aos meus amigos (os velhos e os novos) por compreenderem minha ausência; pelos momentos de descontração e por emanarem tantas energias positivas.

A todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. Obrigada!

"*Há, verdadeiramente, duas coisas diferentes: Saber e crer que se sabe. A ciência consiste em saber, em crer que se sabe está a ignorância.*"

Hipócrates

RESUMO

OLIVEIRA, Débora Monteiro. **Uso de ácido sulfúrico biogênico na lixiviação de minério intemperizado de cobre.** 2017. 125 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

Este estudo avaliou o potencial do uso de ácido sulfúrico biogênico na lixiviação de um minério intemperizado de cobre contendo 0,64% de cobre, ocorrendo como brocantita ($Cu_4SO_4(OH)_6$), malaquita ($Cu_2CO_3(OH)_2$), azurita ($Cu_3(CO_3)_2(OH)_2$) e bornita (Cu_5FeS_4). Preliminarmente, foram realizados ensaios em frascos agitados para avaliar a susceptibilidade do processo bio-oxidativo de enxofre na geração de quantidade suficiente de ácido para promover a solubilização das espécies mineralógicas carregadoras de cobre. Os resultados satisfatórios e equivalentes aos obtidos durante uma simulação de lixiviação ácida convencional impulsionaram a realização de ensaios em colunas, com distintas condições operacionais, tais como: (i) lixiviação a partir do ácido produzido por *A. thiooxidans* tanto em um cultivo puro quanto em associação com *A. ferrooxidans*; (ii) realização de ensaios sob temperatura controlada em 30°C; (iii) lixiviação de minério processado por moinhos de rolos de alta pressão (HPGR); (iv) adição de distintas cargas de enxofre distribuídas de modo uniforme no leito mineral; e, por fim, (v) simulação da adição de enxofre elementar somente no topo da pilha de lixiviação. A extração de cobre foi mais eficiente quando da adição de 6,67 kg $S°.t^{-1}$ de minério, comparada com a adição de solução de ácido sulfúrico para manter o pH em 2,0. A taxa de extração e a extensão do tempo de lixiviação foi diretamente relacionada à quantidade de enxofre adicionado no leito mineral. O máximo de 87,96% de extração de cobre foi alcançado após 62 dias de lixiviação com a adição de uma massa de S° equivalente a 13,3 kg por tonelada de minério. A extração de cobre foi mais eficiente quando o enxofre foi distribuído de modo uniforme no leito mineral e não houve evidência de aumento de eficiência da lixiviação ao utilizar minério britado em HPGR em comparação com o mesmo minério processado em britador de mandíbulas.

Palavras-chave: Lixiviação. Biolixiviação. Cobre. Ácido sulfúrico. Minério intemperizado. *Acidithiobacillus thiooxidans. Acidithiobacillus ferrooxidans.*

ABSTRACT

OLIVEIRA, Débora Monteiro**. Use of biogenic sulphuric acid in the leaching of weathered copper ore**. 2017. 125 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

This study aimed at evaluating the potential of using biogenic sulphuric acid in the leaching of a weathered copper ore bearing 0.64% of copper as brochantite ((Cu_4SO_4 $(OH)_6$), malachite ($Cu_2CO_3(OH)_2$), azurite ($Cu_3(CO_3)_2(OH)_2$) and bornite (Cu_5FeS_4). Preliminarily, tests were carried out in shaken flasks to evaluate the susceptibility of the bio-oxidative process of sulphur for generating enough amount of acid to promote the solubilisation of the copper-bearing mineralogical species. The satisfactory results and equivalent to those obtained during a simulation of conventional acid leaching led to column tests with different operating conditions, such as: (i) leaching from the acid produced by *A. thiooxidans* either in a pure culture and in association with *A. ferrooxidans*; (ii) accomplishing tests at controlled temperature of 30°C; (iii) the leaching of ore processed by high pressure grinding rolls (HPGR); (iv) the addition of distinctly distributed sulphur loadings in the mineral bed and, finally, (v) simulation of adding elemental sulphur only at the up part of the leaching heap. The copper extraction was more efficient when adding 6.67 kg $S°.t^{-1}$ of ore, compared to the addition of sulphuric acid solution to maintain the pH at 2.0. The extraction rate and the extent of the leaching time were directly related to the amount of sulphur added to the mineral bed. The maximum of 87.96% of copper extraction was reached after 62 days of leaching with the addition of a mass of S° equivalent to 13.3 kg per ton of ore. Copper extraction was more efficient when sulphur was evenly distributed in the mineral bed and there was no evidence of increased leaching efficiency when using ore crushed in HPGR compared to the same ore processed in a jaw crusher.

Key words: Leaching. Bioleaching. Copper. Sulphuric acid. Oxide ore. *Acidithiobacillus thiooxidans. Acidithiobacillus ferrooxidans.*

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: ESQUEMA TÍPICO DE UM JAZIMENTO DE COBRE COM SUPERFÍCIE SUBMETIDA A INTEMPÉRIES E A FENÔMENOS DE OXIDAÇÃO. FONTE: ADAPTADO DE DOMIC (2001). 23

FIGURA 2: TÍPICA OPERAÇÃO DE LIXIVIAÇÃO DE UMA PILHA DE MINÉRIO INTEMPERIZADO DE COBRE. FONTE: VILCA (2013). 26

FIGURA 3: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA OPERAÇÃO DE UM TAMBOR ROTATÓRIO AGLOMERADOR, MOSTRANDO A DISPOSIÇÃO DAS TUBULAÇÕES DE ÁGUA E ÁCIDO, DIRECIONADAS PARA UMIDECER O MINÉRIO NA MEDIDA EM QUE ESTE É ROTACIONADO NO INTERIOR DO AGLOMERADOR. FONTE: DOMIC (2001). 29

FIGURA 4: VISÃO GERAL DE UM AGLOMERADOR. FONTE: JOHNSON CAMP MINE. 29

FIGURA 5: DIFERENTES ESTADOS DE EQUILÍBRIO DE AGLOMERADOS MINERAIS E REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS AGLOMERADOS ANTES DA LIXIVIAÇÃO (A) E DURANTE A LIXIVIAÇÃO (B). FONTE: DOMIC (2001). 31

FIGURA 6: ESQUEMA REPRESENTATIVO DO PROCESSO FRASCH. FONTE: BARRON (2014). 36

FIGURA 7: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO CLAUS. FONTE: PRÓPRIA 38

FIGURA 8: ESQUEMA REPRESENTATIVO DO SISTEMA DE CAPTAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS DURANTE A OXIDAÇÃO DO ÍON FERROSO, BEM COMO TRANSPORTE DE PRÓTONS (H^+) PARA O INTERIOR DA CÉLULA DE *A. FERROOXIDANS*. R: RUSTICIANINA. C: CITOCROMO C; A: CITOCROMO A (OLIVEIRA, 2009). 50

FIGURA 9: DIAGRAMA DE EQUILÍBRIO TERMODINÂMICO (EH-PH) DO SISTEMA FERRO-ÁGUA À 25º C OBTIDO PELO SOFTWARE HSC (OUTOTEC). 53

FIGURA 10: HPGR UTILIZADO NO PROCESSAMENTO DO MINÉRIO. 56

FIGURA 11: DETALHAMENTO DOS ROLOS DO HPGR. 56

FIGURA 12: BRITADOR DE MANDÍBULA USADO NO PROCESSAMENTO DO MINÉRIO; A DIREITA OBSERVA-SE O DETALHAMENTO DA MANDÍBULA DO BRITADOR. 57

FIGURA 13: DETALHES DO MOINHO DE BARRAS UTILIZADO NA MOAGEM DO MINÉRIO INTEMPERIZADO DE COBRE. 58

FIGURA 14: INCUBADORA TIPO *SHAKER* NEW BRUNSWICK R44. 60

FIGURA 15: ORGANOGRAMA INDICANDO AS PRINCIPAIS ETAPAS DO ESTUDO. 61

FIGURA 16: EQUIPAMENTO BRUKER-D4 ENDEAVOR. 63

FIGURA 17: ESQUEMA REPRESENTATIVO DE SUBCULTIVOS SUCESSIVOS. 65

FIGURA 18: EXPERIMENTO DE AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE ÁCIDO PELO MINÉRIO. 67

FIGURA 19: HIDROFILIZAÇÃO DO ENXOFRE ELEMENTAR. 71

FIGURA 20: PROCEDIMENTO DE INCORPORAÇÃO DE ENXOFRE AO MINÉRIO. 72

FIGURA 21: ESQUEMA REPRESENTATIVO DO SISTEMA DE LIXIVIAÇÃO EM COLUNA. TEM-SE: (A) ALIMENTAÇÃO DE SOLUÇÃO DE IRRIGAÇÃO; (B) CAMADA DE ROCHA INERTE (QUARTZO); (C) LEITO MINERAL; (D) SUPRIMENTO DE AR; (E) SAÍDA DE SOLUÇÃO E; (F) RESERVATÓRIO DE LIXÍVIA. 74

Figura 22: Ensaios de lixiviação em colunas sob temperatura ambiente, onde: A: coluna de lixiviação; B: Bomba peristáltica; e C: reservatório de lixívia. 75

Figura 23: Colunas de lixiviação dotadas de sistema aquecimento/resfriamento pra controle de temperatura, onde: (A) Coluna de polipropileno; (B) Bomba peristáltica para recirculação da solução contida no reservatório de lixívia (C) Reservatório de lixívia. 76

Figura 24: Extração de cobre nos ensaios após 7 dias de lixiviação em frascos agitados. 83

Figura 25: Variação do pH das soluções lixiviantes em função do tempo. Os valores de pH apresentados são referentes às medidas feitas antes da adição de H_2SO_4. 87

Figura 26: Variação da concentração de cobre nos ensaios de lixiviação de minério intemperizado de cobre. 88

Figura 27: Concentração íons H^+ em solução durante o processo de lixiviação de minério intemperizado de cobre... 89

Figura 28: Variação do potencial formal durante o processo de lixiviação de minério intemperizado de cobre. 90

Figura 29: Solubilização de cobre ao longo do processo de lixiviação com controle da temperatura em 30°C. 93

Figura 30: Variação da concentração de sulfato nos ensaios de lixiviação com controle da temperatura em 30°C. . 94

Figura 31: Variação de pH nos ensaios de lixiviação com controle da temperatura em 30°C. 95

Figura 32: Variação da concentração de cobre ao longo do processo de lixiviação com controle da temperatura em 30°C e com leito mineral constituído por minério britado por HPGR. 96

Figura 33: Variação da concentração de cobre vs. variação de pH ao longo do processo de lixiviação com controle da temperatura em 30°C e com leito mineral constituído por minério britado por HPGR. 97

Figura 34: Variação de pH nos ensaios de lixiviação com distintas cargas de S°. Tem-se: 10 g de S°, 20 g de S° e 40 g de S° equivalentes à 3,33; 6,67 e 13,3 kg de S° por cada tonelada de minério, respectivamente. 100

Figura 35: Lixiviação de minério intemperizado de cobre com utilização de enxofre elementar utilizado em mistura por todo o leito mineral. 101

Figura 36: Lixiviação de minério intemperizado de cobre com utilização de enxofre elementar no topo do leito mineral. 102

Figura 37: Variação das concentrações de sulfato nos ensaios de lixiviação com distintas cargas de S°. Tem-se: 10 g de S°, 20 g de S° e 40 g de S° equivalentes à 3,33; 6,67 e 13,3 kg de S° por cada tonelada de minério, respectivamente. 103

Figura 38: Variação da concentração de cobre solúvel nos reservatórios de lixívia dos ensaios de lixiviação com distintas cargas de S°. Tem-se: 10 g de S°, 20 g de S° e 40 g de S° equivalentes à 3,33; 6,67 e 13,3 kg de S° por cada tonelada de minério, respectivamente. 104

Figura 39: Variação do potencial redox ao longo do processo de lixiviação com distintas cargas de S°. Tem-se: 10 g de S°, 20 g de S° e 40 g de S° equivalentes à 3,33; 6,67 e 13,3 kg de S° por cada tonelada de minério, respectivamente. 105

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1: PRINCIPAIS ESPÉCIES MINERAIS DE COBRE DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA, AGRUPADAS SEGUNDO SUA LOCALIZAÇÃO NO JAZIMENTO.FONTE: DOMIC (2001). 24

QUADRO 2: REAÇÕES DE LIXIVIAÇÃO PARA OS PRINCIPAIS MINERAIS INTEMPERIZADOS DE COBRE. FONTE: WATLING (2006); BOGDANOVIĆ ET. AL., (2016). 27

QUADRO 3: COMPOSIÇÃO MINERALÓGICA DA AMOSTRA ESTUDADA. 82

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: VARIÁVEIS DE REFINAMENTO. 63

TABELA 2: FASES DO PROCESSO DE ACLIMATAÇÃO DE *A.THIOOXIDANS* E *A. FERROOXIDANS* AO MEIO DE CULTIVO CONTENDO MINÉRIO INTEMPERIZADO DE COBRE. 65

TABELA 3: DESCRIÇÃO DOS ENSAIOS DE LIXIVIAÇÃO EM FRASCOS AGITADOS. 68

TABELA 4: DESCRIÇÃO DOS ENSAIOS CONTROLES. 68

TABELA 5: LIXIVIAÇÃO DO MINÉRIO INTEMPERIZADO UTILIZANDO ÁCIDO SULFÚRICO DILUÍDO EM COMPARAÇÃO AO ÁCIDO PRODUZIDO BIOLOGICAMENTE NO LEITO MINERAL SOB TEMPERATURA DE 23°C E REATOR CONTENDO 3 L DE SOLUÇÃO. 77

TABELA 6: LIXIVIAÇÃO DO MINÉRIO INTEMPERIZADO SOB TEMPERATURA DE 30°C COM PRODUÇÃO BIOLÓGICA, IN SITU, DE H_2SO_4 SOB TEMPERATURA DE 30°C E REATOR CONTENDO 23 L DE SOLUÇÃO. 77

TABELA 7: LIXIVIAÇÃO DO MINÉRIO INTEMPERIZADO: AVALIAÇÃO DO PROCESSO EXTRATIVO A PARTIR DE AMOSTRA BRITADA EM HPGR. TEMPERATURA DE 30°C E REATOR CONTENDO 23 L DE SOLUÇÃO. 77

TABELA 8: LIXIVIAÇÃO DO MINÉRIO INTEMPERIZADO DE COBRE COM DIFERENTES CARGAS DE ENXOFRE ELEMENTAR. TEMPERATURA DE 23°C E REATOR CONTENDO 3 L DE SOLUÇÃO. 77

TABELA 9: TEOR DOS PRINCIPAIS ELEMENTOS QUÍMICOS PRESENTES NO MINÉRIO INTEMPERIZADO DE COBRE. 81

TABELA 10: EXTRAÇÃO DE COBRE NAS COLUNAS SOB TEMPERATURA AMBIENTE (23°C). 91

TABELA 11: EXTRAÇÃO DE COBRE APÓS 62 DIAS DE LIXIVIAÇÃO A PARTIR DE MINÉRIO INOCULADO CONTENDO DISTINTAS QUANTIDADES DE S° SOB TEMPERATURA DE 23°C. 106

LISTA DE SIGLAS

ADP	Adenosina Difosfato
ATP	Adenosina Trifosfato
ICDD	*International Center for Diffraction Data*
CETEM	Centro de Tecnologia Mineral
DEA	Di-Etanol-Amina
DNPM	Departamento Nacional de Produção Mineral
DRX	Difração de Raios-X
EPA	*United States* Environmental Protection Agency
EPH	Eletrodo Padrão de Hidrogênio
ER	Eletrorrecuperação
ES	Extração por Solventes
HDS	Hidrodessulfurização
HDT	Hidrotratamento
HPGR	*High Pressure Griding Rolls*
IBRAM	Instituto Brasileiro de Mineração
ICSG	*International Copper Study Group*
MCTIC	Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
NAD	Dinucletídeo de Nicotinamida e Adenina
NADP	Nicotinamida Adenina Dinucleóitídeo Fosfato
PLS	*Pregnant Leaching Solution*
ROM	*Run-of-Mine*
URE	Unidade de Recuperação de Enxofre
USGS	*United States Geological Survey*
WI	*Bond Working Index*

SUMÁRIO

CAPÍTULO I **16**

1 APRESENTAÇÃO DO TRABALHO **16**

1.1 INTRODUÇÃO 16
1.2 OBJETIVOS 21
1.2.1 Objetivo Geral 21
1.2.2 Objetivos Específicos 21

CAPÍTULO II **22**

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **22**

2.1 Minerais e Minérios 22
2.2 Minerais de cobre/Extração 22
2.2.1 Extração de cobre a partir de minério intemperizado 25
2.2.1.1 Tamanho de partícula 28
2.2.1.2 Aglomeração e cura ácida 28
2.2.1.3 Altura do leito mineral 32
2.2.1.4 Temperatura 32
2.2.1.5 pH 33
2.3 Produção de enxofre elementar e ácido sulfúrico 35
2.3.1 Produção de enxofre a partir do processo Frasch 35
2.3.2 Produção de enxofre a partir do refino de petróleo (Processo Claus) 36
2.3.3 Produção de ácido sulfúrico 38
2.3.4 Produção mundial de H_2SO_4 40
2.4 Micro-organismos oxidantes de compostos reduzidos de enxofre 41
2.4.1 *Acidithiobacillus ferrooxidans* 42
2.4.2 *Acidithiobacillus thiooxidans* 44
2.4.3 Fatores que influenciam no crescimento de *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* 46
2.4.3.1 Disponibilidade de dióxido de carbono (CO_2) 46
2.4.3.2 Disponibilidade de oxigênio (O_2) 47
2.4.3.3 Temperatura 48
2.4.3.4 Nutrientes 49
2.4.3.5 Influência do pH 49
2.4.3.6 Potencial de oxi-redução e concentração de espécies iônicas de ferro 51

CAPÍTULO III **55**

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL **55**

3.1 Amostra Mineral 55
3.1.1 Processamento Mineral 55
3.2 Micro-organismos: origem e manutenção 58
3.3. ENSAIOS REALIZADOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA 61
3.3.1 Caracterização Tecnológica Simplificada do Minério Intemperizado de Cobre 61
3.3.1.1 Espectrometria de absorção atômica 62
3.3.1.2 Difração de Raios-X 62
3.3.2 Adaptação das linhagens 64
3.3.3 Avaliação do consumo de ácido pelo minério intemperizado de cobre 66
3.3.4. Experimento preliminar: produção in vitro de ácido sulfúrico na lixiviação de

minério intemperizado 68
3.3.5. Avaliação da extração de cobre, em colunas, com produção *in situ* de ácido sulfúrico 70
3.3.5.1 Condicionamento de enxofre 70
3.3.5.2 Aglomeração 71
3.3.5.3 Lixiviação em colunas 72
3.3.6 Determinações Analíticas e Monitoramento de Parâmetros Operacionais 78
3.3.6.1 pH e Potencial de oxi-redução 78
3.3.6.2 Análise das concentrações de sulfato em solução 79
3.3.6.3 Cobre 80
3.3.6.4 Concentração Celular 80
CAPÍTULO IV 81
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 81
4.1 caracterização tecnológica simplificada do minério intemperizado de cobre 81
4.2 Experimento preliminar: produção *in vitro* de ácido sulfúrico na lixiviação de minério intemperizado de cobre 83
4.3 Avaliação da extração de cobre, em colunas, com produção in situ de ácido sulfúrico 86
4.3.1 Lixiviação do minério intemperizado utilizando ácido sulfúrico diluído em comparação ao ácido produzido, por rota biológica, no leito mineral 86
4.3.2 Lixiviação do minério intemperizado sob temperatura de 30°C com produção biológica, *in situ*, de H_2SO_4 92
4.3.3 Lixiviação do minério intemperizado: avaliação do processo extrativo a partir de amostra britada em HPGR 96
4.3.4 Lixiviação do minério intemperizado de cobre com diferentes cargas de enxofre elementar 99
CAPÍTULO V 108
5 CONCLUSÕES 108
6 SUGESTÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS 110
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 111

CAPÍTULO I

1 APRESENTAÇÃO DO TRABALHO

1.1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, o homem vem se valendo do uso de minerais nas mais variadas atividades. Contudo, nas últimas décadas, a busca incessante por melhorias na qualidade de vida tem concorrido para o crescente desenvolvimento tecnológico dos setores industriais associados à mineração e à metalurgia para a produção de artefatos metálicos, impondo uma progressiva demanda pelos mais diversos tipos de metais.

Dentre os metais, o cobre merece destaque pelo volume negociado e por suas propriedades, em especial, por ser ótimo condutor de calor e eletricidade, ser resistente à corrosão e a altas temperaturas, e por ser facilmente moldável (WONG-ÁNGEL et al., 2014). A importância deste metal pode ser demonstrada pela sua negociação na bolsa de valores (LME, 2016). No Brasil, é crescente a demanda por cobre e seus derivados, impulsionada principalmente pelo aquecimento no setor da construção civil e pelo aumento nas vendas de carros novos (CORNIANI et al. 2009; RIBEIRO, 2013). No cenário mundial de produção de cobre, o Brasil respondeu, em 2014, por 1,6% da comercialização de minério bruto (DNPM, 2015).

De acordo com o *International Copper Study Group* (2017), as reservas mundiais de minério de cobre registraram, no ano de 2016, um total de 720 milhões de toneladas (Mt) que incluem, as 2.100 Mt identificadas e não exploradas e, ainda, 3.500 Mt de reservas não descobertas. As reservas lavráveis brasileiras, no ano de 2013, somaram 11,14 milhões de toneladas de cobre contido, apresentando queda de 3,3 % frente às do ano anterior. A produção mundial de concentrado de cobre (em metal contido) alcançou no ano de 2014 uma quantidade de 18,71 milhões de toneladas, registrando um acréscimo de 2,5 % em relação a 2013. Quanto ao metal, em 2016 a produção mundial de cobre refinado atingiu 19,1 milhões de toneladas. O Chile é o maior produtor mundial desse metal tendo produzido 5,8 milhões de

toneladas em 2015 (ICSG, 2016). Os números relacionados à produção tendem a crescer à medida que a grande maioria das reservas desse metal ainda não foi explorada.

De acordo com Brasil (2016), em 2015, a produção bruta de cobre (ROM – *Run of Mine*) no Brasil foi de 80.176.940 toneladas e os principais estados produtores foram: Pará (53.368.928 t com teor médio de 0,69% de Cu), Goiás (19.959.943 com teor médio 0,42% de Cu) e Bahia (2.848.078 t com teor médio de 1,1% de Cu). As empresas responsáveis pela maior parte da produção bruta nesse período são: Salobo Metais S.A., localizada no Pará, que responde por 47,43% da oferta; Vale S.A., no Estado do Pará (26,32%), Mineração Maracá Indústria e Comércio S.A., situada em Goiás (19,04%) e Mineração Caraíba S.A., localizada na Bahia, responsável por 7,10% da produção (Brasil, 2016). As reservas lavráveis de minério de cobre do país, predominantemente formadas por sulfetos minerais, estimadas em torno de 11,42 milhões de toneladas de cobre contido, em 2012 (RIBEIRO, 2013), distribuem-se por nove estados: Alagoas, Bahia, Ceará, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Pará, Rio Grande do Sul e São Paulo (FARIAS, 2009; RIBEIRO, 2013). Entretanto, é no Pará que se concentram mais de 85% dessas reservas, os maiores e os mais importantes depósitos econômicos de cobre do país.

As aplicações do cobre são muito diversificadas, sendo o principal uso baseado em sua condutividade elétrica (ICSG, 2014; 2016). Tem-se que aproximadamente 55% da produção total anual de cobre é empregada na fabricação de aparelhos e fios elétricos (*i.e.*, transmissão de energia, geradores, fios e cabos telegráficos, telefones, iluminação etc.) devido as suas ótimas propriedades na condução de calor e eletricidade (TUAN; LEE, 2014; USGS, 2014; ICSG, 2016). Por causa da sua elevada condutividade térmica, são utilizados tubos de cobre na canalização e em dispositivos de permuta de calor, tais como refrigeradores, ar-condicionado e bobinas. O cobre também tem papel de destaque na cunhagem de moedas, e peças decorativas, por conta da maleabilidade e resistência à corrosão (NASCIMENTO et al., 2012). Outro importante uso do cobre é em ligas, como latão, bronze, e prata alemã (MORR et al., 2013). Alguns fazem uso deste elemento em pó como pigmento em tintas (FRENCH; EVANS, 1986). Como sal, o cloreto cuproso

(CuCl) é extensivamente usado como catalisador (RABAH, 2000). O cloreto cúprico ($CuCl_2$) é empregado como mordente na tinturaria têxtil e como agente oxidante em corantes (ŠVARCOVÁ et al., 2014). O óxido cuproso (Cu_2O) é utilizado na pintura de cascos de navios, de madeira ou de aço, para protegê-los da ação corrosiva da água do mar (RIBEIRO, 2013). O nitrato cúprico ($Cu(NO_3)_2$) é usado para sensibilizar superfícies à luz, enquanto utiliza-se o fluoreto (CuF_2) como opacificador em esmaltes, vidros e cerâmicas (SILVESTRI et al., 2014). O sulfato de cobre ($CuSO_4$) é usado como fungicida, inseticida, aditivo de solos e em banhos ácidos na galvanoplastia (WANG et al., 2013). Também o cianeto cuproso (CuCN) é utilizado em galvanoplastia como composto de partida na elaboração de banhos cianídricos, onde se obtém um sal solúvel ($KCu_2(CN)_3$), a exemplo do processo praticado, atualmente, pela Casa da Moeda do Brasil, na produção das moedas de R$0,01 e R$0,05 (NASCIMENTO et al*.,* 2012). Finalmente, o oxicloreto de cobre ($3Cu(OH)_2.CuCl_2$) se configura como o fungicida mais utilizado na agricultura (FERREIRA et al., 2014).

Na natureza o cobre raramente é encontrado no seu estado nativo, estando normalmente associado a outros minerais, em variadas formas estruturais e proporções, dependendo da sua localização no jazimento. Na superfície, em face dos processos de intemperismo, físico e químico, que ocasionam a decomposição e a desagregação das rochas, por isso denominada zona intemperizada, o cobre se apresenta na forma de carbonatos, óxidos, sulfatos e silicatos. Entretanto, nas regiões mais profundas (zona não intemperizada), o cobre se apresenta como constituinte de sulfetos minerais. Neste caso, são conhecidas mais de 150 espécies minerais, sendo poucas as que apresentam importância de comercialização: calcopirita ($CuFeS_2$), calcocita (Cu_2S), bornita (Cu_5FeS_4), covelita (CuS) e enargita (Cu_3AsS_4).

A extração de cobre a partir de sulfetos requer a dissolução do mineral, o que envolve um processo oxidativo. Por outro lado, nos minerais intemperizados, o cobre é extraído a partir do contato do mineral com uma solução de ácido sulfúrico, processo denominado lixiviação (DOMIC, 2001; BINGÖL; CANBAZOĞLU, 2004; CIMINELLI, 2007; HAGHIGHI et al., 2013). Para tanto, o minério intemperizado é

disposto em pilhas, com formato de tronco de pirâmide, sobre uma área previamente impermeabilizada, e sofre contínua irrigação com uma solução ácida (sulfúrica) que, ao percolar o leito mineral, promove a solubilização do cobre, na forma de sulfato ($CuSO_4$) (HABASHI, 1997; TRUJILLO et al., 2014).

O ácido sulfúrico utilizado no processo supramencionado, geralmente advém da indústria química e necessita ser transportado até a planta onde será armazenado e manuseado até que seja utilizado no processo extrativo. Nessas práticas existe o risco de acidentes graves, posto que, quase sempre, as mineradoras localizam-se longe de centros industriais e, na maioria dos casos, o transporte dos materiais é feito pelo sistema rodoviário. Particularmente, o transporte de ácido sulfúrico envolve operações de alto risco para a saúde dos trabalhadores e para o meio ambiente, em face da periculosidade do manuseio desse reagente e das condições, muitas das vezes, precárias das estradas no percurso das indústrias produtoras de ácido sulfúrico até a mineradora (SOBRAL; SOUZA; OLIVEIRA, 2012).

Além da problemática envolvida no transporte e armazenamento de ácido sulfúrico, os processos metalúrgicos, como qualquer outro processo industrial, estão constantemente focados em reduzir os custos do processo, principalmente devido as constantes variações nos preços das *commodities*. Dentre as estratégias que vêm sendo sugeridas para redução dos custos de processo está a utilização do processo biotecnológico de produção de ácido sulfúrico. Também, a produção de ácido sulfúrico *in situ* seria uma alternativa para viabilizar a exploração comercial de alguns jazimentos, cuja exploração não é, ainda, possível em termos econômicos.

Micro-organismos capazes de promover a bio-oxidação de compostos reduzidos de enxofre e que são comumente isolados de ambientes mineiros podem ser utilizados na rota biotecnológica de produção de ácido sulfúrico. A bactéria *Acidithiobacillus thiooxidans* tem grande potencial para essa aplicação, pois é capaz de oxidar enxofre elementar a ácido sulfúrico em condições normais de temperatura e pressão (LIU et al., 2004; MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004; OLIVEIRA et al., 2010). A reação de oxidação catalisada por *A. thiooxidans* gera 530 kJ de calor por mol de enxofre oxidado à sulfato (WEST-SELLS et al., 2007). Logo,

considerando a massa atômica dos elementos envolvidos na reação, tem-se que a bio-oxidação de 1 tonelada de enxofre produz cerca de 3 toneladas de ácido sulfúrico.

Neste contexto, há que se definir a quantidade de enxofre elementar, necessária a ser adicionada ao leito mineral, de modo a garantir um volume de ácido sulfúrico produzido, por meio do bioprocesso, suficiente para promover a dissolução do cobre.

A ideia de desenvolver esse trabalho surgiu a partir de consulta de uma mineradora brasileira que, durante uma busca por alternativas para manutenção de sua pilha de lixiviação de minério intemperizado de cobre, acenou para a necessidade de desenvolvimento de uma rota alternativa ao processo convencional. Algumas patentes versam sobre uma forma alternativa de produzir ácido sulfúrico (STAHL, 1954; WINBY, 2001; BHP, 2002; PHILLIPS, 2003; YOUNG et al., 2003, 2004; BRUYNESTEYEN, 2004; UHRIE, 2004; UHRIE; GURTLER; HOENECKE, 2004; KELSO; EARTH, 2008); contudo, nenhuma delas aborda a produção biológica desse ácido, a partir de enxofre elementar, diretamente na superfície de minério intemperizado de cobre processado por técnica que visa aumentar a área superficial e, tão pouco, abordam a distribuição de enxofre somente na camada superior do leito mineral.

Neste contexto, a produção *in situ* de ácido sulfúrico, com distintas formas de realizar a incorporação do enxofre às partículas minerais, é uma estratégia inédita de interesse econômico, e que ainda concorre para minimizar os custos com transporte e armazenamento de ácido sulfúrico, bem como os riscos para operadores e ao meio ambiente. Além da rota biotecnológica de produção de ácido sulfúrico, será estudada, ainda, a possibilidade da utilização de moinhos de rolos de alta pressão (HPGR – *High Pressure Griding Rolls*) como forma de acelerar o processo de dissolução dos minerais, visto que, as partículas processadas por tais moinhos apresentam maior área superficial devido à formação de microfissuras (GOMES et al., 2014). Essa técnica de processamento mineral vem sendo utilizada no preparo de minério primário de cobre nos estudos de biolixiviação de sulfetos minerais (GHORBANI et al., 2012; 2013). Contudo, após ampla pesquisa

bibliográfica, constatou-se que não existem estudos de lixiviação de minério intemperizado, com geração *in situ* de ácido que utilizem partículas processadas por HPGR.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Desenvolver uma rota biotecnológica para extração de cobre, a partir de minério intemperizado, com geração biológica, *in situ,* de ácido sulfúrico, a partir de enxofre elementar.

1.2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Realizar a caracterização química e mineralógica simplificada do minério intemperizado de cobre, foco do estudo;
- ✓ Submeter cepas das bactérias *Acidithiobacillus thiooxidans* e *Acidithiobacillus ferrooxidans* à adaptação (aclimatação) a crescentes concentrações de minério intemperizado de cobre;
- ✓ Avaliar a possibilidade da lixiviação do minério intemperizado de cobre utilizando o ácido sulfúrico produzido a partir da bio-oxidação de enxofre elementar em ensaios realizados em escala de bancada (frascos agitados);
- ✓ Definir a forma de incorporação do enxofre elementar ao minério intemperizado de cobre para utilização em experimentos de lixiviação em colunas;
- ✓ Avaliar, em colunas na escala semipiloto, os parâmetros operacionais que permitam potencializar a dissolução do cobre, usando o processo de lixiviação em pilha com produção biológica de ácido sulfúrico.

CAPÍTULO II

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MINERAIS E MINÉRIOS

Conforme citado no livro Tratamento de Minérios publicado no CETEM/MCTIC por Luz, Sampaio e França em 2010:

> "Mineral, ou substância mineral, é todo corpo inorgânico de composição química e de propriedades físicas definidas, encontrado na crosta terrestre. Minério é o termo usado para definir toda rocha constituída de um mineral ou agregado de minerais contendo um ou mais elementos valiosos, que podem ser aproveitados economicamente. O mineral ou conjunto de minerais não aproveitados de um minério é denominado ganga".

2.2 MINERAIS DE COBRE/EXTRAÇÃO

O cobre está distribuído por toda a crosta terrestre, sendo comum encontrá-lo combinado com ferro, carbono e oxigênio. No Brasil existem distintos jazimentos de cobre distribuídos em grande parte do território, majoritariamente nos Estados do Pará e Goiás que representam 85% das reservas (LUZ, 2004; RIBEIRO, 2013; USGS, 2014; DNPM, 2015).

De acordo com os processos de formação e transformação que sofrem os jazimentos, os minerais são classificados como primários, secundários ou intemperizados (dito oxidados). Na Figura 1 estão ilustradas as transformações passíveis de ocorrer nos diversos níveis de um jazimento de cobre.

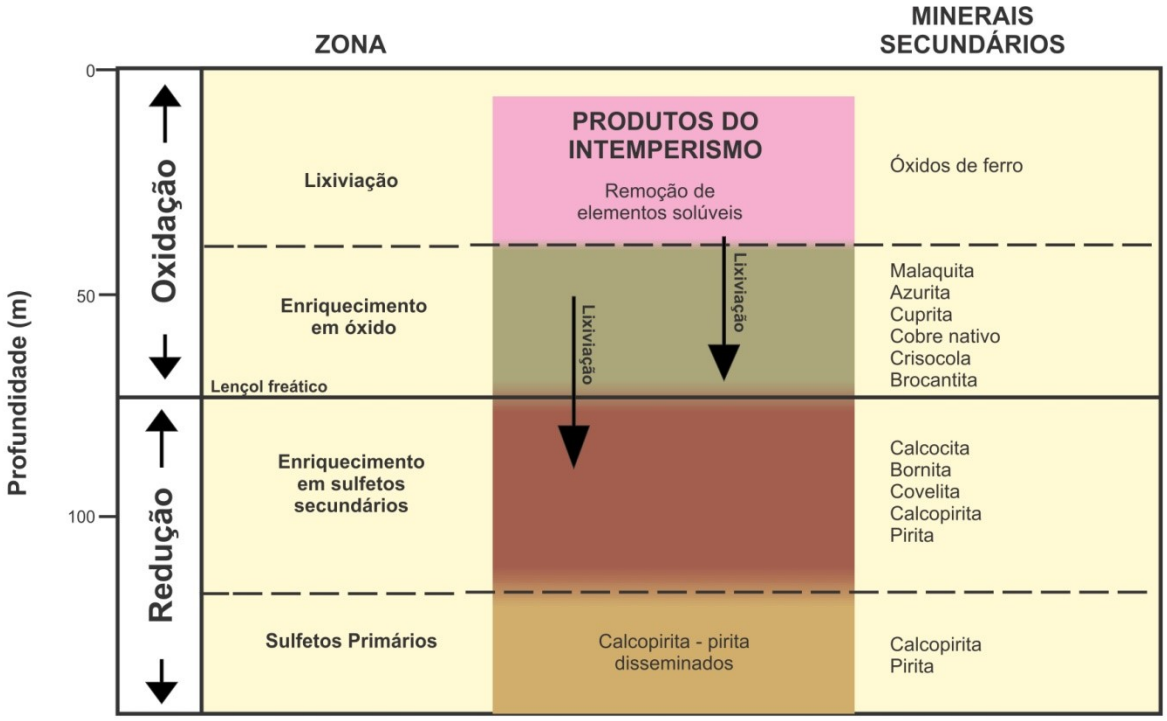

Figura 1: Esquema típico de um jazimento de cobre com superfície submetida a intempéries e a fenômenos de oxidação. Fonte: Adaptado de Domic (2001).

Os minérios primários de cobre estão depositados em grandes profundidades. Esses minérios têm origem ígnea[1] e são constituídos de sulfetos minerais com distintas características, uns mais refratários, a exemplo da calcopirita ($CuFeS_2$), e outros menos refratários, tais como a covelita (CuS) e a calcosina (Cu_2S). Em alguns jazimentos, esses minerais de cobre vêm acompanhados de outros sulfetos minerais, a exemplo da pirita (FeS_2) e da molibdenita (MoS_2) (LUZ, 2004).

Os minerais secundários de cobre, como, por exemplo, a calcosina (Cu_2S) e a bornita (Cu_5FeS_4), resultam de alterações oxidativas que naturalmente ocorrem em minerais primários.

Por fim, têm-se os minerais intemperizados de cobre resultantes de alterações físicas e químicas das rochas, que envolvem fragmentação e decomposição dos minerais primários em virtude de várias reações químicas:

[1] Rocha de origem vulcânica

oxidação, hidratação, dissolução, hidrólise e acidólise. Dentre os minerais intemperizados de cobre destacam-se a cuprita (Cu_2O), a malaquita ($CuCO_3.Cu(OH)_2$), a azurita ($2CuCO_3.Cu(OH)_2$), a crisocola ($CuSiO_3.2H_2O$) e a brocantita ($Cu_4SO_4(OH_6)$) (DOMIC, 2001).

Segundo Domic (2001), alguns minerais oxidados são bastante solúveis, portanto, não requerendo um agente oxidante para sua lixiviação. Para tais minerais, a extração de cobre é realizada, tão somente, com emprego de uma solução ácida que, por simples contato com a estrutura mineral, promove a liberação do metal em solução (BINGOL; CANBAZOGLU, 2004; KOKES; MORCALI; ACMA, 2014).

O Quadro 1 apresenta alguns exemplos de minerais primários, secundários e intemperizados, bem como suas composições químicas.

Zona mineralizada	Espécie mineralógica	Composição mais frequente
Zona oxidada secundária	Cobre nativo	Cu^o
	Malaquita	$CuCO_3.Cu(OH)_2$ ou $Cu_2CO_3(OH)_2$
	Azurita	$2CuCO_3.Cu(OH)_2$ ou $Cu_3(CO_3)_2(OH)_2$
	Chalcantita	$CuSO_4.5H_2O$
	Brochantita	$CuSO_4.\ 3Cu(OH)_2$ ou $Cu_4SO_4.(OH)_6$
	Antlerita	$CuSO_4.\ 2Cu(OH)_2$ ou $Cu_3SO_4.(OH)_4$
	Atacamita	$3CuO.CuCl_2.3H_2O$ ou $Cu_2Cl(OH)_3$
	Crisocola	$CuO.SiO_2.H_2O$ ou $CuSiO_3.H_2O$
	Dioptasa	$CuSiO_2(OH)_2$
	Neotocita	$(Cu_i\text{-}Fe_j\text{-}Mn_k)SiO_3$
	Cuprita	Cu_2O
	Tenorita	CuO
	Pitch/Limonita	$(Fe_i\text{-}Cu_j)O_2$
	Delafosita	$FeCuO_2$
	Copper Wad	$CuMnO_2Fe$
	Copper Pitch	$CuMn_8FeSiO_2$
Zona de enriquecimento secundário (ou supérgeno)	Calcosina	Cu_2S
	Digenita	Cu_9S_5
	Djurleita	$Cu_{1,95\text{-}x}S$
	Covelina	CuS
	Cobre Nativo	Cu^0
	Bornita	Cu_5FeS_4
Zona primária (ou hipógena)	Calcopirita	$CuFeS_2$
	Enargita	Cu_3AsS_4
	Tenantita	$Cu_{12}As_4S_{13}$
	Tetrahedrita	$Cu_{12}Sb_4S_{13}$

Quadro 1: Principais espécies minerais de cobre de importância econômica, agrupadas segundo sua localização no jazimento.Fonte: Domic (2001).

A maior parte (cerca de 80%) da produção mundial de cobre metálico (Cu°) envolve processos de concentração dos minerais contidos nos minérios primários seguida de processo pirometalúrgico (*Flash Smelting*) e do refino eletrolítico para produção de cobre metálico de elevada pureza (999/1000). A recuperação do cobre a partir de minerais secundários e intemperizados é feita por meio de processo hidrometalúrgico (ICSG, 2014; 2017), que envolve a dissolução das espécies mineralógicas carreadoras de cobre em sua estrutura, principalmente a partir de lixiviação em pilhas (DOMIC, 2001; DAVENPORT et al., 2002).

2.2.1 Extração de cobre a partir de minério intemperizado

A lixiviação consiste na dissolução seletiva de minerais contendo o metal ou metais de interesse através do contato do sólido (minério ou concentrado) com uma fase aquosa contendo ácidos (freqüentemente o ácido sulfúrico), bases (como hidróxidos de amônio e sódio) ou agentes complexantes (como o cianeto de sódio e o hidróxido de amônio). Esse processo hidrometalúrgico se vale de condições variadas de pressão e temperatura (usualmente de 25 a 250°C).

Os processos de lixiviação podem ser classificados em dois grandes grupos: leito mineral estático e sistema agitado. O primeiro inclui a lixiviação *in situ*, em pilhas (de rejeito, estéril ou minério) ou em tanques estáticos (*vat leaching*). O segundo grupo compreende a lixiviação em tanques agitados (abertos ou sob pressão) (LIMA, 2004; WATLING, 2006; BRIERLEY, 2008).

Para extração de cobre a partir de minério intemperizado é utilizado leito estático (pilha de lixiviação), pois os custos de implantação e de operação são inferiores aos custos envolvidos nos processos de lixiviação em tanques agitados (CARRETERO, 2010). A Figura 2 apresenta um desenho esquemático de um processo de lixiviação de minério intemperizado de cobre por lixiviação em pilhas. Fundamentalmente, esta tecnologia consiste na deposição de grandes quantidades de minério sobre uma base impermeabilizada, com formação de uma pilha, com formato de um tronco de pirâmide, cuja superfície é irrigada com uma solução ácida

(sulfúrica).

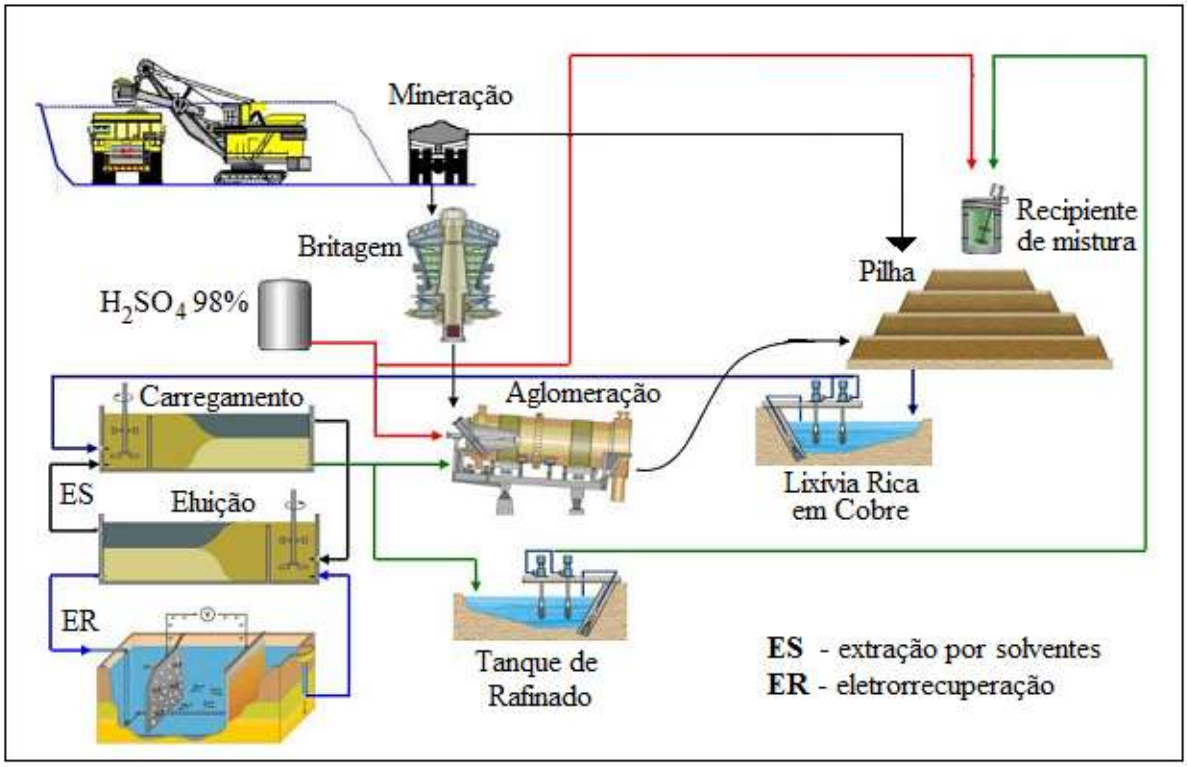

Figura 2: Típica operação de lixiviação de uma pilha de minério intemperizado de cobre. Fonte: Vilca (2013).

A etapa inicial de lixiviação de minério intemperizado de cobre em pilhas consiste de uma operação de britagem para redução do tamanho de partícula. Tanto as partículas grosseiras quanto os finos gerados durante a britagem são aglomerados para, em seguida serem utilizados na montagem da pilha, que possui um formato de tronco de pirâmide. Esse leito mineral recém construído sofre um período de cura ácida para, finalmente, dar-se início ao processo de lixiviação.

O início do processo de lixiviação ácida, propriamente dito, ocorre a partir da irrigação do topo da pilha com a solução de ácido sulfúrico diluída que percola o leito mineral até a base, quando recebe a denominação lixívia rica em cobre (em inglês, *Pregnant Leaching Solution* - PLS). O ácido sulfúrico promove a dissolução dos minerais intemperizados de cobre, conforme mostrado nas Equações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 (Quadro 2).

Mineral	Reação Química	Equação
Tenorita	$CuO + H_2SO_4 \rightarrow CuSO_4 + H_2O$	(1)
Cuprita	$Cu_2O + 0{,}5O_2 + 2H_2SO_4 \rightarrow 2CuSO_4 + 2H_2O$	(2)
Azurita	$Cu_3(CO_3)_2(OH)_2 + 3H_2SO_4 \rightarrow 3CuSO_4 + 2CO_{2+}4H_2O$	(3)
Malaquita	$Cu_2CO_3(OH)_2 + 2H_2SO_4 \rightarrow 2CuSO_4 + CO_2 + 3H_2O$	(4)
Crisocola	$CuSiO_3.2H_2O + H_2SO_4 + 2H_2O \rightarrow CuSO_4.5H_2O + SiO_2$	(5)
Atacamita	$2Cu_2(OH)_3Cl + 3H_2SO_4 \rightarrow 3CuSO_4 + 2CuCl_{2+}6H_2O$	(6)
Brocantita	$CuSO_4.3Cu(OH)_2 + 3H_2SO_4 \rightarrow 4CuSO_4 + 3H_2O$	(7)
Antlerita	$CuSO_4.2Cu(OH)_2 + 2H_2SO_4 \rightarrow 3CuSO_4 + 4H_2O$	(8)
Calcantita	$CuSO_4.5H_2O \rightarrow CuSO_4 + 5H_2O$	(9)

Quadro 2: Reações de lixiviação para os principais minerais intemperizados de cobre. Fonte: Watling (2006); Bogdanović et. al., (2016).

Em geral, a solução é recirculada pelo leito mineral, quantas vezes forem necessárias, a fim de permitir a máxima recuperação do metal de interesse. A lixívia rica em metais solubilizados é coletada num tanque, de onde segue para o processo de purificação e concentração do cobre, conhecido como extração por solventes (ES), etapa que antecede o processo de eletro-obtenção desses metais em suas formas metálicas puras (*i.e.*, eletrorrecuperação- ER) (PANDA et al*.,* 2012*;* SOTO et al., 2012; BISWAS; DAVENPORT, 2013).

Dentre os fatores de maior influência na eficácia da lixiviação de minérios tem-se o grau de liberação do metal, que está diretamente relacionado com a redução do tamanho de partícula. Reduzir o tamanho de partícula de uma determinada amostra mineral significa aumentar a área superficial específica, isto é, aumentar a disponibilidade do mineral ao ataque químico e/ou oxidativo. Logo, a extração de metais é mais eficiente quanto mais finamente dividida estiver a amostra mineral, pois um número maior de sítios de reação estará exposto para uma mesma massa total de partículas.

2.2.1.1 Tamanho de partícula

A retirada do minério do jazimento, *in loco,* requer que seja feita uma britagem primária, para se obter o minério (ROM) com tamanho máximo de partícula de cerca de 40 polegadas (DOMIC, 2001). Para utilização em pilhas de lixiviação, o minério ROM é submetido à nova cominuição (britagem secundária) de modo a reduzir o tamanho de partícula para 100% inferior a 2”. Em alguns casos, é realizada, ainda, uma britagem terciária, que reduz o tamanho de partícula para 100% inferior a ¼”.

O tamanho ótimo de partícula, para qualquer processo de lixiviação, é determinado pelos benefícios que podem ser obtidos com a aceleração do processo extrativo. Entretanto, para a análise devem também ser ponderados os aspectos econômicos, em especial, o Índice de Trabalho de Bond (WI - *Bond Working Index)*, que, de acordo com Almeida, Luz e Figueira (2010) se refere ao trabalho necessário, e a energia consumida (kWh/t), para reduzir o tamanho das partículas da amostra mineral, desde seu tamanho inicial, até uma granulometria 80% passante em peneira de 100 µm.

Durante a operação de britagem, ocorre a geração de partículas finamente divididas, com granulometria inferior a 3 mm, considerada imprópria para o preparo da pilha, devido aos problemas de permeabilidade. Esse problema é minimizado com a aglomeração desses finos ao minério de tamanho de partícula mais grosseiro, conforme explicado no item a seguir.

2.2.1.2 Aglomeração e cura ácida

As etapas de aglomeração e cura ácida podem ser consideradas um novo padrão nos projetos de lixiviação em pilha (DHAWAN et al., 2012, 2013). Consistem, basicamente, na aglomeração dos finos, gerados durante as operações de britagem, com a fração grosseira e utilização de ácido sulfúrico concentrado (DOMIC, 2001; LEWANDOWSKI; EISELE; KAWATRA, 2010; DHAWAN et al., 2012, 2013). Essa operação ocorre em um tambor rotatório (Figuras 3 e 4) que consiste de um cilindro

metálico revestido com material resistente ao ataque ácido (*i.e.*, neopreno).

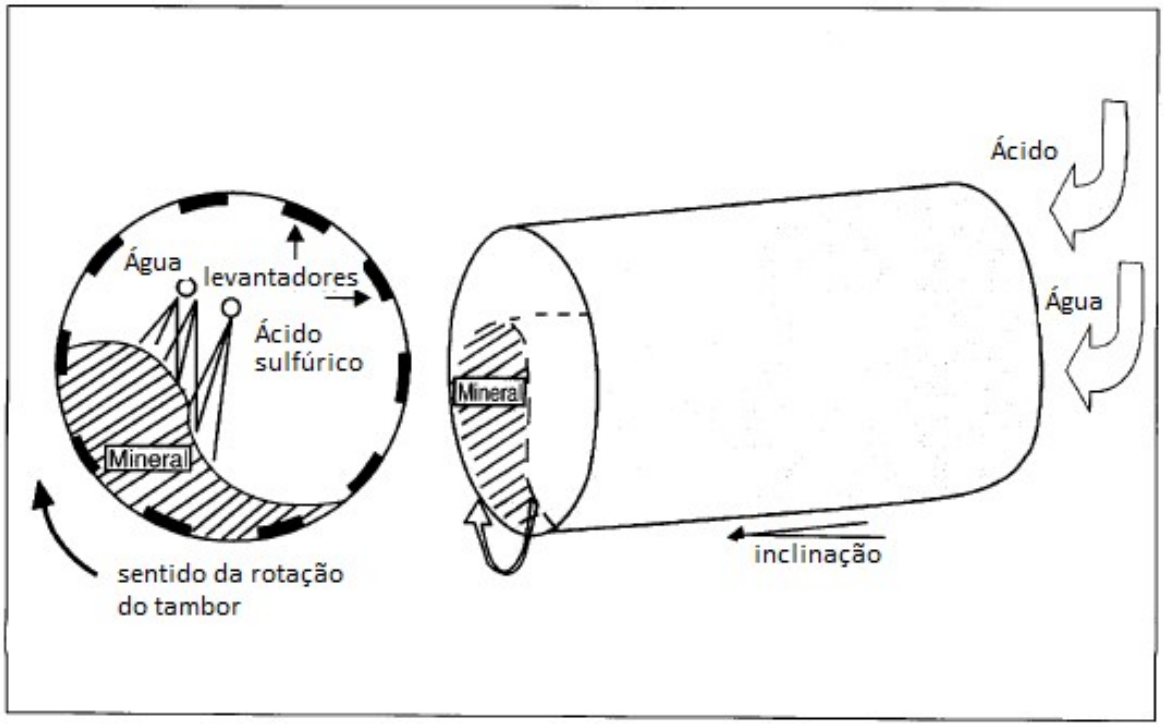

Figura 3: Representação esquemática da operação de um tambor rotatório aglomerador, mostrando a disposição das tubulações de água e ácido, direcionadas para umidecer o minério na medida em que este é rotacionado no interior do aglomerador. Fonte: Domic (2001).

Figura 4: Visão geral de um aglomerador. Fonte: Johnson Camp Mine.

Nessa etapa, normalmente varia-se a quantidade de água e de ácido em função da composição mineralógica do minério que será lixiviado. No caso dos minérios intemperizados de cobre, cerca de 70 a 90% do consumo de ácido de uma planta ocorre no preparo do minério, isto é, durante a etapa de aglomeração e cura ácida. No caso dos minerais secundários, as quantidades de ácido são menores, não superando 5 a 10 kg t^{-1}, que representa quase 100% do custo global do processo (WEST-SELLS et al*.,* 2007).

Kokes, Morcali e Acma (2014) mostraram minerais de cobre, tais como malaquita ($CuCO_3.Cu(OH)_2$), reagem prontamente com ácido sulfúrico concentrado, com formação de cristais de sulfato de cobre, conforme mostrado na Equação 4 (Quadro 2).

Na Figura 5 são ilustradas diferentes representações de partículas finas aglomeradas em torno de partículas mais grossas. Os aglomerados apresentados podem ser formados a partir da rotação das partículas úmidas em torno de si mesmas, o que permite que forças coesivas de tensão superficial (que correspondem aos estados de coesão, por pontes líquidas, denominadas pendular e funicular) mantenham as partículas unidas entre si, facilitando seu transporte e empilhamento (DOMIC, 2001; DHAWAN et. al., 2013).

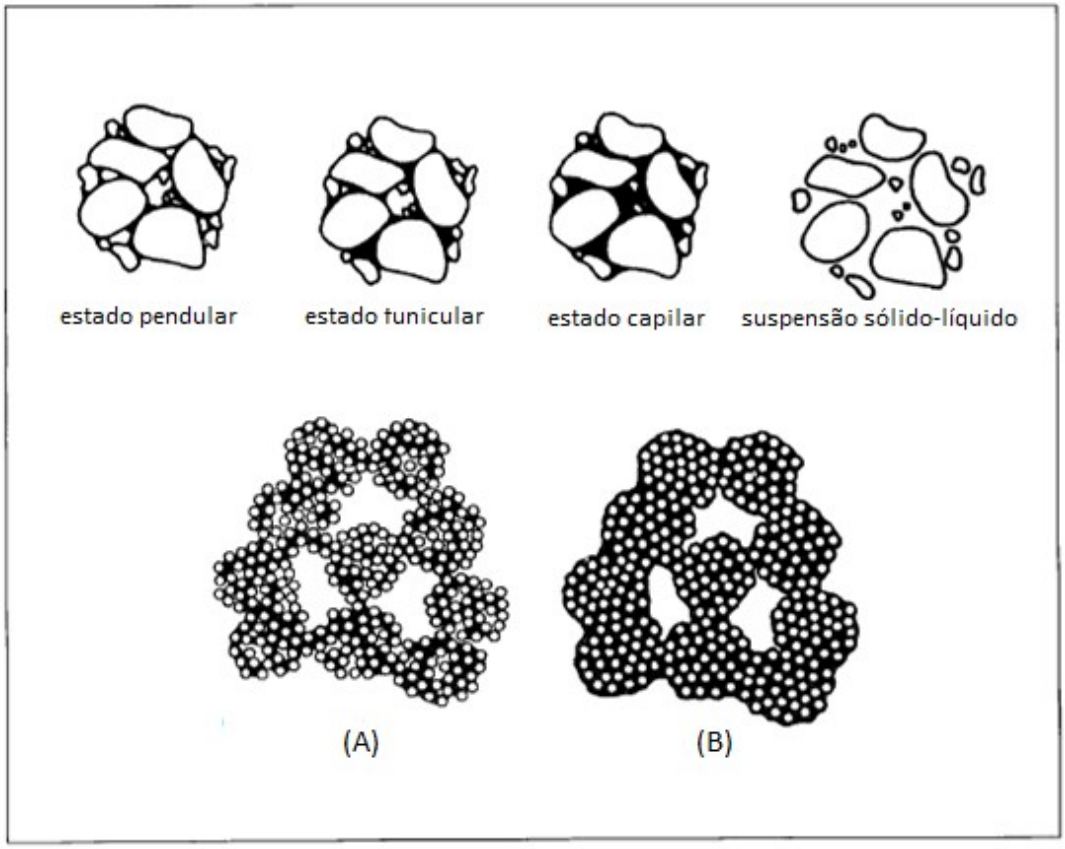

Figura 5: Diferentes estados de equilíbrio de aglomerados minerais e representação esquemática dos aglomerados antes da lixiviação (A) e durante a lixiviação (B). Fonte: Domic (2001).

Após a montagem da pilha, aguarda-se um período de aproximadamente 24 h (período de cura) para iniciar a operação de irrigação (DHAWAN et. al., 2013). Ao ter início a irrigação da pilha de minério com a solução ácida diluída ocorre um aumento da quantidade de líquido disponível em torno das partículas individuais que continuam coesas em um estado denominado capilar. Portanto, uma vez irrigados, os aglomerados preservam suas características no que tange à alta permeabilidade líquida e gasosa, correspondente ao produto poroso formado durante a operação de aglomeração.

2.2.1.3 Altura do leito mineral

A altura da pilha é determinada pela permeabilidade do leito mineral. Essa permeabilidade deve permitir a adequada percolação de líquidos no caso de minérios intemperizados e, também, a insuflação de ar, no caso de minérios secundários e primários, devido à necessidade da presença de oxigênio e dióxido de carbono (processo biohidrometalúrgico). A presença de argilas, o excesso de finos e a formação de precipitados férricos (*i.e.,* hidróxidos férricos e jarosita) na pilha podem reduzir a permeabilidade do leito mineral, ocasionando a formação de caminhos preferenciais que comprometem a eficiência da operação de percolação, de forma uniforme, da solução ácida (DOMIC, 2001).

A reação de dissolução do minério intemperizado é diretamente afetada pela deficiência na permeabilidade hídrica. Geralmente, em escala industrial, utiliza-se uma altura de leito de até 8 m para evitar tais problemas que podem resultar, ainda, na colmatação do leito mineral (DOMIC, 2001; DHAWAN et al., 2013). A colmatação é um inconveniente do processo que resulta na interrupção da operação que, para sua continuidade, é necessário que seja realizada uma remobilização da pilha.

2.2.1.4 Temperatura

A temperatura influencia o processo de lixiviação, pois, se por um lado a sua elevação proporciona um aumento da cinética das reações químicas (RUSSEL, 1994) e, consequentemente da solubilização do cobre contido no minério. Por outro lado, sua elevação pode provocar evaporação da água e, com isso, pode ocorrer a cristalização de sulfato de cobre no interior do leito mineral. Temperaturas elevadas são muito favoráveis nos processos de lixiviação de minerais recalcitrantes como a calcopirita. Romano et al., (2001), ao promover a lixiviação férrica de um concentrado constituído, majoritariamente, de calcopirita ($CuFeS_2$) e molibdenita (MoS_2) obteve percentuais de extração de cobre 30, 60 e 100% para 30, 45 e 68º C, respectivamente.

As reações de solubilização dos minerais intemperizados de cobre não envolvem a geração de calor; contudo, durante a remoção da capa intemperizada de um dado jazimento, sempre se esbarra numa capa intermediária onde coexistem estruturas minerais, fruto do processo de intemperismo natural de sulfetos minerais. As reações de dissolução desses sulfetos são exotérmicas (ABHILASH; PANDEY; NATARAJAN, 2015). Ao considerar as dimensões de uma pilha de lixiviação em escala industrial, estima-se, considerando, ainda, o teor de enxofre, que o calor gerado será mantido no leito mineral. Como forma de controlar a temperatura, pode-se aumentar a vazão de irrigação e do fluxo de ar, pois, dessa forma, ocorre a troca de calor e, como consequência, a diminuição da temperatura do leito mineral. De modo inverso, à medida que se observa a diminuição da temperatura e, consequentemente, a desaceleração da cinética das reações de dissolução dos minerais é possível diminuir a vazão de irrigação e a insuflação de ar até que a temperatura atinja valores apropriados para a continuidade do processo.

2.2.1.5 pH

O consumo de ácido sulfúrico no início do processo pode produzir alterações indesejáveis no pH da solução lixiviante, isto é, a elevação súbita do pH que acarreta consequências como a hidrólise de íons férricos (DAOUD; KARAMANEV, 2006; LEAHY; SCHAWRZ, 2009) que podem contribuir para a formação de zonas impermeáveis no interior da pilha, impedindo o acesso da solução ao mineral de interesse.

O controle do pH é de fundamental importância no processo e, dependendo da altura da pilha de lixiviação é preciso monitorar, de forma rigorosa, o pH da solução que é irrigada no topo do leito mineral, bem como o pH da solução que drena da pilha. O ajuste é feito no tanque reservatório de lixívia a partir da adição de ácido sulfúrico seguida de homogeneização que é feita por meio da recirculação da solução do tanque.

O ácido sulfúrico é o reagente químico mais importante no processo de lixiviação de minério intemperizado de cobre. A produção desse ácido será abordada mais adiante neste texto; contudo, adianta-se que a sua produção industrial é realizada a partir de enxofre elementar ou de pirita (FeS_2) em sistemas complexos e controlados.

Nos sistemas biológicos de extração de metais, mais especificamente na biolixiviação, ocorre a geração de ácido sulfúrico, tanto a partir das reações de oxidação completa dos sulfetos minerais, tanto pela bio-oxidação do S° que é gerado a partir da oxidação incompleta de tais sulfetos (PARKER; PRISK, 1953; SUZUKI, 1965; DONOVAN, 1997). A constatação da viabilidade da geração biológica de ácido sulfúrico no seio de um leito mineral seja de minério primário ou de minério intemperizado, a partir do enxofre elementar, envolve a oxidação biológica parcial desse elemento na geração de íons tiossulfato (PARKER; PRISK, 1953; SUZUKI, 1965; DONOVAN, 1997). Essa rota, foi estudada com vistas à lixiviação de ouro a partir de minérios auríferos e fontes secundárias, tema que já foi investigado por Martins, Oliveira e Sobral (2014) e que foi motivo de patente concedida à empresa Canadense *Barrick Gold Corporation* (CHOI et al., 2009), como mostrado na Equação 10, a seguir:

$$2S^{o}_{(s)} + O_{2(g)} + H_2O \xrightarrow{\text{Micro-organismos}} H_2S_2O_{3(l)} \qquad (10)$$

No caso tema desse estudo, o enxofre é oxidado a sulfato visto que os micro-organismos utilizados, nas condições de acidez e aeração exigidas por esse processo, assim o possibilita.

2.3 PRODUÇÃO DE ENXOFRE ELEMENTAR E ÁCIDO SULFÚRICO

A produção mundial de ácido sulfúrico está diretamente relacionada à produção de enxofre elementar. Segundo Hocking (2005) e USGS (2014; 2017), cerca de 90% do enxofre produzido é utilizado na fabricação de ácido sulfúrico, a qual, por sua vez, pode ser dividida em voluntária e forçada. Na produção voluntária, a mineração de enxofre é o único componente e, na produção forçada, o enxofre, ou o ácido sulfúrico, é recuperado, ou co-produzido, estando completamente atrelado às especificações, normas e ritmo de produção do produto principal (KULAIF, 2009; KING, 2013).

2.3.1 Produção de enxofre a partir do processo Frasch

A produção voluntária de enxofre nativo diminui a cada ano, representando apenas 2% da produção mundial (NEHB; VYDRA, 2005). Para extração de enxofre contido em depósitos subterrâneos, utiliza-se o processo Frasch, desenvolvido por Herman Frasch em 1891. Este método, único conhecido para recuperação econômica de enxofre elementar, consiste no bombeamento de água superaquecida e sob pressão para o interior do depósito onde ocorre a fusão do enxofre e sua extração (HOCKING, 2005). A Figura 6 mostra o esquema representativo desse processo, no qual a água superaquecida é bombeada para o interior do depósito, levando à fusão do enxofre, e a sua posterior extração.

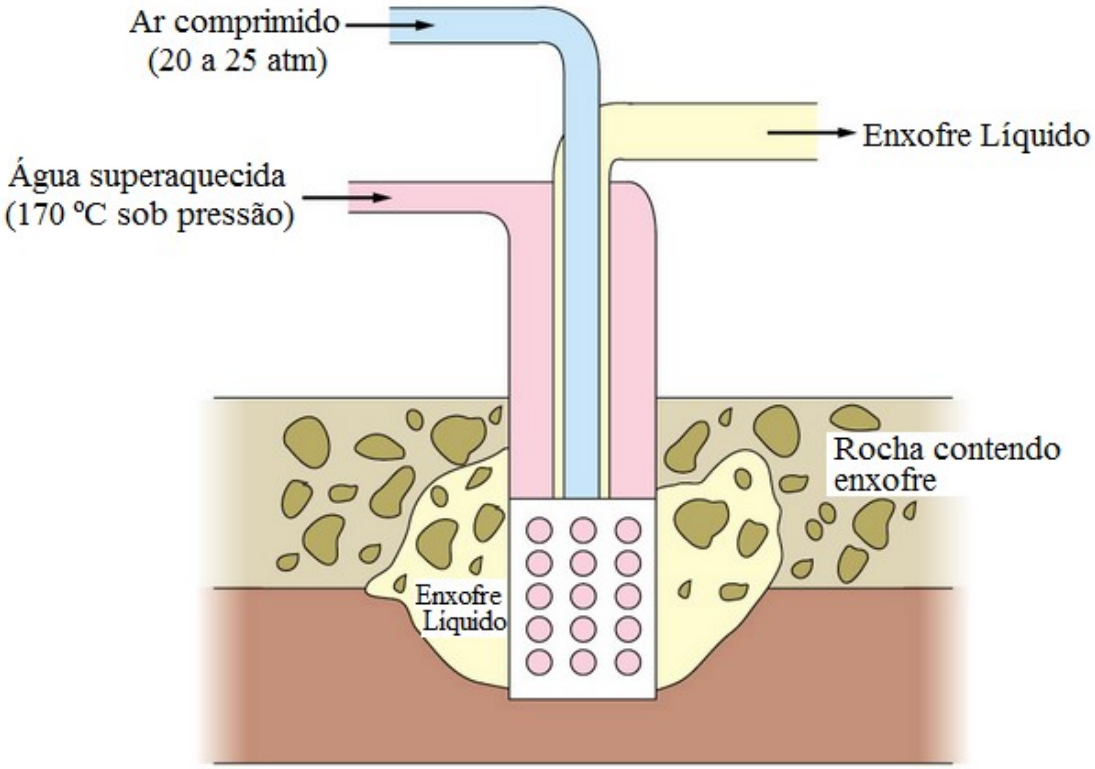

Figura 6: Esquema representativo do processo Frasch. Fonte: Barron (2014).

O processo *Frasch* é capaz de produzir enxofre de alta pureza (NEHB; VYDRA, 2005). A maior parte de enxofre do mundo foi obtido desta forma até o final do século 20, quando o enxofre recuperado a partir de fontes de petróleo e gás (enxofre recuperado) se tornaram mais comuns (HOCKING, 2005; KULAIF, 2009).

2.3.2 Produção de enxofre a partir do refino de petróleo (Processo Claus)

A utilização da DEA (Di-Etanol-Amina), o HDT (Hidrotratamento) e o HDS (Hidrodessulfurização) são processos utilizados pela indústria do petróleo com o propósito de remover o enxofre das frações refinadas, a fim de adequá-las às especificações de teor de enxofre, acidez, odor, formação de compostos poluentes, alteração de cor, corrosividade etc. (GUIMARÃES, 2006). A remoção do enxofre dos derivados de petróleo visa, fundamentalmente, atender à legislação ambiental em

vigor, no que diz respeito às emissões de óxidos de enxofre (SO_x), devido à sua toxicidade para o homem e ambiente. Por exemplo, o dióxido de enxofre pode causar irritação e inflamação das vias respiratórias, queimaduras no nariz e garganta, dificuldade respiratória, tosse, rinorréia, dispnéia, cianose, náuseas, vômitos e dor abdominal. Na pele, pode ocorrer dermatite. Também podem ocorrer edemas na laringe e nos brônquios, pneumonia química e edema pulmonar (ELSON, 1992).

Na atmosfera, os óxidos de enxofre, produzidos como subproduto da queima de combustíveis fósseis, reagem diretamente com a água, formando um ácido fraco, ácido sulfuroso (H_2SO_3), que por sua vez pode reagir com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) presente, originando um ácido forte, o ácido sulfúrico.

As unidades de tratamento DEA, HDT e HDS geram rejeitos gasosos, com elevado teor de gás sulfídrico (H_2S), que são enviados à Unidade de Recuperação de Enxofre (URE), onde as correntes ácidas sofrem tratamento para separação do enxofre, com foco na sua recuperação (GUIMARÃES, 2006).

O processo para recuperação de enxofre a partir de gases ácidos se baseia na oxidação do H_2S, de acordo com os princípios da reação de Claus. Este processo foi patenteado em 1883, em Londres, pelo químico Carl Friedrich Wilhelm Claus que desenvolveu uma forma de converter *o* H_2S em enxofre elementar (S^o). A primeira etapa desse processo utiliza um terço da corrente de gás sulfídrico em uma reação com o oxigênio presente no ar (Equação 11).

$$\mathrm{H_sS_{(g)} + 1{,}5O_{2(g)} \rightarrow SO_{2(g)}} \qquad \Delta\mathrm{H} = 519\ \mathrm{kJ}\ (124\ \mathrm{kcal}) \tag{11}$$

Na segunda etapa do processo, o $\mathrm{SO_2}$ produzido na Equação 11 reage com os dois terços restantes de gás sulfídrico resultando na Equação 12, a seguir.

$$\mathrm{2H_2S_{(g)} + SO_{2(g)} \xleftrightarrow{300-320°C} 3S_{(l)} + 2H_2O_{(l)}} \qquad \Delta\mathrm{H} = 143\ \mathrm{kJ}\ (-34\ \mathrm{kcal}) \tag{12}$$

A Figura 7 mostra, de forma esquemática, como esse processo ocorre.

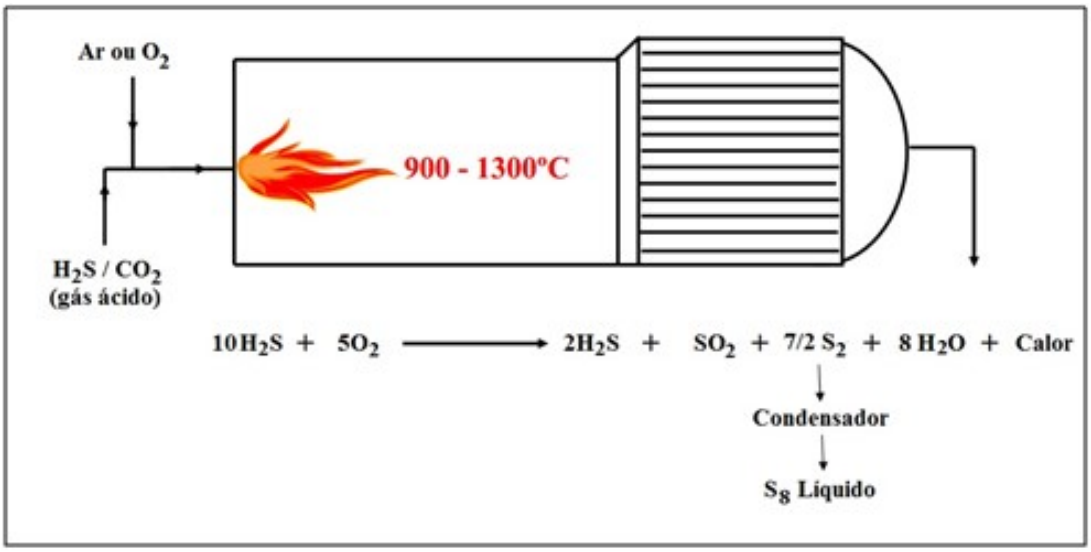

Figura 7: Representação esquemática do processo Claus. Fonte: Própria

O processo Claus é amplamente utilizado na recuperação do enxofre a partir do processamento de gás natural ou do refino do petróleo, permitindo a obtenção de enxofre elementar com grau de pureza superior ao enxofre obtido pelo processo Frasch. Além disso, a recuperação de enxofre situa-se entre 95 e 99% m/m (EPA, 1998; AFONSO; PEREIRA, 2010). O enxofre recuperado é vendido para indústrias de fertilizantes, cosméticos, medicamentos, papel e celulose etc. (EPA, 1998).

2.3.3 Produção de ácido sulfúrico

O ácido sulfúrico (H_2SO_4) pode ser obtido, industrialmente, por diferentes processos, seja a partir das câmaras de chumbo ou de contato a úmido (KING, 2013). O processo das câmaras de chumbo é considerado obsoleto, enquanto o de contato é empregado na maioria das instalações industriais de produção de ácido sulfúrico (DUEKER; WEST, 1959). A tecnologia de contato envolve as seguintes etapas: (i) obtenção do anidrido sulfuroso (SO_2); (ii) conversão catalítica do SO_2 a anidrido sulfúrico (SO_3); e (iii) sorção do SO_3 com água ou uma solução de ácido sulfúrico, com formação de ácido sulfúrico concentrado (HOCKING, 2005).

A primeira etapa do processo de produção envolve a obtenção do SO_2, que pode ser obtido a partir da ustulação/ignição do enxofre elementar (HOCKING, 2005) (Equação 13) oriundo dos processos mencionados anteriormente ou, ainda, a partir da ustulação de concentrados de sulfetos minerais utilizados na alimentação do processo *Flash Smelting* (CRUNDWELL et al*.,* 2011).

$$S^0_{(s)} + O_{2(g)} \rightarrow SO_{2(g)} \tag{13}$$

Uma fonte importante de SO_2 é o concentrado de pirita (FeS_2) produzido a partir do rejeito do processamento gravítico de carvão mineral (OLIVEIRA et al*.,* 2012). Os produtos da ustulação desse concentrado, conforme mostra a Equação 14, é o anidrido sulfuroso e óxido salino de ferro (Fe_3O_4).

$$3FeS_2 + 8O_2 \rightarrow 6SO_2 + Fe_3O_4 \tag{14}$$

O SO_2 é oxidado a anidrido sulfúrico (SO_3) na presença de pentóxido de vanádio (V_2O_5) como catalisador (BAL'ZHINIMAEV et al., 2001) (Equação 15).

$$2SO_{2(g)} + O_{2(g)} \xrightarrow{V_2O_5} 2SO_{3(g)} \tag{15}$$

No interior de uma câmara de chumbo, o anidrido sulfúrico, produzido na Equação 15, sofre absorção em uma solução de ácido sulfúrico diluído, com formação de ácido sulfúrico concentrado a 98-99% (Equação 16).

$$SO_{3(g)} + H_2O_{(l)} \rightarrow H_2SO_{4(l)} \tag{16}$$

A dissolução direta e total do SO_3 em água é inviável industrialmente, pois a reação é fortemente exotérmica. Na prática, a absorção do SO_3 é realizada em

concentrações crescentes de H_2SO_4 em água promovendo a formação de *oleum*, que é o ácido sulfúrico concentrado.

2.3.4 Produção mundial de H_2SO_4

Segundo Kulaif (2009), dos 25 principais países produtores de enxofre, 18 o produzem a partir do enxofre recuperado de processos industriais. Em 2009, com exceção da China, que tem metade da sua produção a partir de pirita (FeS_2), a produção global derivou do enxofre recuperado do processo de refino de petróleo e do gás natural, representando mais de 80%. Este montante somado à recuperação a partir do beneficiamento de metais corresponde a 98% da produção mundial.

Destacam-se como grandes produtores os Estados Unidos, Canadá, China e Rússia, que representam, aproximadamente, 45% da produção mundial. Nos Estados Unidos, a produção se distribui entre enxofre recuperado do petróleo e gás (92%), sendo o restante co-produto, principalmente, do refino de cobre (85%), mas também de zinco, chumbo e molibdênio (15%). O Brasil é um inexpressivo produtor mundial, ocupando o 27º lugar no *ranking* dos produtores (KULAIF, 2009).

De acordo com o relatório elaborado pela empresa de consultoria *Merchant Research & Consulting,* intitulado “Sulfuric Acid: 2014 World Market Outlook and Forecast up to 2018”, em português, “Ácido Sulfúrico: Perspectivas de mercado para 2014 e Previsão até 2018” (MARKETPUBLISHERS, 2014), a produção mundial de ácido sulfúrico decresceu, consideravelmente, sob a influência da crise econômica mundial. No entanto, o mercado seguiu uma tendência ascendente em 2010.

Entre 2010 e 2012, a oferta mundial de ácido sulfúrico cresceu mais de 14,3 milhões de toneladas, superando, em 2012, o montante de 230,7 milhões de toneladas. A Ásia foi a região líder na produção de ácido sulfúrico, representando cerca da metade da produção global. China, Estados Unidos da América, Índia, Rússia e Marrocos foram responsáveis por 61,5% da produção mundial de ácido sulfúrico. A produção mundial no ano de 2016 foi de 264 milhões de toneladas (GLENCORE, 2017)

A produção de fertilizantes foi a principal aplicação de ácido sulfúrico, o que representa pouco mais de 63% do consumo total desse reagente. Na segunda posição, em termos de consumo mundial de ácido sulfúrico, está a indústria de metalurgia extrativa, sendo a indústria do cobre, a principal demandante, seguida pelas indústrias de níquel (PEACOCK, 2009; GLENCORE, 2017).

A tendência para o mercado mundial de ácido sulfúrico é de crescimento positivo, impulsionado, consideravelmente, pelo contínuo aumento da demanda (MERCADO PUBLISHERS, 2014).

O aumento da produção de ácido sulfúrico vem acompanhado do aumento do preço. Isso porque o custo do ácido sulfúrico no mercado é determinado pelo valor do enxofre, que, por sua vez, é determinado pelo preço dos fertilizantes fosfatados, que é o principal mercado de enxofre a nível mundial (VIDAL, 2011). A elevação de preço vem impulsionando as mineradoras e os grupos de pesquisa que atuam no desenvolvimento de processos hidrometalúrgicos a buscar alternativas mais econômicas para obtenção de ácido sulfúrico destinado à irrigação das pilhas de lixiviação. Uma alternativa, proposta nesta tese, é a rota biotecnológica, que consiste na utilização de micro-organismos capazes de produzir ácido sulfúrico por meio da oxidação de enxofre elementar (S°) à sulfato (SO_4^{2-}).

2.4 MICRO-ORGANISMOS OXIDANTES DE COMPOSTOS REDUZIDOS DE ENXOFRE

Os micro-organismos (bactérias e *archaea*), comumente isolados de ambientes mineiros, são capazes de promover a oxidação de compostos reduzidos de enxofre e/ou íons ferrosos. As diversas espécies cultiváveis, já isoladas e identificadas, se apresentam como: (i) acidófilas; (ii) autotróficas, pois executam a biossíntese de todos os constituintes celulares utilizando o dióxido de carbono (CO_2) como única fonte de carbono; (iii) quimiolitotróficas (no caso, obtêm energia a partir da oxidação de compostos inorgânicos). No que tange à temperatura ideal de crescimento, podem se distinguir em: mesófilos (até ~40° C), termófilos moderados (~40 - ~55^0 C) e termófilos extremos (~55 - ~80°C) (WATLING, 2006; SHIPPERS,

2007; BRIERLEY, 2008; CARRETERO et. al, 2010).

Dentre os principais gêneros, destaca-se o *Acidithiobacillus,* denominado *Thiobacillus* até o ano 2000, quando Kelly e Wood (2000) propuseram a atual nomenclatura, e reclassificação na classe *Acidithiobacillia* (WILLIAMS; KELLY, 2013). Pertencem ao filo Proteobacteria, um dos maiores do domínio Bacteria, e como todas as proteobactérias, são Gram-negativas, apresentando-se como bacilos curtos e finos, de tamanho médio aproximado de 0,4 µm de diâmetro por 2,0 µm de comprimento, e motilidade devida a um ou mais flagelos polares. As espécies deste gênero utilizam compostos reduzidos de enxofre como fonte de energia, dando suporte ao metabolismo autotrófico. Ademais, uma espécie (*A. ferrooxidans*) é ainda capaz de utilizar o íon ferroso como fonte de elétrons para geração de energia.

Esse gênero compreende espécies mesofílicas (*i.e., A. ferrooxidans, A. thiooxidans, A. ferrivorans, A. albertensis*), com temperatura ideal de crescimento na faixa de 30 a 35°C, e termofílicas moderadas (*i.e., A. caldus* e *A. tepidarius*), sendo a temperatura ótima de 45°C (GOEBEL; STACKEBRANT, 1994; HALLBERG; LINDSTRÖM, 1994; RAWLINGS; TRIBUTSCH; HANSFORD, 1999; KELLY; WOOD, 2000; KARAVAIKO et al*.,* 2003; OKIBE et al*.,* 2007; GIAVENO; URBIETA; DONATI 2010; HALLBERG et al., 2010; LARA et al*.,* 2010; WILLIAMS; KELLY, 2013).

Devido às similaridades fisiológicas e ambientais, essas bactérias coexistem na natureza, intensificando a solubilização dos metais constituintes dos sulfetos minerais (BRIERLEY; BRIERLEY, 2013).

A seguir, são descritos os micro-organismos utilizados neste estudo (*i.e*., *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*)

2.4.1 *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Essa foi a primeira espécie isolada de regiões mineradas e, portanto, tem sido a mais amplamente estudada, tanto em estudos genéticos quanto em experimentos de adesão celular e de biolixiviação (JOHNSON, 2001; ROHWEDER et al., 2003; LAVALLE et al., 2005). Por muitos anos, *A. ferrooxidans* foi considerada a espécie dominante em diversos sistemas de biolixiviação, onde a temperatura era inferior a

40ºC (WATLING, 2006).

As células desta espécie se apresentam como bastonetes Gram-negativos, não esporulados, com dimensões de 0,5 a 0,6 µm de diâmetro por 1,0 a 2,0 µm de comprimento, ocorrendo sozinho ou em pares, raramente em cadeias pequenas, móveis por meio de flagelo polar (EHRLICH; NEWMAN, 2008).

A reprodução ocorre por divisão binária, sendo a energia necessária para a fixação do CO_2 atmosférico, bem como para outras funções metabólicas, obtida a partir da oxidação do íon ferroso e de compostos reduzidos de enxofre, principalmente, de sulfetos minerais (BELLENBERG et al., 2012; PAKOSTOVA et al., 2013). Estudos recentes (ALMÁRCEGUI et al., 2014; PENG et al., 2014) indicam que *A. ferroxidans* é capaz de utilizar enxofre elementar como fonte de energia

Essa bactéria é mesofílica, com temperatura ótima de crescimento em torno de 30°C. É acidófila estrita com pH ótimo situado na faixa de 1,8 a 2,5 (DONATI; SAND, 2006). *A. ferrooxidans* é aeróbia, embora, também seja capaz de crescer em condições anaeróbicas, utilizando ferro (III) como aceptor final de elétrons (GARGARELLO et al., 2010).

Outra característica fisiológica marcante da espécie é sua generalizada resistência a elevadas concentrações de íons metálicos (NOVO et al., 2000). Contudo, é preciso considerar a afirmação feita por diversos autores (DAS; MODAK,; NATARAJAN, 1997; 1998; NOVO et al, 2000; LI; KE, 2001) que, ao trabalharem com diferentes metais em distintas concentrações, sugerem a tendência de quanto maior o choque na concentração inicial do metal, maior é o tempo necessário para a oxidação total da fonte de energia. Esse aspecto é de grande interesse prático nos processos biohidrometalúrgicos, visto que a concentração de metais aumenta, gradativamente, no decorrer do processo de biolixiviação.

2.4.2 *Acidithiobacillus thiooxidans*

A. thiooxidans é morfologicamente e, sob alguns aspectos, fisiologicamente semelhante à *A. ferrooxidans*, sendo a principal diferença entre ambas as espécies, a incapacidade da *A. thiooxidans* de obter energia a partir da oxidação de íon ferroso. Comparativamente, *A. thiooxidans* é capaz de produzir e tolerar concentrações maiores de ácido sulfúrico (EHRLICH, 1996; LIU; LAN; CHENG, 2004), sendo, por esta razão, capaz de crescer em ambientes com elevada acidez. Os valores limites de pH para seu crescimento são de, aproximadamente, 0,5 (mínimo) e 5,5 (máximo), com pH ótimo compreendido na faixa de 2,0 a 3,0 (DONATI; SAND, 2006).

Esta espécie foi descrita pela primeira vez em 1921 pelos pesquisadores Waksman e Joffe (1921) e, desde então, tem sido encontrada em ambientes ricos em enxofre como minas de urânio, de carvão mineral e de cobre (GARCIA Jr, 1991; PAULINO et al., 2001), em pilhas de biolixiviação (VERA; SCHIPPERS; SAND, 2013), sistemas subterrâneos de esgoto (OKABE et al., 2007), cavernas (MACALADY; JONES; LYON, 2007), lamas e sedimentos (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004), e, até mesmo em água do mar (KAMIMURA et al., 2003).

A. thiooxidans é capaz de atuar na oxidação de covelita (CuS), galena (PbS), e esfarelita (ZnS) (POGLIANI; DONATI, 2000; DONATI; SAND, 2006), embora seja incapaz de oxidar a pirita (FeS_2) (SAND, 2001). Além disso, executa uma função importante nos sistemas de biolixiviação de sulfetos minerais por ser capaz de oxidar enxofre elementar (S^o) e, como consequência, produzir ácido sulfúrico, que contribui na manutenção do sistema reacional na faixa ácida (OLIVEIRA et al., 2010).

A colonização de S^o por *A. thiooxidans* vem sendo estudada desde a década de 1940 (VOGLER; UMBREIT, 1941; JONES; STARKEY, 1961; SCHAEFFER; HOLBER; UMBREIT, 1963; SUZUKI, 1965; SHIVELY; UMBREIT, 1963; KNICKERBOCKER; NORDSTROM; SOUTHAM, 2000). Estudos realizados por Jones e Starkey (1961) demonstraram que, nos cultivos de *A. thiooxidans*, ocorria formação de uma substância orgânica que “molhava” o enxofre elementar permitindo o início do processo bio-oxidativo. Anos mais tarde, Schaeffer e Umbreit (1963),

assim como Shively e Benson (1967), comprovaram que a substância desconhecida se tratava de um fosfolipídeo. Esses estudos demonstraram que o crescimento de *A. thiooxidans* em meio contendo Sº é favorecido pela excreção de metabólitos que atuam como agentes tensoativos, os quais facilitam a oxidação do enxofre elementar. Anos mais tarde, Beebe e Umbreit (1971) relataram a presença de três diferentes fosfolipídios em meio exaurido (após o crescimento) de *A. thiooxidans*, tendo S^o como única fonte de energia. Neste estudo, o fosfolipídio encontrado em maior proporção foi fosfatidilglicerol.

Nos cultivos de *A. thiooxidans*, normalmente, os compostos reduzidos de enxofre utilizados como doadores de elétrons são sulfetos minerais (MS^{2-}), enxofre elementar (S^o) e tiossulfato ($S_2O_3^{2-}$), com sulfato (SO_4^{2-}) como produto final da bio-oxidação. A reação de oxidação de sulfetos envolve a liberação de oito elétrons (Equação 17), pois o estado de oxidação do sulfeto é 2^- e do sulfato é 6^+. A bio-oxidação do S^o (Equação 18) e do $S_2O_3^{2-}$ (Equação 19) envolve a liberação de 6 e 4 elétrons, respectivamente.

$$2FeS_2 + 7O_2 + 2H_2O \rightarrow 2FeSO_4 + 2H_2SO_4 \quad (17)$$

$$S^0 + 1{,}5O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{micro-organismo}} SO_4^{2-} + 2H^+ \quad (18)$$

$$S_2O_3^{2-} + 2O_2 + H_2O \rightarrow 2\,SO_4^{2-} + 2H^+ \quad (19)$$

Quando o S^o é oxidado por *A. thiooxidans* ocorre, também, a produção de sulfito (SO_3^{2-}) como intermediário da reação. A enzima sulfito oxidase, presente na membrana celular, transfere elétrons do SO_3^{2-} diretamente ao citocromo c, promovendo a síntese de ATP durante o transporte de elétrons. Quando o tiossulfato atua como doador de elétrons, ele é oxidado à SO_3^{2-}, sendo, em seguida, oxidado à SO_4^{2-}. Todos os elétrons oriundos dessa bio-oxidação atingem o sistema de transporte de elétrons da célula gerando uma força próton motiva que leva à síntese de APT pela ATPase. Os elétrons utilizados na fixação autotrófica do CO_2 são oriundos do fluxo reverso de elétrons, sendo o CO_2 fixado no Ciclo de Calvin.

De acordo com Madigan, Martinko e Parker (2004), a força próton motiva oriunda do transporte de elétrons faz com que os prótons (H^+) alcancem o citoplasma por intermédio de enzimas específicas localizadas na membrana celular (ATPases translocadoras de prótons). No citoplasma, eles são consumidos na redução do O_2 que participa da cadeia respiratória como aceptor final de elétrons com formação de água (H_2O).

2.4.3 Fatores que influenciam no crescimento de *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*

Independentemente do tipo de processo e da escala de trabalho (bancada, semi-piloto, piloto ou industrial), alguns parâmetros influenciam diretamente na atividade metabólica dos micro-organismos utilizados neste estudo, sendo eles físicos, químicos e microbiológicos. A seguir, um breve comentário sobre os principais fatores.

2.4.3.1 Disponibilidade de dióxido de carbono (CO_2)

O dióxido de carbono atmosférico é utilizado pelos micro-organismos como fonte de carbono, cuja assimilação se dá através do ciclo de Calvin (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004). A carência de CO_2 restringe o crescimento das bactérias; logo, o processo de biolixiviação pode ser afetado pela concentração de CO_2 disponível, principalmente em função do aumento de salinidade que ocorre nos sistemas de biolixiviação, quando a solubilidade dos gases é diminuída.

Barron e Lueking (1990), estudando a influência da disponibilidade de CO_2 sobre o crescimento de *A. ferrooxidans,* verificaram máximos de atividade do micro-organismo para concentrações de CO_2 de 7 a 8%. No entanto, valores superiores a 8% causaram a inibição da cultura.

Gómes, Blásquez e Ballester (1998) avaliaram a biolixiviação de uma

amostra de concentrado mineral contendo esfalerita (ZnFeS), calcopirita ($CuFeS_2$) e pirita (FeS_2), com tamanho de partícula inferior a 30 µm, em experimentos conduzidos em frascos agitados com cultura mista composta por *A. ferrooxidans, A. thiooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans.* A eficiência de extração dos metais não variou com o aumento da concentração de CO_2 de 0,03 para 1% v/v. Ao final de 10 dias de processo, os autores determinaram percentuais de extração de 80% de zinco (Zn), 30% de cobre (Cu) e 20% de ferro (Fe).

Já Witne e Phillips (2001) obtiveram um incremento de 56% na extração de cobre a partir da biolixiviação de uma amostra complexa de minério, ao insuflar 10% de CO_2, em sistema de tanque agitado.

Cabe ainda destacar que a simples presença de carbono orgânico pode inibir o crescimento de alguns micro-organismos autotróficos. Garcia (1991) relatou a impossibilidade de realizar o cultivo de *A. ferrooxidans* em meio solidificado com Agar. A inibição do crescimento foi atribuída ao efeito inibitório dos açúcares. Segundo o autor, para o cultivo desta espécie em meio de cultura solidificado, deve ser utilizada agarose, a forma purificada desse polissacarídeo.

2.4.3.2 Disponibilidade de oxigênio (O_2)

Os micro-organismos oxidantes de ferro e enxofre são aeróbios; portanto, para que a biolixiviação se estabeleça, é fundamental a disponibilidade de oxigênio dissolvido no sistema reacional para atender o metabolismo dos micro-organismos em atuação. Além disso, o processo de dissolução de sulfetos minerais é dependente da concentração de oxigênio. No caso da pirita, por exemplo, como visto na Equação 17 são necessários quatro átomos de oxigênio para cada átomo de enxofre. No caso da bio-oxidação do S° (Equação 18) foco deste estudo, são necessários 3 átomos de oxigênio para cada átomo de enxofre.

A disponibilidade de oxigênio em sistemas estáticos é restrita devido à baixa difusão do ar e ao limitado acesso de lixívia à superfície mineral. Por essa razão, na confecção de uma pilha de biolixiviação são instaladas tubulações por onde é

insuflado o ar (KELLY, 2008).

2.4.3.3 Temperatura

A temperatura influencia, consideravelmente, o processo de dissolução de sulfetos minerais. Sua elevação, desde que dentro dos limites aceitáveis pelos micro-organismos, pode intensificar a extração do metal. A dissolução dos sulfetos é favorecida pela elevação da temperatura mesmo que na ausência de micro-organismos (ROMANO et al., 2001).

Convém ressaltar a importância de utilizar culturas mistas em sistemas de biolixiviação, principalmente em montes e em pilhas, onde ocorrem variações de temperatura. Dessa forma, cada uma das distintas espécies presentes poderá exercer sua atividade metabólica à medida que as condições ambientais favoráveis forem sendo estabelecidas. Por exemplo, a espécie *L. ferrooxidans* por ser termo-tolerante é capaz de suportar temperaturas de até 45ºC (RAWLINGS; TRIBUTSCH; HANSFORD, 1999), garantindo o processo oxidativo enquanto *A. ferrooxidans* não é capaz de crescer em temperaturas acima de 35ºC.

2.4.3.4 Nutrientes

Por serem quimiolitotróficos, os micro-organismos envolvidos nos processos de biolixiviação possuem necessidades nutricionais relativamente simples, exigindo somente alguns nutrientes inorgânicos tais como nitrogênio (N) e fósforo (P), e traços de potássio (K), magnésio (Mg), cálcio (Ca) e cobalto (Co) (JONGLERTJUNYA, 2003). Dependendo da composição da amostra mineral, as exigências nutricionais dos micro-organismos podem ser supridas por elementos disponibilizados a partir de outras espécies minerais presentes no minério (PRADHAN et al*.,* 2008).

2.4.3.5 Influência do pH

O ajuste do pH é uma condição necessária para a solubilização dos compostos metálicos, principalmente ao se trabalhar com minérios que possuam ganga associada (LEAHY e SCHARZ, 2009). Além disso, o controle desse parâmetro é condição básica para minimizar a hidrólise dos íons férricos na solução, com consequente precipitação de hidróxidos ($Fe(OH)_3$, FeOOH etc.) (DAOUD e KARAMANEV, 2006) e esgotamento do íon ferroso, necessário para a manutenção do metabolismo celular.

Por serem acidófilos, os micro-organismos empregados em processos de biolixiviação são, obviamente, dependentes do ambiente ácido para sua sobrevivência. Intracelularmente, os prótons são consumidos na redução do O_2 que participa da cadeia respiratória como aceptor final de elétrons com formação de água (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004).

A Figura 8 mostra, de forma esquemática, o papel fundamental dos prótons no metabolismo de *A. ferrooxidans,* mais especificamente, sua participação no fluxo de elétrons captados durante a oxidação do ferro presente no ambiente extracelular.

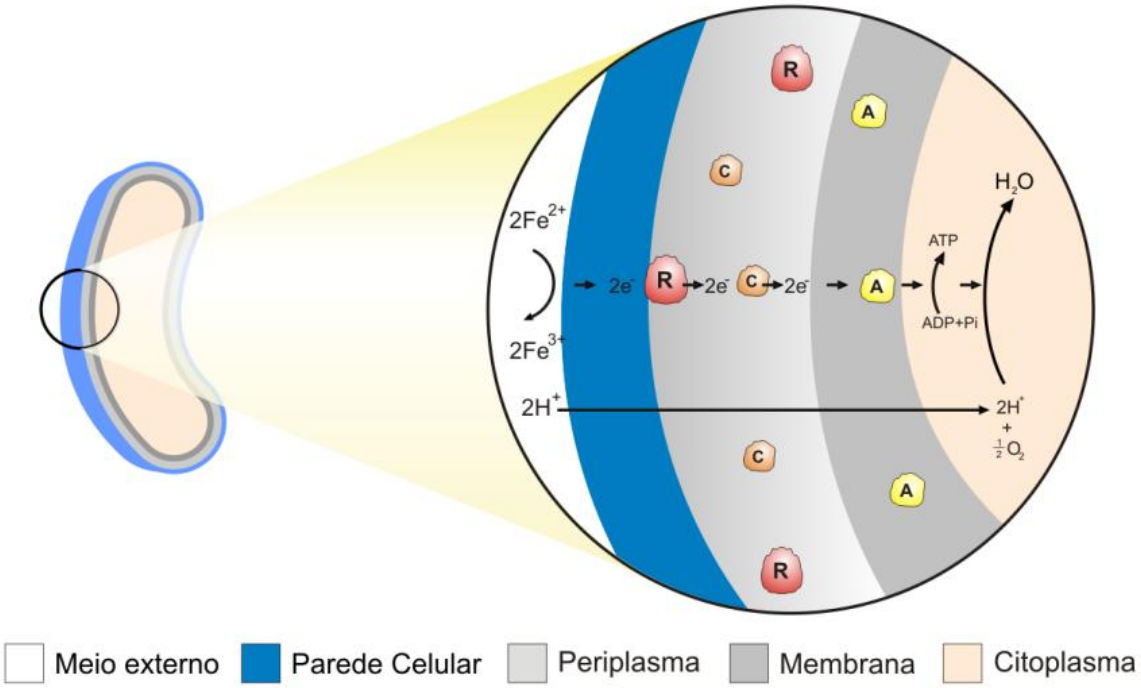

Figura 8: Esquema representativo do sistema de captação e transferência de elétrons durante a oxidação do íon ferroso, bem como transporte de prótons (H^+) para o interior da célula de *A. ferrooxidans*. R: rusticianina. C: citocromo c; A: citocromo a (OLIVEIRA, 2009).

Nota-se que a rusticianna (proteína periplasmática que contém cobre em sua estrutura) é o aceptor imediato de elétrons provenientes da oxidação do Fe^{2+}. A partir do periplasma, os elétrons são transferidos ao longo de uma pequena cadeia transportadora, acarretando a redução de O_2 a H_2O, conforme as Equações 20, 21 e 22.

$$2Fe^{2+} \rightarrow 2Fe^{3+} + 2e^- \tag{20}$$

$$ADP + Pi \rightarrow ATP \tag{21}$$

$$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O \tag{22}$$

Existe a necessidade de H^+ para redução do O_2 e para estabelecer um gradiente elétrico através da membrana. Além disso, íons H^+ são, também, necessários para a redução de nucleotídeos e pirimidinas (NAD e NADP), os quais são necessários para a fixação do CO_2 atmosférico.

Como o pH ótimo de crescimento de *A. ferrooxidans* é 1,8 e o pH intracelular

situa-se próximo da neutralidade (6,0), esse ΔpH confere o gradiente à membrana e, consequentemente, o potencial elétrico requerido na formação de ATP, bem como o suprimento necessário de H^+ para redução de O_2 e de algumas reações necessárias para a fixação do carbono. Em suma, isso explica a natureza acidófila obrigatória de *A. ferrooxidans* e dos demais micro-organismos acidofílicos envolvidos na biolixiviação, além de ressaltar a importância de realizar o monitoramento do pH e seu ajuste, a partir da adição de ácido, sempre que necessário.

2.4.3.6 Potencial de oxi-redução e concentração de espécies iônicas de ferro

O potencial de oxi-redução (Eh) acena para a tendência de um dado elemento doar ou receber elétrons; portanto, é um parâmetro indicativo da capacidade oxidante de um eletrólito. Nos sistemas de biolixiviação o Eh da solução é determinado pela relação entre as concentrações das espécies iônicas de ferro (Fe^{2+} e Fe^{3+}). A oxidação dos íons ferrosos, indicada pela elevação do potencial de oxi-redução, é um indício da dissolução dos sulfetos minerais que contém ferro e, consequentemente, da solubilização do metal de interesse (RAWLINGS, TRIBUTSCH e HANSFORD, 1999).

A Equação de Nernst (Equação 23) espelha situações de equilíbrio termodinâmico entre espécies iônicas, demonstrando que, nos sistemas de biolixiviação, qualquer alteração nas concentrações de Fe^{3+} e Fe^{2+} altera o valor do potencial padrão (MERUANI; VARGAS, 2003). Portanto, por ser um sistema dinâmico, com frequentes flutuações de concentrações dessas espécies iônicas, o valor do potencial redox varia proporcionalmente a essas flutuações.

$$\mathrm{Eh} = \mathrm{E}^0_{\mathrm{Fe^{3+},\,Fe^{2+}}} + \frac{\mathrm{RT}}{\mathrm{nF}} \log \frac{[\mathrm{Fe^{3+}}]}{[\mathrm{Fe^{2+}}]} \qquad (23)$$

Onde:

Eh: Potencial (V) medido com eletrodo de platina contra Ag°/AgCl (EPH);

E^0: Potencial padrão (V) do par Fe^{3+}/Fe^{2+} (EPH);

R: Constante dos gases 8,31441 Joule.K^{-1}.mol^{-1} ;

T: Temperatura em graus *Kelvin*;

F: Constante de *Faraday* (96493,5 *Coulombs.mol*$^{-1}$); e

n: Número de elétrons envolvidos na reação (neste caso, 1 elétron)

Por estar intimamente relacionado com as concentrações das espécies iônicas de ferro, o Eh pode ser usado para definir se as condições experimentais são favoráveis à manutenção dos íons férricos no sistema reacional, como pode ser observado no diagrama de equilíbrio termodinâmico do sistema Fe-H_2O (Figura 9). É possível notar que a região de estabilidade do íon férrico é muito restrita, dependente de elevados valores de potencial de oxi-redução em combinação com baixos valores de pH. Por esta razão, a precipitação do Fe^{3+}, nos sistemas de biolixiviação, nas formas insolúveis supracitadas ($Fe(OH)_3$, FeOOH etc.), é um inconveniente que deve ser evitado, pois, além de dificultar o processo de extração do metal, por restringir o acesso dos micro-organismos à superfície do sulfeto mineral, pode, adicionalmente, aprisionar nutrientes, íons férricos e metais em sua estrutura.

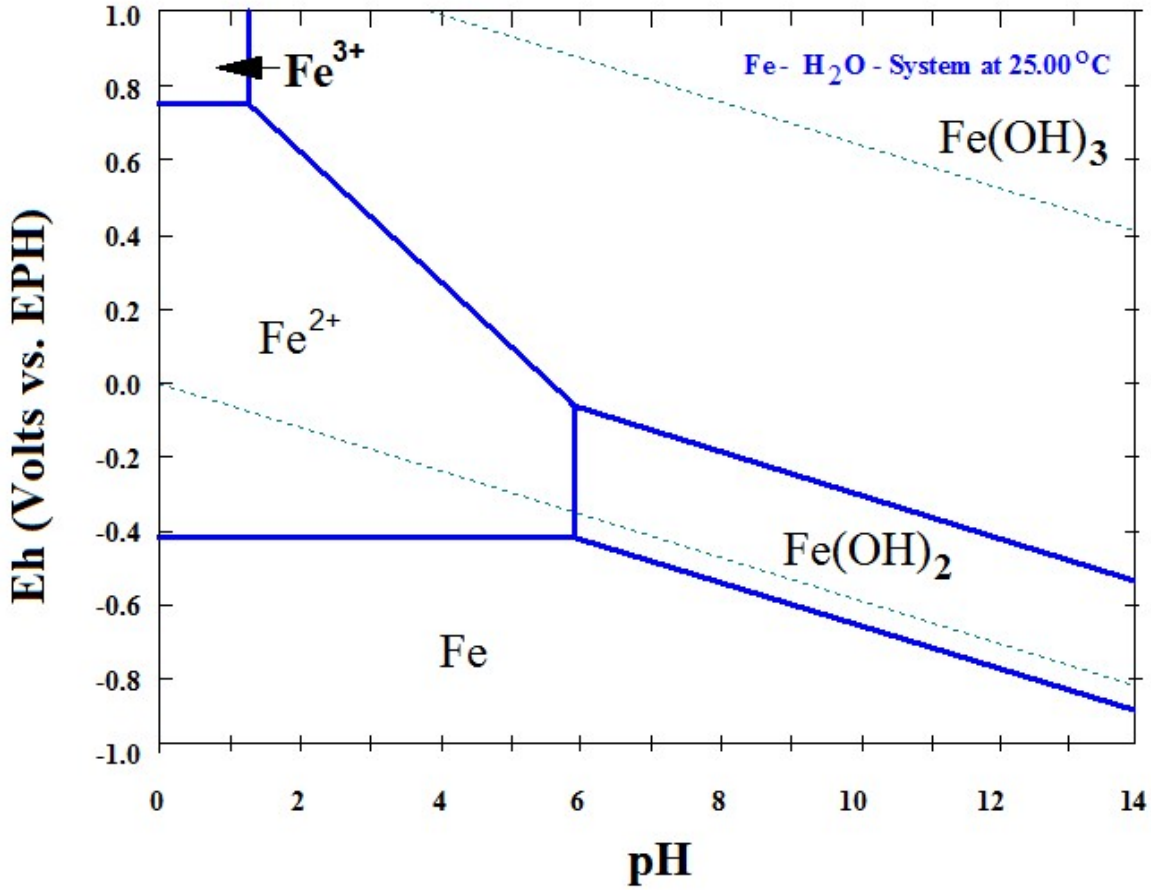

Figura 9: Diagrama de equilíbrio termodinâmico (Eh-pH) do sistema ferro-água à 25º C obtido pelo Software HSC (OutoTec).

Segundo Daoud e Karamanev (2006) e Leahy e Schawrz (2009), dentre os precipitados férricos formados durante a biolixiviação está a jarosita, um oxi-sulfato duplo de ferro, cuja formação, num sistema de biolixiviação, pode ocorrer conforme a Equação 24, onde M pode ser K^+, Na^+, NH_4^+, NH, Ag^+ ou, H_3O^+.

$$3Fe^{3+} + M^+ + 2HSO_4^- + 6H_2O \rightarrow MFe_3(SO_4)_2(OH) + 8H^+ \quad (24)$$

Jiang e Lawson (2006) determinaram maior quantidade de jarosita formada em pH 2,2, em experimentos conduzidos em valores de pH variando de 1,8 a 2,2. Esse resultado já era esperado, pois, conforme observado na Figura 9, a elevação do pH acarreta a formação dos precipitados de ferro. Daoud e Karamanev (2006) também estudaram a formação de jarosita durante a oxidação do íon ferroso por *A.*

ferrooxidans, em função do tempo de oxidação, do pH e da temperatura. Eles concluíram que o pH é o principal parâmetro que afeta a formação de jarosita; as menores taxas de formação desse composto cristalino foram determinadas para pH de 1,6 a 1,7 à 35ºC. Contudo, convém salientar que variações de temperatura influenciam, consideravelmente, a precipitação das espécies iônicas de ferro, isto é, à medida que a temperatura se eleva, ocorre aumento na taxa de formação de jarosita, conforme afirmam Kinnunen e Puhakka (2003).

CAPÍTULO III

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 AMOSTRA MINERAL

Neste estudo foi utilizado um minério intemperizado de cobre, prospectado por uma mineradora brasileira que forneceu, para realização da pesquisa, uma amostra de 200 kg deste minério com tamanho de partícula variando entre 25,4 e 38,1 mm (1,0 a 1,5 polegadas).

3.1.1 Processamento Mineral

Após secagem em estufa sob temperatura de 40°C, a amostra foi homogeneizada e quarteada por meio de uma pilha piramidal longitudinal.

Para o ensaio de lixiviação em colunas, uma amostra representativa do minério foi processada em HPGR da marca Polysius, modelo PM25 (Figuras 10 e 11), sob pressão de $2N/mm^2$ nos rolos e, outro montante, foi processado em britador de mandíbula da marca ESSA, modelo JC2500 (Figura 12).

As partículas finas geradas durante o processamento mineral não foram utilizadas nesse estudo.

Figura 10: HPGR utilizado no processamento do minério.

Figura 11: Detalhamento dos rolos do HPGR.

Figura 12: Britador de Mandíbula usado no processamento do minério; A direita observa-se o detalhamento da mandíbula do britador.

As amostras oriundas de ambas as formas de britagem foram submetidas a um peneiramento, utilizando peneiras da série Tyler, para seleção das partículas situadas dentro da faixa granulométrica compreendida entre 3,36 e 12,7 mm para uso nos ensaios de lixiviação em colunas.

Uma sub-amostra do minério foi cominuída em um moinho de barras (Figura 13) para obtenção da faixa granulométrica situada entre 0,105 e 0,149 mm.

Figura 133: Detalhes do moinho de barras utilizado na moagem do minério intemperizado de cobre.

O minério cominuído foi homogeneizado e sub-amostras representativas foram utilizadas na realização da caracterização tecnológica simplificada, na aclimatação dos micro-organismos e nos ensaios de lixiviação em frascos agitados.

3.2 MICRO-ORGANISMOS: ORIGEM E MANUTENÇÃO

Na realização dessa pesquisa foram utilizadas as linhagens bacterianas *Acidithiobacillus ferrooxidans* - LR e *Acidithiobacillus thiooxidans* - FG01, ambas isoladas de licor de lixiviação estática de minério de urânio proveniente da mina de Lagoa Real - Bahia (GARCIA, 1991).

Ambas as culturas foram cedidas ao laboratório de biohidrometalurgia do CETEM pelo Professor Dr. Oswaldo Garcia Jr. (*in memorian)* em 2006 e, desde então, vêm sendo mantidas através de transferências periódicas em 100 mL de meio de cultura 9K (SILVERMAN; LUNDGREN, 1959), o qual apresenta a seguinte

composição (em $g.L^{-1}$): $(NH_4)_2SO_4$ 3,0; $MgSO_4.7H_2O$ 0,5; K_2HPO_4 0,5; KCl 0,1; e $Ca(NO_3)_2$ 0,01.

Dependendo da bactéria a ser cultivada, o meio de cultivo foi acrescido de diferentes fontes energéticas: 33,3 $g.L^{-1}$ de $FeSO_4.7H_2O$ para *A. ferrooxidans* e 10 $g.L^{-1}$ de Sº para *A. thiooxidans*. O pH do meio de cultivo foi ajustado em 2,8, com solução H_2SO_4 5M nos cultivos de *A. thiooxidans* e em 1,8 nos cultivos de *A. ferrooxidans.* A solução de sais básicos do meio 9K foi esterilizada em autoclave sob 120ºC por 20 minutos; a solução de Fe^{2+}, por sua vez, foi esterilizada por filtração em membrana Millipore com diâmetro de poro de 0,22 µm. Para tanto preparou-se uma solução de sulfato ferroso concentrada 5 vezes (166,5 $g.L^{-1}$) e, após a filtragem, misturou-se à solução de sais básicos. Essa mistura foi feita numa proporção de 1:4 (solução de $FeSO_4.7H_2O$:solução de sais básicos) para que fosse respeitada a concentração determinada na composição do meio de cultura 9K, que é de 33,3 $g.L^{-1}$; O enxofre elementar (Sº) foi esterilizado por tindalização[2] sob temperatura de 110°C durante 20 minutos em cada ciclo.

Os cultivos são incubados sob temperatura de 30ºC, em mesa agitadora New Brunswick R44 (Figura 14), sob agitação de 150 rpm.

---

[2] Tindalização é um método de esterilização que utiliza o calor na forma de vapor d'água livre. Tem como objetivo destruir formas vegetativas e esporuladas. É também denominada esterilização fracionada ou intermitente (100ºC/20 min, durante 3 dias consecutivos). Fonte: Notas de aula – Microbiologia Industrial.

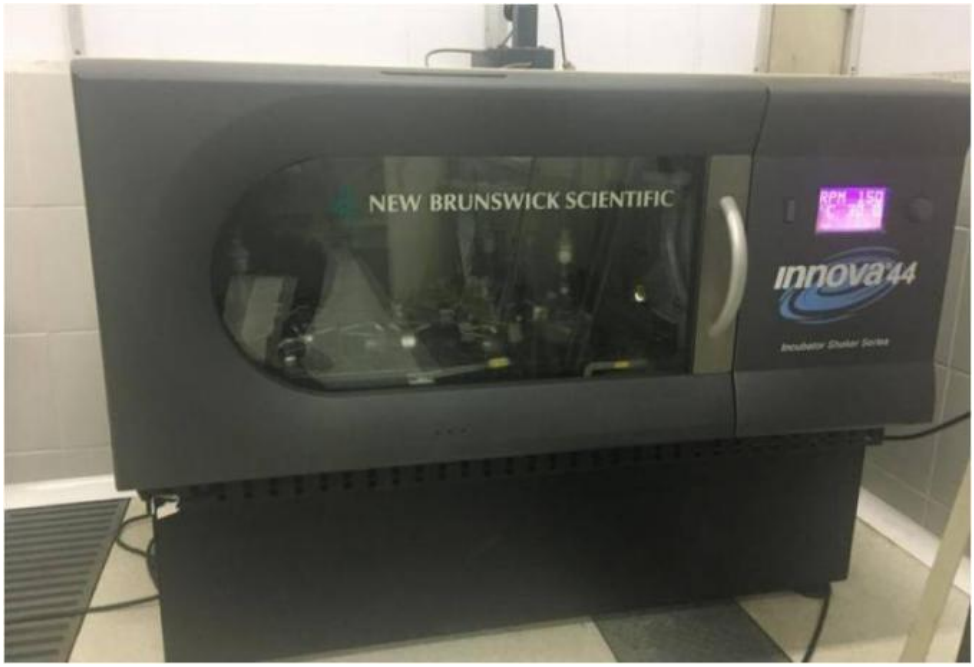

Figura 144: Incubadora tipo *shaker* New Brunswick R44.

Após um período de crescimento de 3 dias para *A. ferrooxidans* e 7 dias para *A. thiooxidans*, os cultivos são estocados em refrigerador a 4º ± 1ºC por, no máximo, 2 meses (*A. ferrooxidans*) ou 6 meses (*A. thiooxidans*).

3.3. ENSAIOS REALIZADOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

A Figura 15 mostra, de forma esquemática, os ensaios realizados durante o desenvolvimento desta pesquisa.

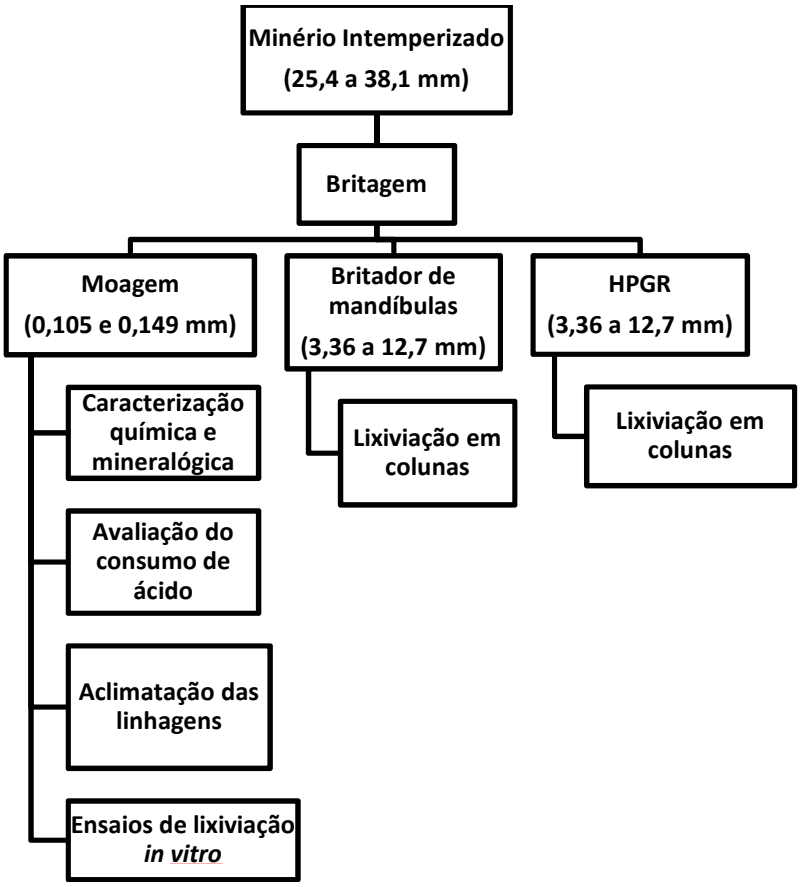

Figura 155: Organograma indicando as principais etapas do estudo.

3.3.1 Caracterização Tecnológica Simplificada do Minério Intemperizado de Cobre

A caracterização tecnológica simplificada do minério foi realizada por meio da quantificação dos metais majoritários presentes na amostra, previamente digerida em água-régia, por espectrometria de absorção atômica e pela identificação das

fases minerais, por Difração de Raios-X (DRX).

3.3.1.1 Espectrometria de absorção atômica

A determinação do teor de cobre do minério, bem como das concentrações de cobre nas alíquotas amostradas durante a realização dos experimentos foram realizadas por espectrometria de absorção atômica no equipamento Agilent, modelo SpectrAA-55b. As condições operacionais para a determinação de cobre foram: gás ar/acetileno com 99,7 a 99,8% de pureza, corrente da lâmpada igual a 10 mA, comprimento de onda igual a 324,8 nm e fenda igual a 0,5 nm.

3.3.1.2 Difração de Raios-X

Esta análise foi realizada no Serviço de Caracterização Tecnológica do CETEM/MCTIC e teve como objetivo identificar e caracterizar as fases cristalinas do minério por meio de seus padrões difratométricos.

A amostra foi desagregada, por moagem manual, num gral de ágata, montada em suporte do tipo *backload* e analisada pela técnica de DRX, método do pó, no equipamento Bruker-D4 Endeavor (Figura 16), nas seguintes condições de operação: radiação Co Kα (35 kV/40 mA); velocidade do goniômetro de 0,02^{o} 2θ por passo com tempo de contagem de 1 segundo por passo e coletados de 5 a 80º 2θ.

Figura 166: Equipamento Bruker-D4 Endeavor.

A interpretação qualitativa do espectro foi efetuada por comparação com padrões contidos no banco de dados PDF02 (ICDD, *International Center for Diffraction Data*) em *software* Bruker Diffrac^{Plus}.

Os resultados, a partir das análises quantitativas, considerando os dados da Difração de Raios-X, foram calculados pelo método de refinamento de espectro multifásico total (método de *Rietveld*), com *software* Bruker AXS Topas, v. 3.0. As informações de estruturas cristalinas foram obtidas do banco de dados da Bruker AXS. As demais variáveis são listadas na Tabela 1.

Tabela 1: Variáveis de refinamento.

Variável	***Set up* analítico**
Perfil de emissão	7 linhas Kα, áreas fixas, 1 linha kβ com área refinada
Background	Polinomial de quinta ordem
Correções refinadas	Intensidade, Rugosidade superficial, Absorção.
Convolução	1 passo

3.3.2 Adaptação das linhagens

Considerando que inúmeros estudos mostram que a utilização de micro-organismos previamente adaptados ao substrato mineral apresentam melhores resultados em termos de eficiência de bio-extração do metal de interesse (DAS; MODAK; NATARAJAN, 1997 e 1998; NOVO et al, 2000; Li; Ke, 2001)[3], optou-se por realizar a adaptação das bactérias empregadas nesta pesquisa ao minério intemperizado de cobre.

O processo de adaptação compreende a reprodução de indivíduos que excedam algum ponto de corte na distribuição de uma dada característica, ou seja, dentro de uma população selecionam-se os indivíduos que tenham certa característica, sendo, nesse caso, selecionados aqueles que apresentem uma maior tolerância aos metais solubilizados a partir do minério intemperizado de cobre. Uma parte da população é retida a fim de propagar a característica escolhida como limitante, tornando-a, assim, comum naquela nova população (FUTUYMA, 2002). Para tanto, previamente à realização dos experimentos de lixiviação, as culturas de *A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans* foram submetidas ao processo de adaptação que consistiu em sub cultivos sucessivos (Figura 17) realizados em frascos Erlenmeyer contendo meio de cultura MKM (OLSON; BRIERLEY; BRIERLEY, 2003) que contém a seguinte composição: $(NH_4)_2SO_4$: 0,4 $g.L^{-1}$; $MgSO_4.7H_2O$: 0,4 $g.L^{-1}$; e K_2HPO_4: 0,08 $g.L^{-1}$. Como fontes de energia foram adicionados 10 $g.L^{-1}$ de enxofre elementar nos cultivos de *A. thiooxidans* e 33,3 $g.L^{-1}$ de $FeSO_4.7H_2O$ nos cultivos de *A. ferrooxidans*.

A quantidade de minério adicionada ao cultivo foi aumentada, gradativamente, a cada propagação, isto é, a cada novo subcultivo, iniciando-se com 0,1% m/v, com o objetivo de alcançar a relação 4% m/v, conforme esquematizado na Tabela 2.

[E] Ao trabalhar com diferentes metais e concentrações, esses estudos sugerem a tendência de quanto maior o choque na concentração inicial do metal, maior é o tempo de oxidação total do substrato.

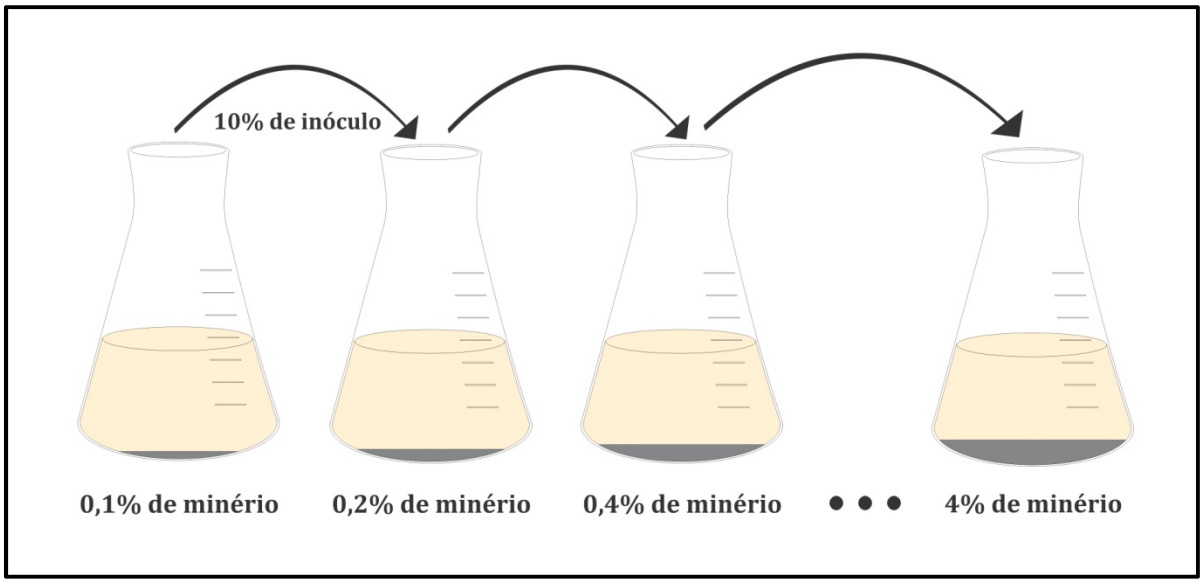

Figura 177: Esquema representativo de subcultivos sucessivos.

Tabela 2: Fases do processo de aclimatação de *A.thiooxidans* e *A. ferrooxidans* ao meio de cultivo contendo minério intemperizado de cobre.

Fase	Teor de minério (% m/v)
1	0,1
2	0,2
3	0,4
4	0,5
5	1
6	1,5
7	2
8	2,5
9	3
10	3,5
11	4

Sob agitação orbital de 150 rpm e temperatura de 30°C, *A. ferrooxidans* utiliza rapidamente (24 - 48 horas) o íon ferroso adicionado ao meio, enquanto *A. thiooxidans* oxida quase todo o enxofre adicionado ao meio após 5 a 7 dias do início do cultivo.

Ao final de cada fase, isto é, ao final do preparo de cada subcultivo, foram realizados testes a fim de se verificar a viabilidade bacteriana, mesmo após o

esgotamento do íon ferroso ou do enxofre elementar. Para tanto, uma alíquota do meio de adaptação foi inoculada, numa proporção de 10% v/v, em meio 9K contendo 33,3 $g.L^{-1}$ de $FeSO_4.7H_2O$ ou 10 $g.L^{-1}$ de S°. A oxidação completa do Fe^{2+}, caracterizada pela mudança da coloração do meio de cultivo de branco leitoso para vermelho-tijolo, indicou viabilidade de *A. ferrooxidans*, assim como a observação de turvação do meio e pH igual ou inferior a 1 indicou a viabilidade de *A. thiooxidans.*

Durante todas as fases de adaptação o pH foi verificado periodicamente e ajustado, sempre que necessário, para 1,8 com solução de H_2SO_4 5M. As culturas, assim adaptadas para crescerem na presença do minério intemperizado de cobre em estudo, apresentavam densidade populacional da ordem de 10^9 $cels.mL^{-1}$ e foram utilizadas com o inóculo nos ensaios preliminares (lixiviação em frascos agitados) e nos ensaios de lixiviação em colunas.

3.3.3 Avaliação do consumo de ácido pelo minério intemperizado de cobre

Visando determinar a quantidade de ácido necessária para realizar a lixiviação do minério, foi feito um ensaio para avaliar o consumo de ácido durante o processo de dissolução dos minerais que o compõem. Para esse procedimento, utilizou-se um Becker com capacidade de 500 mL no qual foram adicionados 40 g de minério pulverizado e 250 mL de água deionizada. O sistema foi mantido sob agitação magnética e a adição de solução de ácido sulfúrico 5M era realizada de modo constante até estabilização da lixívia pH 2,0, conforme previamente padronizado pelo laboratório de biohidrometalurgia do CETEM (Figura 18).

Figura 188: Experimento de avaliação do consumo de ácido pelo minério.

Após 6 horas sob agitação ocorreu a estabilização do pH. O volume de ácido sulfúrico adicionado, ao longo do período de duração do teste, foi equivalente a 7,84 kg de H_2SO_4 por tonelada de minério. Considerando esse consumo de ácido, estipulou-se a quantidade base de enxofre a ser adicionado ao minério, para a realização dos ensaios de lixiviação em colunas, para garantir a produção de um razoável excesso de ácido: 20 g de enxofre para 3 kg de minério ou 6,67 kg de enxofre por tonelada de minério. Dessa forma, a completa bio-oxidação do enxofre presente produz 61,25 g de ácido sulfúrico, sendo essa massa equivalente a 20,4 kg de ácido sulfúrico por tonelada de minério, correspondente a uma quantidade 2,6 vezes maior que a determinada experimentalmente.

3.3.4. Experimento preliminar: produção in vitro de ácido sulfúrico na lixiviação de minério intemperizado

Conduziu-se um total de oito ensaios de lixiviação, englobando quatro testes experimentais, nos quais foram adicionados micro-organismos, e quatro controles, conforme detalhado nas Tabelas 3 e 4, que contêm a descrição dos parâmetros empregados para os ensaios inoculados e os ensaios denominados controles, respectivamente. Utilizou-se a amostra de minério devidamente cominuída cujo tamanho de partícula se encontrava entre 0,105 e 0,149 mm. Os ensaios foram realizados em frascos Erlenmeyer com capacidade para 500 mL, em triplicata, perfazendo um total de 24 frascos.

Tabela 3: Descrição dos ensaios de lixiviação em frascos agitados.

Ensaio	Descrição			
	MKM pH 1,8 (mL)	Minério (g)	Enxofre[1] (g)	Inóculo[2]
MOT	180	8	-	20 mL de *A. thiooxidans*
MOTS	180	8	0,11	20 mL de *A. thiooxidans*
MOFS	180	8	0,11	20 mL de *A. ferrooxidans*
MOTFS	180	8	0,11	10 mL de *A. thiooxidans* + 10 mL de *A. ferrooxidans*

[1]A massa de enxofre utilizada era equivalente a 13,75 kg por tonelada de minério.
[2]Cada cultivo continha da ordem de 10^9cels.mL^{-1}.

Tabela 4: Descrição dos ensaios controles.

Ensaio	Descrição				
	MKM pH 1,8 (mL)	Minério (g)	Enxofre (g)	Inóculo	Biocida
MOAC*	200	8	-	-	-
MO	200	8	-	-	-
MOS	200	8	0,11	-	-
MOSE	192	8	0,11	-	8 mL formaldeído

*MOAC: Ensaio no qual foi feito ajuste de pH durante todo o período de duração do experimento visando reproduzir a lixiviação ácida convencional.

Em cada um dos frascos, foi feita a adição de minério e da solução MKM e, antes de adicionar o inóculo estabelecido e o enxofre elementar, foi realizado o ajuste de pH para 2,0 por meio da adição da solução de ácido sulfúrico.

Os ensaios MOT, MOTS, MOFS e MOTFS tiveram como objetivo avaliar a capacidade de *A. thiooxidans* e de *A. ferrooxidans,* tanto isoladamente quanto em um cultivo misto, na produção de ácido sulfúrico a partir da oxidação do enxofre elementar.

A partir dos ensaios denominados controles, descritos na Tabela 4, foi possível: i) simular uma lixiviação ácida convencional (ensaio MOAC), por meio da adição H_2SO_4, sempre que necessário, para manter o pH igual 2,0 ao longo de todo o período de duração do experimento; ii) avaliar a ação do ácido adicionado, tão somente no momento da montagem do sistema (ensaio MO); iii) avaliar a influencia dos micro-organismos autóctones, possivelmente presentes no minério, na produção de ácido e, consequentemente, na dissolução do cobre (ensaio MOS); e, por fim, iv) avaliar a dissolução de cobre em meio isento de micro-organismos oxidantes de ferro e/ou enxofre (ensaio MOSE), para tanto adicionou-se, no sistema, 4% v/v de formaldeído, conforme já utilizado por Sérvulo (1991) e Oliveira (2009), como forma de eliminar as populações de micro-organismos endógenos.

Os frascos Erlenmeyer foram incubados em mesa agitadora New Brunswick R44, sob agitação de 150 rpm, numa temperatura de 30°C por um período de 7 dias.

Diariamente foi realizado o monitoramento do pH e, após 2, 4 e 7 dias, a contar do início do experimento, alíquotas foram amostradas para determinação das concentrações de cobre em solução.

Antes de cada amostragem, realizou-se o monitoramento da perda de água por evaporação, em cada frasco, sendo estimada pela perda de massa e compensada pela adição de água destilada.

Foram utilizadas amostras minerais não esterilizadas procurando, dessa forma, estabelecer condições próximas à realidade, quando da ampliação de escala e aplicação industrial. Além disso, é procedimento comum utilizar sistemas não esterilizados em experimentos de biolixiviação (OLIVEIRA, 2009; DONG et al., 2013; MANAFI; ABDOLLAHI; TUOVINEN, 2013; ABDOLLAHI et. al., 2014; WANG et al.,

2014; BELLO et. al., 2015) dada a impossibilidade de esterilizar o minério sem comprometer sua composição química e mineralógica.

3.3.5. Avaliação da extração de cobre, em colunas, com produção in situ de ácido sulfúrico

Uma vez avaliadas as condições experimentais que podem ser utilizadas na extração de cobre a partir de um minério, é necessário realizar experimentos em um sistema reacional que seja o mais próximo possível da realidade de uma operação em escala de produção. Para isso, são utilizadas colunas cujas dimensões são definidas de acordo com a escala de trabalho (bancada, semipiloto ou piloto). Neste estudo optou-se pela escala semipiloto e os testes realizados nesse sistema estático visam simular uma seção de uma pilha de lixiviação em processo de percolação.

Na constituição do leito mineral, foi adicionado enxofre elementar, numa operação de aglomeração minério-enxofre, visando à geração de ácido sulfúrico a partir da ação dos micro-organismos adicionados ao sistema.

O enxofre utilizado precisou ser submetido, previamente, a um processo de hidrofilização visto que o mesmo apresenta, naturalmente, comportamento hidrofóbico. O detalhamento do procedimento de hidrofilização de enxofre, sua aglomeração ao minério, bem como o carregamento e operação das colunas seguem descritos, nos itens subsequentes.

3.3.5.1 Condicionamento de enxofre

O condicionamento do S° foi realizado a partir da sua adição (10, 20 ou 40 g, dependendo do ensaio) em frasco Erlenmeyer de 250 mL contendo 70 mL de solução MKM em pH 2,0 e 30 mL de um cultivo de *A. thiooxidans* contendo 10^9 céls.mL^{-1} (Figura 19).

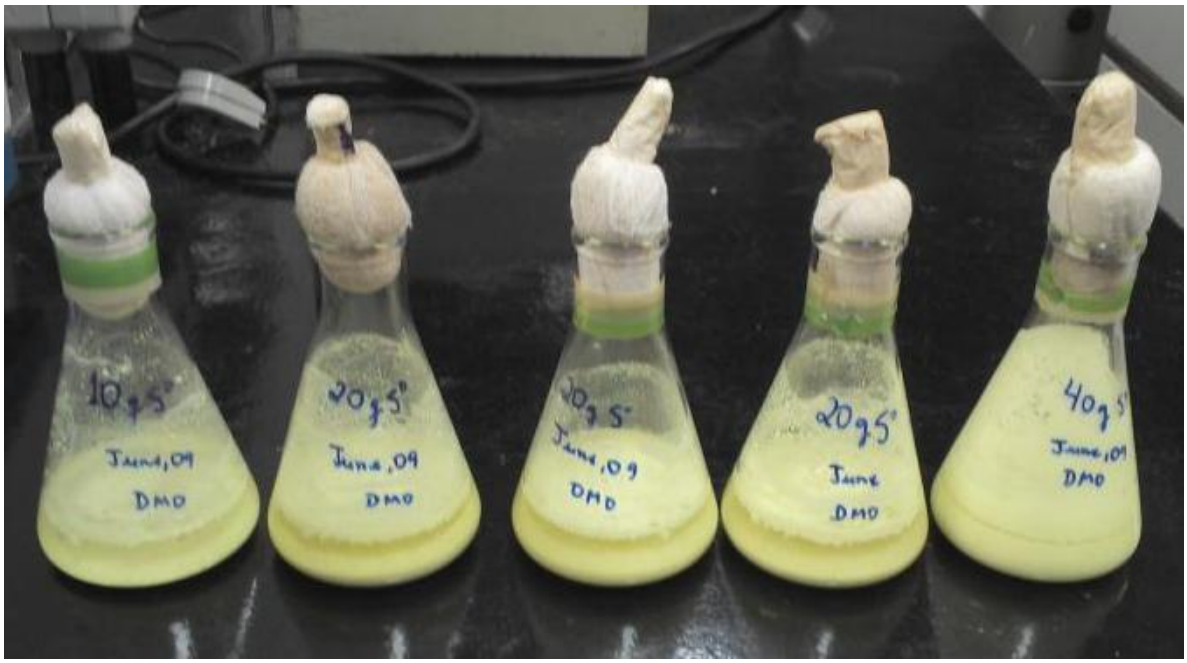

Figura19: Hidrofilização do enxofre elementar.

A suspensão foi incubada sob temperatura de 30°C e agitação orbital de 150 rpm durante 18 horas. Considerando a capacidade de A. *thiooxidans* de produzir agente tensoativo (fosfolipídeo), o S° hidrofilizado, conforme descrito por Bruynesteyn (2004), para utilização nas colunas de lixiviação.

3.3.5.2 Aglomeração

O enxofre hidrofilizado foi utilizado no recobrimento do minério intemperizado de cobre na faixa granulométrica de 3,36 e 12,7 mm, com a carga sendo girada no interior de um aglomerador inclinado (Figura 20). A suspensão de enxofre foi lentamente vertida sobre o mineral, resultando na formação de uma camada uniforme de enxofre que recobria todas as partículas minerais.

Figura 20: Procedimento de incorporação de enxofre ao minério.

O volume de polpa de enxofre utilizado foi suficiente para proporcionar uma camada úmida de enxofre sem excesso de solução. Previamente à adição da polpa de enxofre foi feita a adição de um volume de inóculo equivalente à 10^6 células por grama de minério. O cultivo misto foi preparado a partir da mistura, na proporção 1:1, de *A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans.*

3.3.5.3 Lixiviação em colunas

Foram utilizadas colunas confeccionadas em polipropileno com dimensões internas de 9,5 cm de diâmetro por 60 cm de altura. As colunas foram carregadas com uma massa de 3 kg de minério intemperizado de cobre.

Um leito de 700 g de quartzo foi adicionado à sua base, antes do

carregamento do minério propriamente dito, a fim de se evitar o entupimento do sistema (colmatação) pela segregação de partículas finas que por ventura pudessem obstruir a passagem da solução lixiviante, ou seja, a função do quartzo nesse caso é de ancoragem das partículas finas que podem ser geradas no decorrer do processo de lixiviação. Sobre o leito de minério, então constituído, foi depositada uma camada de 500 g de quartzo com função de auxiliar na dispersão da solução usada na irrigação.

Todas as colunas foram alimentadas pelo topo a partir de recipientes contendo solução de sais básicos do meio MKM a uma vazão de 10 $L/h/m^2$ e essa solução foi recirculada durante todo o período de duração do experimento. O leito mineral foi aerado por meio de um fluxo ascendente de ar umidificado[4] a uma vazão de 0,5 $L.min^{-1}$.

A Figura 21 apresenta um esquema representativo do sistema de lixiviação em coluna.

[4] O ar foi umidificado pela passagem em uma coluna de água contida num frasco denominado frasco umidificador.

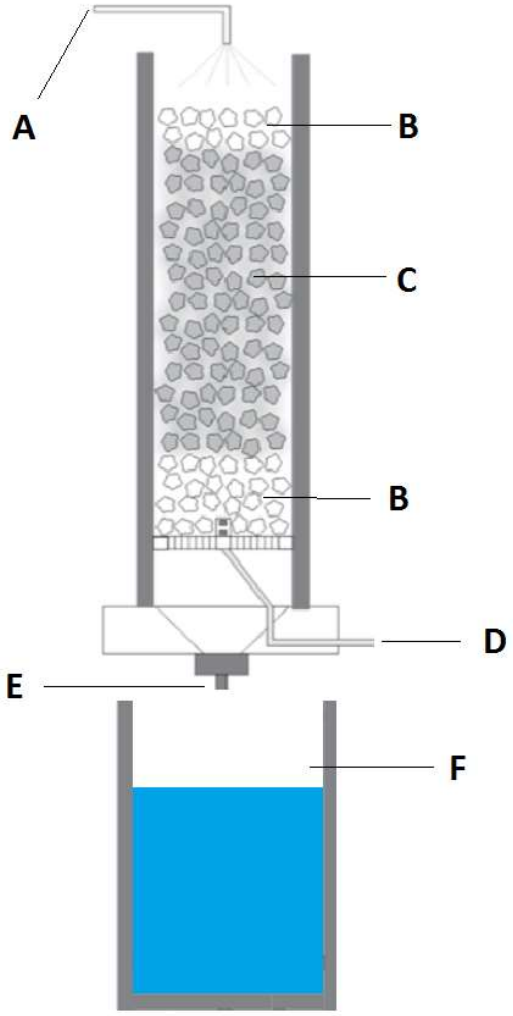

Figura 21: Esquema representativo do sistema de lixiviação em coluna. Tem-se: (A) Alimentação de solução de irrigação; (B) Camada de rocha inerte (quartzo); (C) Leito mineral; (D) Suprimento de ar; (E) Saída de solução e; (F) Reservatório de lixívia.

Algumas colunas foram operadas sob temperatura ambiente (23°C) e algumas foram mantidas a 30°C por meio de um sistema de aquecimento. O volume do tanque de lixívia variou de 2 a 3 L nos ensaios sob temperatura ambiente (Figura 22) e, para condução de ensaios sob temperatura controlada, um volume maior de solução (23 L) foi necessário para o bom funcionamento do sistema de aquecimento e manutenção da temperatura em 30 °C (Figura 23).

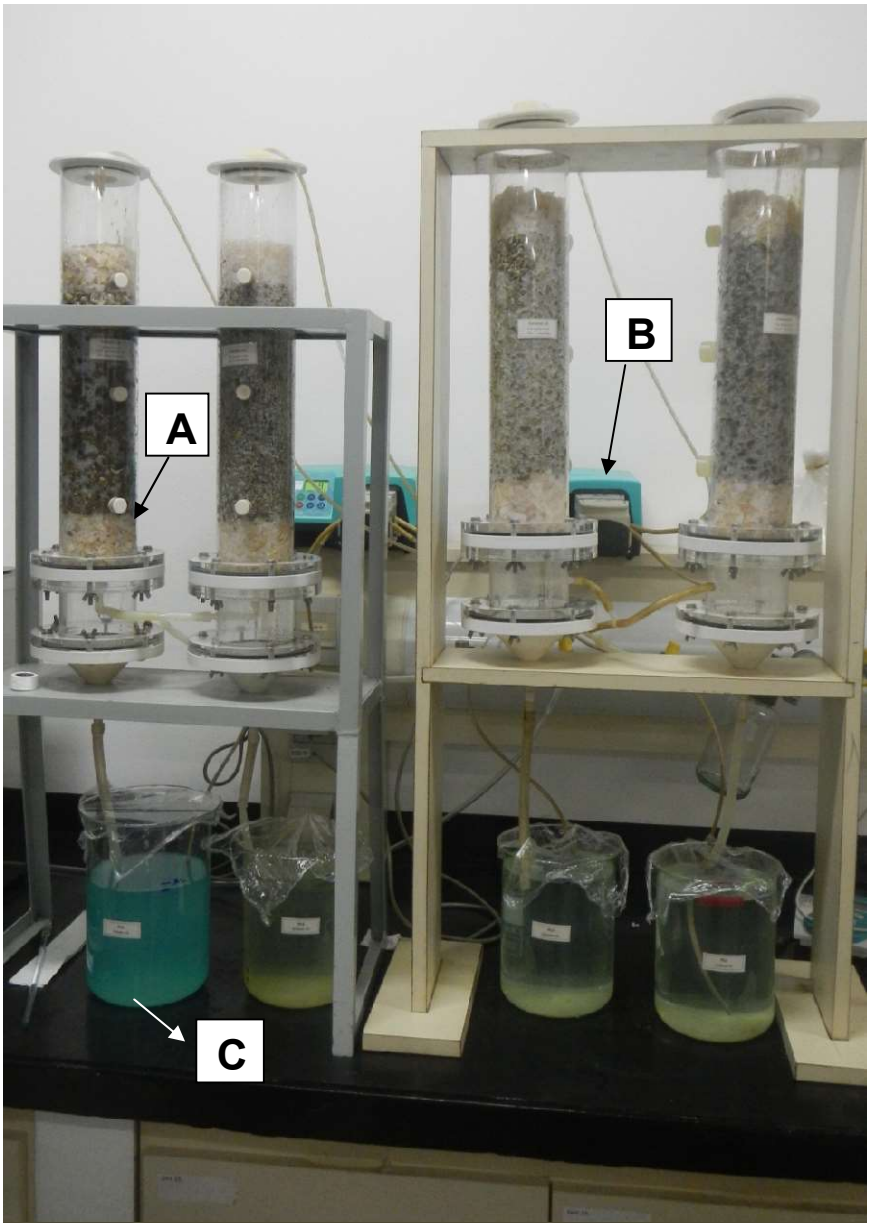

Figura 2: Ensaios de lixiviação em colunas sob temperatura ambiente, onde: A: coluna de lixiviação; B: Bomba peristáltica; e C: reservatório de lixívia.

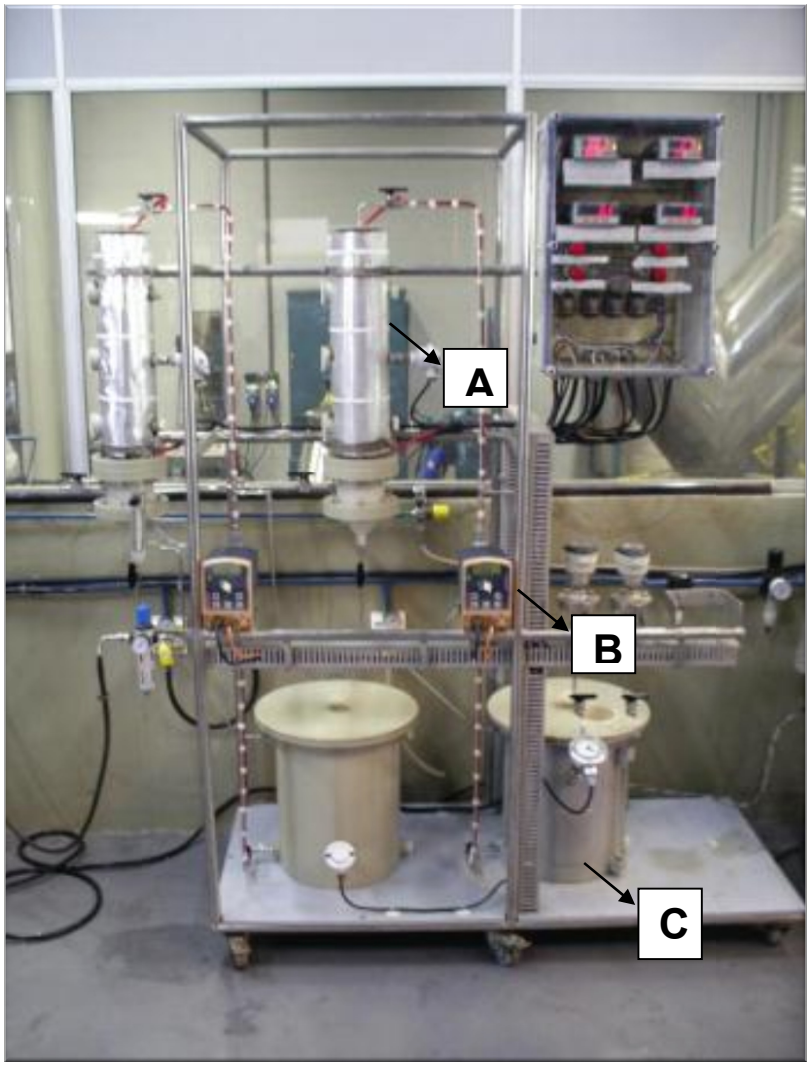

Figura 23: Colunas de lixiviação dotadas de sistema aquecimento/resfriamento pra controle de temperatura, onde: (A) Coluna de polipropileno; (B) Bomba peristáltica para recirculação da solução contida no reservatório de lixívia (C) Reservatório de lixívia.

As Tabelas 5, 6, 7 e 8, a seguir, contêm a descrição dos parâmetros empregados nos testes. Em cada uma das colunas foi adicionada a mesma massa de minério (3 kg) com tamanho de partícula situado entre 3,36 e 12,7 mm.

Tabela 5: Lixiviação do minério intemperizado utilizando ácido sulfúrico diluído em comparação ao ácido produzido biologicamente no leito mineral sob temperatura de 23°C e reator contendo 3 L de solução.

Método de britagem	S^o, $kg.t^{-1}$ de minério	Inóculo	Adição de ácido
Britador de mandíbulas	6,67	*A. thiooxidans*	No início
Britador de mandíbulas	6,67	*A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*	No início
Britador de mandíbulas	0	Sem adição	Para manter o pH em 2
Britador de mandíbulas	0	Sem adição	Sem adição

Tabela 6: Lixiviação do minério intemperizado sob temperatura de 30°C com produção biológica, in situ, de H_2SO_4 sob temperatura de 30°C e reator contendo 23 L de solução.

Método de britagem	S^o, $kg.t^{-1}$ de minério	Inóculo	Adição de ácido
Britador de mandíbulas	6,67	*A. thiooxidans*	No início
Britador de mandíbulas	6,67	*A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*	No início

Tabela 7: Lixiviação do minério intemperizado: avaliação do processo extrativo a partir de amostra britada em HPGR. Temperatura de 30°C e reator contendo 23 L de solução.

.

Método de britagem	S^o, $kg.t^{-1}$ de minério	Inóculo	Adição de ácido
HPGR	6,67	*A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*	No início

Tabela 8: Lixiviação do minério intemperizado de cobre com diferentes cargas de enxofre elementar. Temperatura de 23°C e reator contendo 3 L de solução.

Método de britagem	S^o, $kg.t^{-1}$ minério	Inóculo	Adição de ácido
Britador de mandíbulas	3,33	*A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*	No início
Britador de mandíbulas	13,3	*A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*	No início
Britador de mandíbulas	6,67	*A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*	No início
Britador de mandíbulas	6,67 (no topo)*	*A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*	No início

*Nesse ensaio, o S° foi adicionado apenas na parte superior do leito mineral mais especificamente, em 320 g que corresponde a 11% da massa de minério. Isso equivale a 6,67 kg $S°.t^{-1}$ na coluna com 3,0 kg de minério ou 62,5 kg $S°.t^{-1}$ na massa de 320 g.

Após carregamento, as colunas foram submetidas a um tempo de cura de 24 horas e, somente após esse período, foi iniciada a irrigação do leito mineral com a solução de sais básicos do meio MKM. A irrigação ocorreu de modo contínuo a partir do bombeamento, por bomba dosadora, da solução do tanque reservatório até topo da coluna.

O pH e o potencial de oxi-redução (Eh) da solução do tanque reservatório foram aferidos de 4 a 5 vezes por semana. Periodicamente, alíquotas da solução eram retiradas para análise do cobre e do ferro dissolvidos, bem como para a determinação da concentração de sulfato.

Cada teste de lixiviação foi finalizado quando a curva de concentração de cobre dissolvido se tendia a ficar assintótica ao eixo do tempo. Ao final de cada ensaio, o leito mineral foi lavado por meio de irrigação de 2,0 L de água deionizada. Em seguida foi submetido à secagem em estufa, sob temperatura de 40°C, foi pesado, homogeneizado e quarteado, resultando em uma amostra representativa de cada coluna. As amostras foram, então, pulverizadas e submetidas à abertura química com água régia para subseqüente análise do cobre residual.

O percentual de extração de cobre foi determinado conforme a Equação 25:

$$\%\ \text{de Extração de Cu} = \left[\frac{(\text{Cu em solução } (g))}{(\text{Cu em solução } (g) + \text{Cu no resíduo sólido } (g))}\right] \text{x } 100 \qquad (25)$$

A quantidade de cobre removida durante as amostragens foi considerada nos cálculos.

A taxa diária de extração de cobre foi calculada nos ensaios nos quais foram adicionados diferentes quantidades de S°. As taxas foram determinadas por regressão linear da porção linear da curva de extração de cobre em função do tempo, com base em 6 a 9 amostras de soluções coletadas ao longo de um período de tempo mínimo de duas semanas.

3.3.6 Determinações Analíticas e Monitoramento de Parâmetros Operacionais

3.3.6.1 pH e Potencial de oxi-redução

As medidas de pH e potencial de oxi-redução foram realizadas utilizando o equipamento ANALION AN2000 com o auxílio de eletrodo combinado de vidro e eletrodo de Platina (contra Ag°/AgCl), respectivamente.

Entre as medições dos sistemas de lixiviação, a fim de proceder à descontaminação dos eletrodos, esses foram imersos em solução de formaldeído 5% v/v durante um período de 15 minutos. Mascarin (1999) e Oliveira (2009) demonstraram que esse procedimento é eficiente para evitar a contaminação cruzada.

3.3.6.2 Análise das concentrações de sulfato em solução

As concentrações de sulfato foram determinadas por método turbidimétrico utilizando o Kit de teste Hach Sulfaver. Esse método é baseado na reação que ocorre entre os íons sulfato presentes na amostra a ser analisada e o cloreto de bário contido no kit, formando um precipitado branco de sulfato de bário. A turbidez formada é diretamente proporcional à concentração de sulfato.

As análises foram realizadas imediatamente após a coleta das amostras, sendo as alíquotas previamente filtradas em membrana *Millipore* com 0,22 µm de diâmetro de poro.

A determinação da concentração de sulfato consistiu na mistura, em um Becker com capacidade para 25 ml, da amostra adequadamente diluída em um volume total de 10 mL e os reagentes contidos no envelope do kit Hach. Após agitação orbital manual da suspensão aguardou-se o período de 10 minutos, então, proceder com a leitura no espectrofotômetro *Lamatte Smart Spectro* sob comprimento de onda de 420 nm. Os valores de absorbância lidos foram utilizados no cálculo de concentração de sulfato utilizando a curva de calibração previamente estabelecida a partir da leitura, sob o mesmo comprimento de onda, de soluções padrões de 7,0; 14,0; 21,0; 35,0; 40,0 e 70,0 mg L^{-1} de SO_4^{2-}, preparadas a partir da diluição de uma solução padrão de 100 mg.L^{-1} de SO_4^{2-} (Na_2SO_4).

3.3.6.3 Cobre

As concentrações de cobre em solução foram determinadas no laboratório de análises químicas do CETEM por espectrometria de absorção atômica no equipamento *Varian Spectra A 50B*.

3.3.6.4 Concentração Celular

As contagens de células foram realizadas em microscópio óptico Coleman acoplado ao contraste de fases N200, com o auxílio da Câmara de *Thoma* (PLUMB, MCSWEENEY; FRANZMANN, 2008; MOUSAVI et al., 2008; TUPIKINA et al., 2005; OLIVEIRA, 2009). Foram utilizadas amostras adequadamente diluídas para permitir uma contagem total entre 150 e 300 células em volume de 1 mm^3, correspondente aos 16 quadrantes centrais da câmara. Considerando as dimensões da câmara, a concentração celular é dada segundo a Equação 26, a seguir.

$$\text{n° de células.mL}^{-1} = \left(\frac{\text{Total de células contadas}}{\text{n° de quadrados contados}} \text{ x } 4 \text{ x } 10^6\right) \text{x diluição} \qquad (266)$$

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente capítulo trata da apresentação dos resultados obtidos na caracterização tecnológica simplificada do minério intemperizado de cobre e na realização dos ensaios preliminares de lixiviação em frascos agitados. É contemplada, nesta sequência, uma avaliação comparativa da lixiviação em colunas de: i) um leito mineral percolado apenas com água deionizada; ii) a lixiviação com ácido sulfúrico diluído simulando uma lixiviação ácida convencional. iii) a lixiviação do minério pela ação do ácido sulfúrico produzido por rota biotecnológica, diretamente na superfície do minério sob temperatura ambiente (23°C); iv) a lixiviação sob temperatura de 30°C e com distintos métodos de britagem do minério; v) a lixiviação do minério intemperizado de cobre com diferentes cargas de enxofre elementar e, por fim; vi) o efeito da adição de enxofre elementar somente na camada superior do leito mineral, como uma simulação de aplicação de S° em uma pilha de minério já em operação.

4.1 CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA SIMPLIFICADA DO MINÉRIO INTEMPERIZADO DE COBRE

A análise química do minério revelou a distribuição dos principais elementos presentes. Os resultados dessa análise são expostos na Tabela 9.

Tabela 9: Teor dos principais elementos químicos presentes no minério intemperizado de cobre.

Elemento	Teor (%)
Cu	0,64
Fe	4,57
Ca	0,50
Mg	2,57
K	0,88

Nota-se que o minério apresenta quantidades apreciáveis de Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e de Potássio (K). À medida que ocorre a dissolução dos minerais durante o processo de lixiviação, esses elementos ficam disponíveis como fonte de nutrientes para as bactérias lixiviantes (JONGLERTJUNYA, 2003).

O refinamento da análise por Difração de Raios-X, feita pelo método de Rietveld determinou, de forma semi-quantitativa, a composição mineralógica do minério, conforme mostra o Quadro 3, a seguir.

Mineral	**% Rietveld**
Anortita	30,2
Actinolita	11,8
Enstatita	11,3
Talco	10,4
Quartzo	10,4
Caolinita (BISH)	7,4
Ortoclasio	4,9
Flogopita 1M Mica	2,6
Chamosita	1,8
Dolomita	1,8
Antigorita	1,4
Magnetita	1,3
Brocantita	1,3
Hastingsita	1,2
Malaquita	0,9
Bornita	0,8
Azurita	0,3
Cristobalita	0,1
Cuprita	0,1

Quadro 3: Composição mineralógica da amostra estudada.

Além da presença dos minerais intemperizados de cobre (*i.e.*, brocantita, cuprita, malaquita e azurita), nota-se, também, o surgimento da bornita. A presença desse sulfeto mineral se justifica, pois, durante a remoção da capa intemperizada de um dado jazimento, é comum ser removido, também, uma camada de minério da zona de transição. Por essa razão, espécies mineralógicas como sulfetos secundários, à exemplo da bornita, são encontrados nesse tipo de amostra de minério intemperizado.

4.2 EXPERIMENTO PRELIMINAR: PRODUÇÃO IN VITRO DE ÁCIDO SULFÚRICO NA LIXIVIAÇÃO DE MINÉRIO INTEMPERIZADO DE COBRE

Como mostrado na Figura 24, após 7 dias de processo obteve-se percentuais de extração superiores a 91% nos ensaios onde os micro-organismos foram responsáveis pela produção de ácido sulfúrico. Esses valores estão muito próximos ao obtido a partir da lixiviação ácida convencional (ensaio MOAC), no qual extraiu-se 93,44% de cobre no mesmo período de tempo à custa de um consumo de ácido equivalente a 35,53 kg por tonelada de minério.

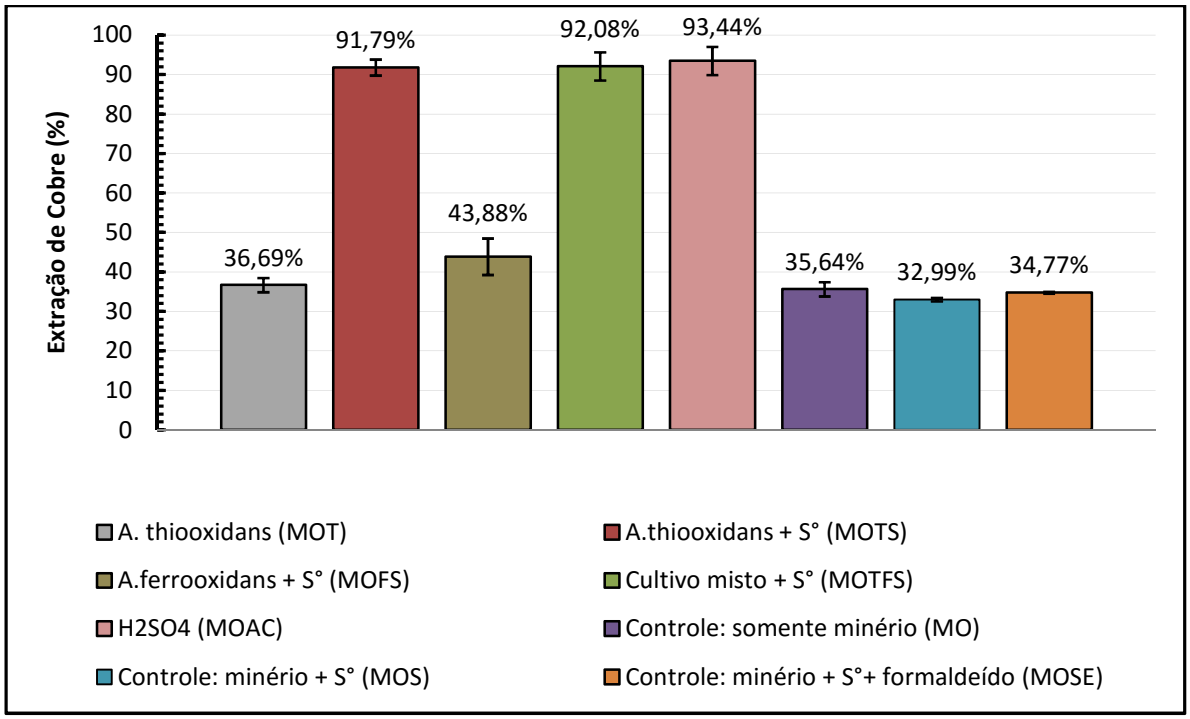

Figura 24: Extração de cobre nos ensaios após 7 dias de lixiviação em frascos agitados.

Em um estudo recente Falagán, Grail e Johnson (2017) testaram diferentes condições experimentais na biolixiviação de um rejeito de minério de cobre, em sistema agitado. Ao adicionar 2% de S°, como doador de elétrons para a produção de ácido sulfúrico, eles observaram uma redução do pH inicial de 1,8 para 1,0, garantindo a acidez necessária para o processo de biolixiviação dos sulfetos minerais constituintes daquela amostra mineral, sem que houvesse a necessidade de acrescentar ácido sulfúrico durante o processo. Bello et. al. (2015) avaliaram a

adição de enxofre elementar nos sistemas de biolixiviação de minério primário de cobre em colunas como forma de reduzir a adição de ácido sulfúrico. Eles observaram que, mesmo com a incorporação de uma massa de enxofre equivalente a 9,33 kg por tonelada de minério, foi necessário realizar ajustes de pH por meio da adição de ácido sulfúrico no reservatório de lixívia totalizando um consumo de ácido de 12 $kg.t^{-1}$. Nesse caso, a adição de S° não se mostrou efetiva como única opção para manutenção do pH na faixa ácida adequada (pH inferior a 2,0) pois, por se tratar de um minério primário, sua composição inclui sulfetos minerais que possuem ferro em sua estrutura. Quando ocorre a oxidação desses sulfetos, íons ferrosos (Fe^{2+}) e férricos (Fe^{3+}) são disponibilizados em solução e é preciso que ocorra um controle muito preciso do pH para evitar que sua elevação, para valores próximo a 3,0, promova a precipitação de hidróxido férrico ($Fe(OH)_3$) e, consequentemente, a selagem da pilha de lixiviação. Por esta razão, eles adicionaram ácido e não obtiveram sucesso na tentativa de garantir o fornecimento de H_2SO_4 somente a partir da bio-oxidação do S°. Essa precipitação de hidróxido férrico é indesejada desde o início do processo, pois pode promover, ainda, a formação dos caminhos preferenciais já que a região que contém tal hidróxido deixa de ser lixiviada por não ser contactada pela solução ácida que busca percolar por caminhos pelos quais ela possa permear.

Em todos os ensaios controles ocorreu solubilização do cobre, variando desde 32,99 a 36,69% de extração. A reação de dissolução de parte dos minerais de cobre foi devido ao ácido adicionado na solução lixiviante. As espécies minerais intemperizadas são facilmente lixiviadas em soluções levemente ácidas (DOMIC, 2001). Minerais como a bornita (Cu_5FeS_4), que é um sulfeto mineral oriundo da intemperização parcial da calcopirita ($CuFeS_2$) (LU et. al., 2016), também se dissolvem facilmente nesse sistema (Equação 27).

$$4Cu_5FeS_4 + 37O_2 + 10H_2SO_4 \rightarrow 20CuSO_4 + 2Fe_2(SO_4)_3 + 10H_2O \qquad (277)$$

No ensaio controle, no qual foi adicionado formaldeído (controle abiótico), tem-se uma situação dicotômica, pois, se por um lado o formaldeído inibe o

crescimento das populações autóctones, dada a sua ação germicida[5] (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004; BERTANI; OLIVEIRA; ALVERNAZ, 2008), por outro a sua redução pode provocar, a solubilização de cobre mesmo a partir de minerais lábeis, como a bornita. Isso porque, em meio ácido, é esperada a redução do formaldeído a ácido fórmico (BARD; PARSONS; JORDAN, 1985) com geração de álcool metílico no sistema conforme a Equação 28.

$$\mathrm{HCOH} + 2\mathrm{H}^{+} + 2\mathrm{e}^{-} \rightarrow \mathrm{CH_3OH} \qquad (288)$$

Esse experimento preliminar teve como único objetivo avaliar a possibilidade do minério intemperizado de cobre ser lixiviado, tão somente, pelo ácido sulfúrico produzido a partir da bio-oxidação do enxofre elementar. Os satisfatórios resultados obtidos impulsionaram a continuidade do estudo em condições que mais se aproximam da realidade de uma operação industrial, isto é, a utilização de sistema estático, no qual o leito mineral é percolado pela solução lixiviante.

[5]A capacidade germicida do formaldeído se deve a alquilação de radicais amino, carboxil, oxidril e sulfidril de proteínas e ácidos nucléicos microbianos, formando pontes metilênicas ou etilênicas, o que impede que esses compostos celulares realizem suas funções.

4.3 AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COBRE, EM COLUNAS, COM PRODUÇÃO IN SITU DE ÁCIDO SULFÚRICO

4.3.1 Lixiviação do minério intemperizado utilizando ácido sulfúrico diluído em comparação ao ácido produzido, por rota biológica, no leito mineral

Foi feita a comparação da extração de cobre do ensaio no qual se efetuou a adição de ácido sulfúrico, para manter o pH em 2,0, com o ensaio no qual criou-se condições apropriadas para a geração biológica desse ácido. No primeiro caso, que é equivalente a uma lixiviação ácida convencional, o pH da solução recirculante foi ajustado de 4 a 5 vezes por semana por meio da adição de solução de H_2SO_4 5 M. Nos ensaios inoculados, utilizou-se ácido sulfúrico durante o preparo da solução do reservatório de lixívia (meio MKM pH 2,0) e em apenas uma ocasião nas colunas contendo micro-organismos, isto é, adicionou-se ácido no quinto dia de ensaio da coluna inoculada com o cultivo misto e também no décimo dia de teste da coluna contendo *A. thiooxidans*. Foi necessário realizar esse ajuste de pH pois, até esse momento, a bio-oxidação ainda não tinha produzido quantidade significativa de ácido e, consequentemente, o pH das soluções dos reservatórios de lixívia aumentou para aproximadamente 3,5. A Figura 25 apresenta a variação de pH ao longo do período de duração dos ensaios.

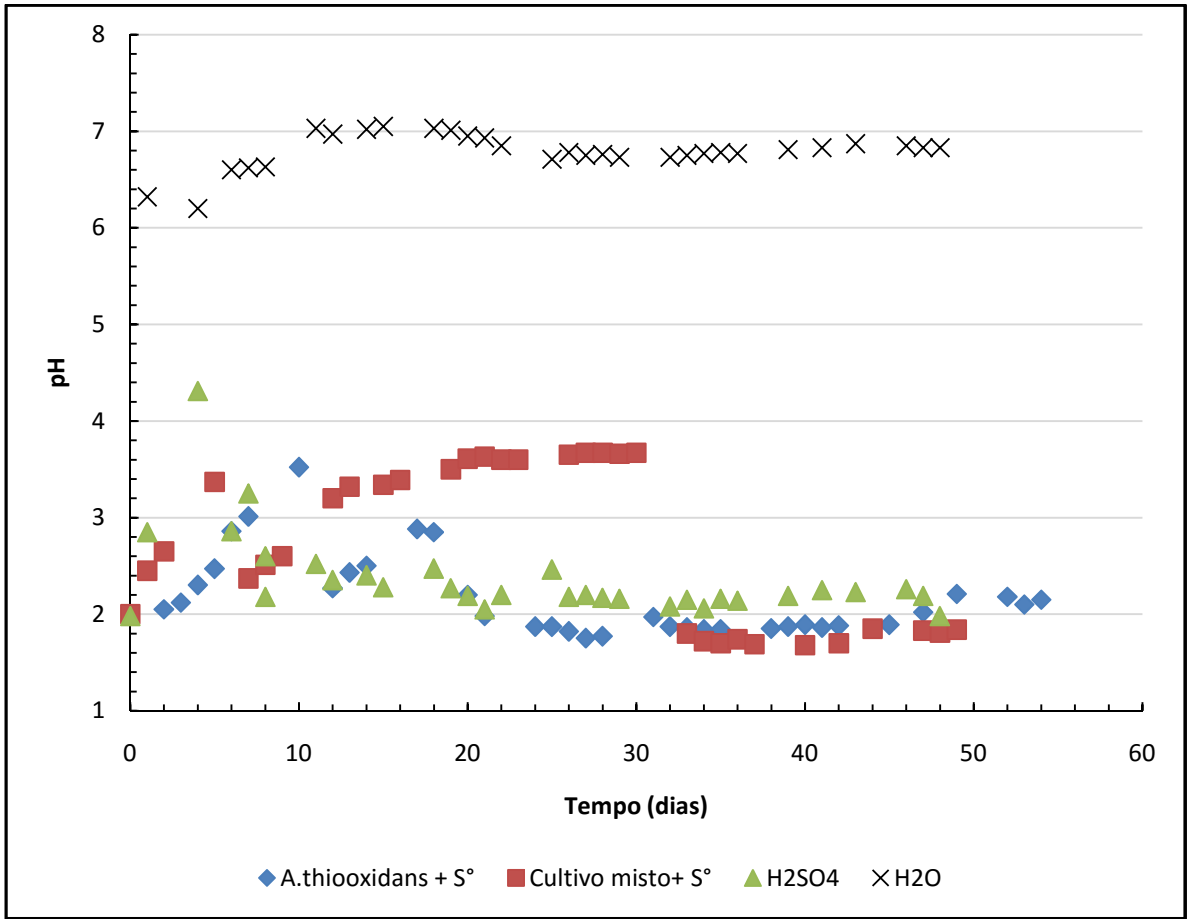

Figura 25: Variação do pH das soluções lixiviantes em função do tempo. Os valores de pH apresentados são referentes às medidas feitas antes da adição de H_2SO_4.

O pH da solução lixiviante começou a diminuir 20 dias após a inoculação de A. *thiooxidans*. Contudo, ao utilizar o cultivo misto (*A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*) a redução do pH para valores inferiores a 2,0 só ocorreu após o trigésimo terceiro dia de processo. Nota-se que, uma pequena bio-oxidação de enxofre ocorreu, antes de o pH diminuir para valores apropriados para a lixiviação do minério. Foi necessário um tempo mais estendido de crescimento microbiano antes da produção de ácido exceder seu consumo pelos minerais constituintes do minério intemperizado. O crescimento microbiano pode ter sido retardado à medida que os organismos precisaram se adaptar à temperatura do interior da coluna (23°C) em comparação com a temperatura em que os inóculos microbianos foram cultivados (30°C).

À medida que ocorreu o declínio do pH, observou-se um aumento na

concentração de cobre nas soluções das colunas inoculadas (Figura 26).

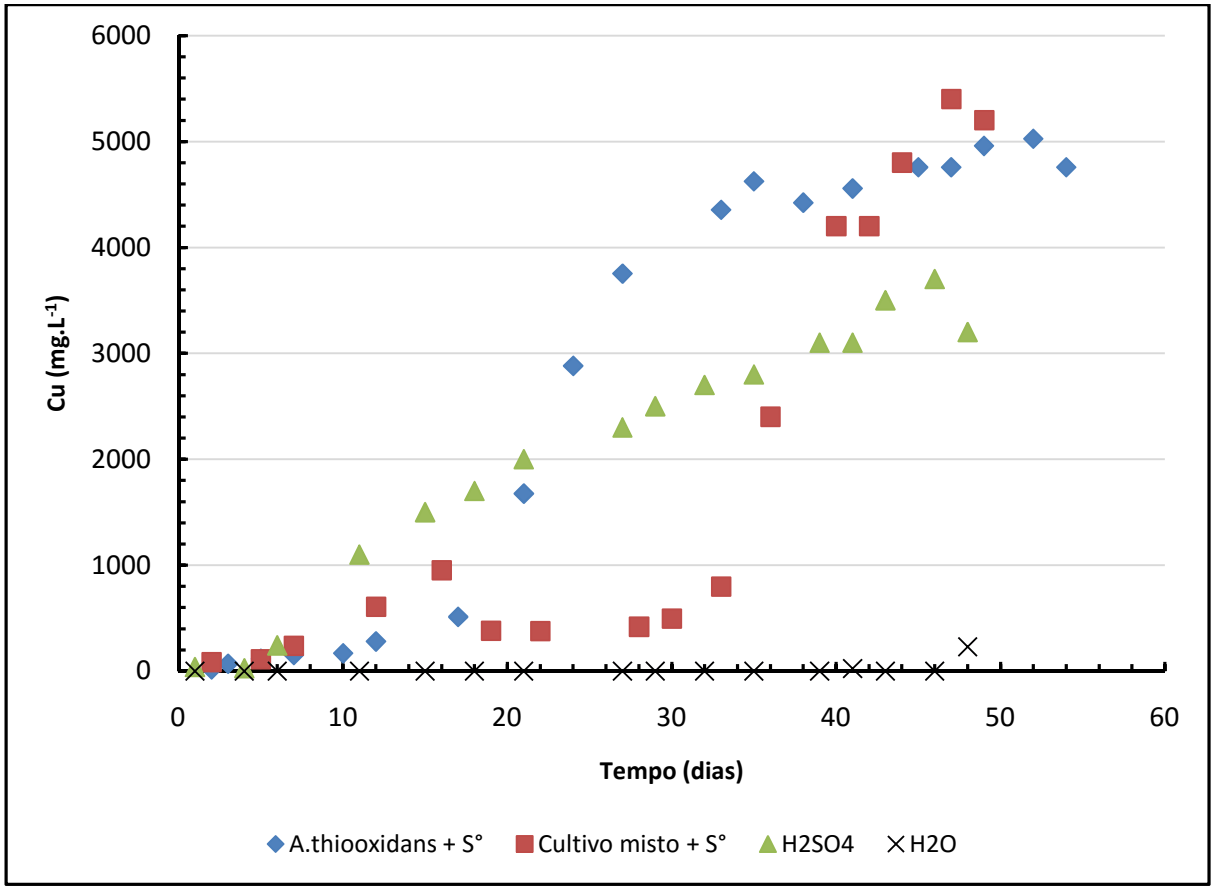

Figura 196: Variação da concentração de cobre nos ensaios de lixiviação de minério intemperizado de cobre.

Conforme esperado, a lixiviação ácida convencional (com adição de H_2SO_4) ocorreu de forma linear durante todo o período de duração do teste. Nesse caso, foi adicionado um total de 6,6 g de ácido por kg de minério durante 49 dias para manter o pH 2,0 no reservatório de lixívia.

A Figura 27 mostra como ocorreu a variação da concentração de íons H^+ ao longo do processo extrativo.

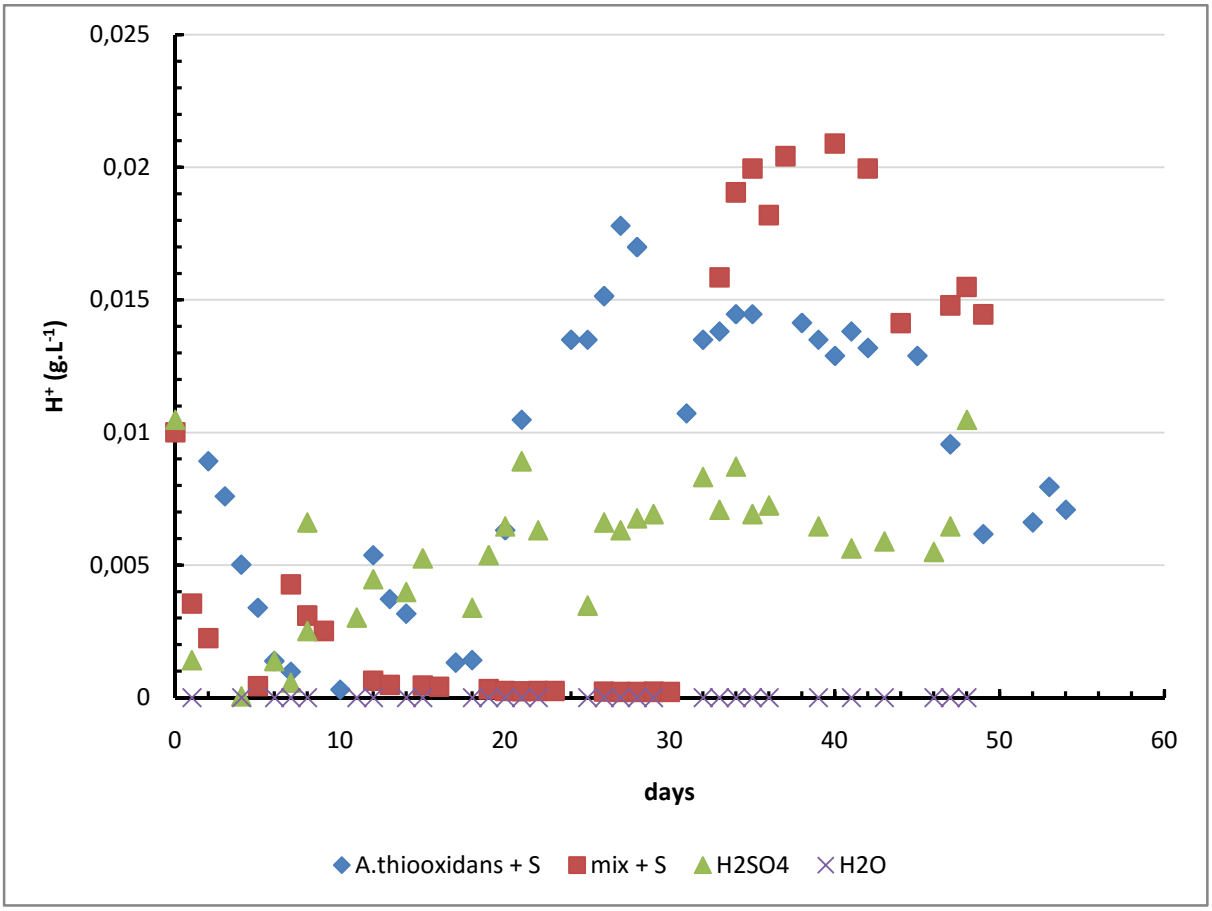

Figura 27: Concentração íons H^+ em solução durante o processo de lixiviação de minério intemperizado de cobre.

A cinética de solubilização do cobre ocorreu de forma diferenciada, quando da utilização de cultura pura de *A. thiooxidans* ou cultura mista (*A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*). Ao observar a Figura 27, constata-se que a geração de ácido, fator preponderante para a solubilidade das espécies minerais constituintes do minério em estudo, ocorre com uma cinética muito mais favorecida na coluna inoculada somente com *A. thiooxidans* em comparação com a cultura mista.

Considerando que *A. thiooxidans* é, nesse sistema reacional, o micro-organismo mais importante para a produção de ácido, em face de sua elevada capacidade de bio-oxidar o S°, pode-se afirmar que a sua atuação, juntamente com *A. ferrooxidans*, fica menos efetiva até o 30° dia de lixiviação. Convém comentar que, embora o ácido sulfúrico estivesse sendo gerado a todo o momento, somente a partir do 33° dia, a produção de ácido começou a acontecer de forma mais intensa na coluna contendo cultivo misto. A partir de então, observa-se um aumento da

cinética de extração de cobre.

Nesse mesmo tempo, observa-se a variação crescente do potencial redox do meio reacional para valores superiores à 700 mV *vs.* EPH (Eletrodo Padrão de Hidrogênio) (Figura 28). Essa elevação do potencial ocorreu à custa de: i) transformações oxidativas de enxofre elementar, com geração de íons sulfato; ii) da oxidação da magnetita, com geração de íons férricos (SALMIMIES et.al., 2014) e iii) da solubilização de cobre, não somente a partir de espécies provenientes do intemperismo mineral (*i.e.*, óxido, carbonato, sulfato, hidroxisulfato etc.), mas também a partir de sulfeto mineral como a bornita. Portanto, depreende-se que se justifica a elevação do potencial redox, diretamente relacionado com a geração de íons H^+ como conseqüência da intensificação da bio-oxidação do enxofre elementar.

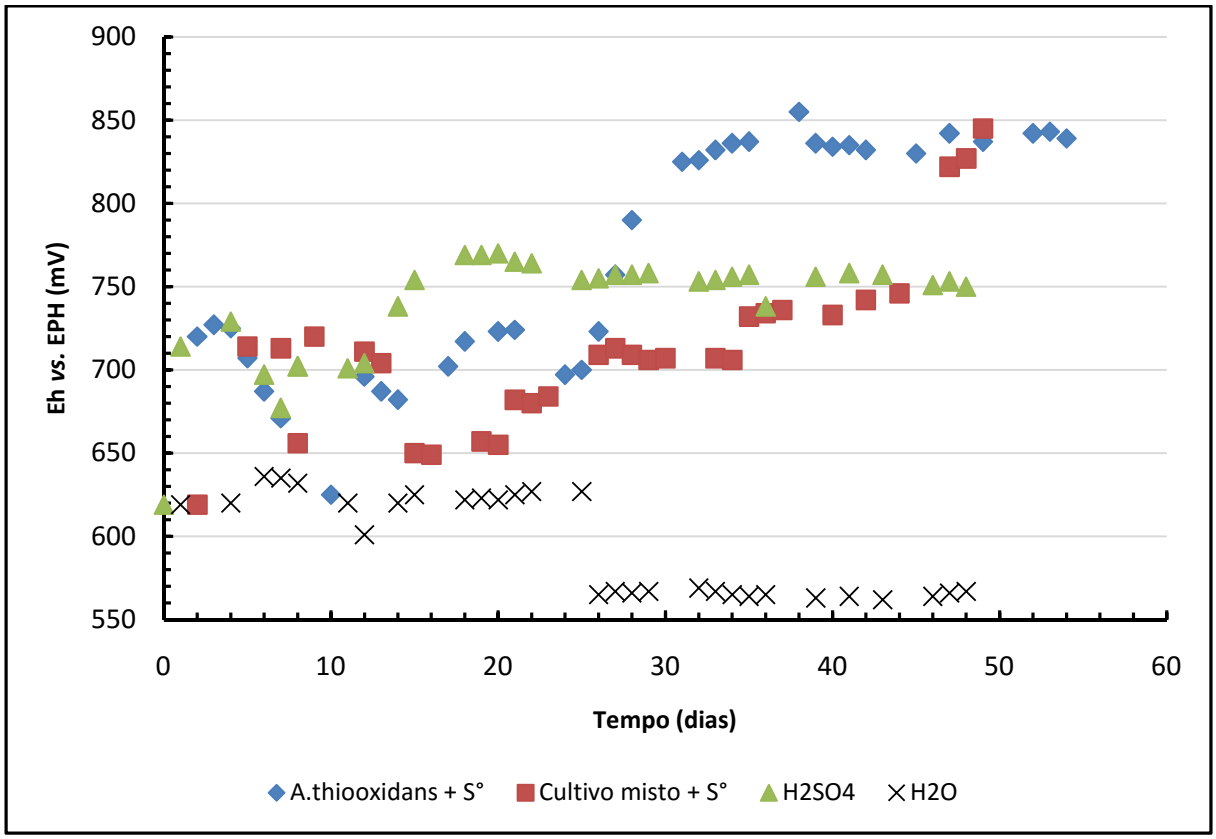

Figura 28: Variação do potencial formal durante o processo de lixiviação de minério intemperizado de cobre.

De acordo com Pecsok e Shields (1968), o referido potencial redox recebe uma conotação de potencial formal, pois considera a contribuição de distintas

espécies iônicas em jogo nesse processo bio-oxidativo, ou seja, ele é diretamente proporcional às concentrações das referidas espécies iônicas (Equação 29).

$$E_{formal} \alpha\ [Cu^{2+}]^{\uparrow}.\ [SO_4^{2-}]^{\uparrow}.\ [Fe^{3+}]^{\uparrow\downarrow} \quad (29)$$

Ao considerar o percentual de extração de cobre ao final do processo de lixiviação, resultados similares foram alcançados em ambos os sistemas no período experimental. A Tabela 10 mostra os resultados obtidos onde nota-se, ainda, que em comparação com a lixiviação química convencional, nos sistemas onde ocorreu a produção biológica de ácido sulfúrico, obteve-se maiores extrações de cobre.

Tabela 10: Extração de cobre nas colunas sob temperatura ambiente (23°C).

Inóculo	Tempo de operação (dias)	S° adicionado, $kg.t^{-1}$ de minério	H_2SO_4 adicionado, $kg.t^{-1}$ de minério	Extração de cobre (%)
A. *thiooxidans*	54	6,67	0,79	74,2
Cultivo misto	49	6,67	1,07	74,7
Sem inóculo	48	0	6,57	48,9
Sem inóculo	48	0	0	3,6

*n.d., não determinado.

Em relação à oxidação do S° incorporado ao leito mineral, pode-se afirmar que os micro-organismos promoveram a bio-oxidação de 76% do enxofre adicionado na coluna inoculada somente com *A. thiooxidans* enquanto 99% do enxofre foi bio-oxidado quando adicionado na coluna contendo o cultivo misto. Essa estimativa foi feita tomando como base a quantidade de sulfato presente na solução do reservatório de lixívia e o sulfato contido na água utilizada para a lavagem do leito mineral ao final dos ensaios. Subtraiu-se, ainda, o sulfato adicionado no início do processo quando as bactérias ainda não tinham produzido ácido suficiente para manter o pH na faixa ácida apropriada para a lixiviação (pH ≤ 2,0) e, descontando, também, a quantidade de sulfato que compõe o meio MKM.

Na coluna por onde foi percolada apenas água deionizada ocorreu uma elevação de pH na solução para valores superiores a 6,0 depois de apenas um dia

de processo, aumentando, lentamente, para 7,03 após 11 dias de lixiviação. Depois desse período, o pH permaneceu relativamente estável, variando de 6,73 a 7,05 até o final dos 48 dias de duração do teste. Sob essas condições experimentais, ocorre a elevação do pH para valores que propiciam a hidrólise dos íons cúpricos com formação do respectivo hidróxido insolúvel ($Cu(OH)_2$) (VOGEL, 1981), que permanece retido no leito mineral. Ao final do processo, a concentração de cobre solúvel no reservatório de lixívia foi relativamente pequena (230 $mg.L^{-1}$ ao final do ensaio) sendo correspondente a uma extração de 3,6% desse metal.

4.3.2 Lixiviação do minério intemperizado sob temperatura de 30°C com produção biológica, *in situ*, de H_2SO_4

Utilizando um sistema que permitiu manter a temperatura do leito mineral em 30°C, foi possível comparar a atuação do cultivo puro de *A. thiooxidans* com ação do cultivo misto constituído por *A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans* na produção de ácido sulfúrico para lixiviação do minério intemperizado de cobre. Sob essa temperatura ótima (NOVO et al., 2000; MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004; DONATI; SAND, 2006), percebeu-se que a extração de cobre ocorreu de forma mais rápida (Figura 29) e, por esta razão, os testes foram finalizados após 32 dias, momento no qual ocorreu a estabilização das concentrações de cobre em solução.

A extração final de cobre foi de 73,3% na coluna inoculada com *A. thiooxidans* e de 78,7% na coluna inoculada com o cultivo misto.

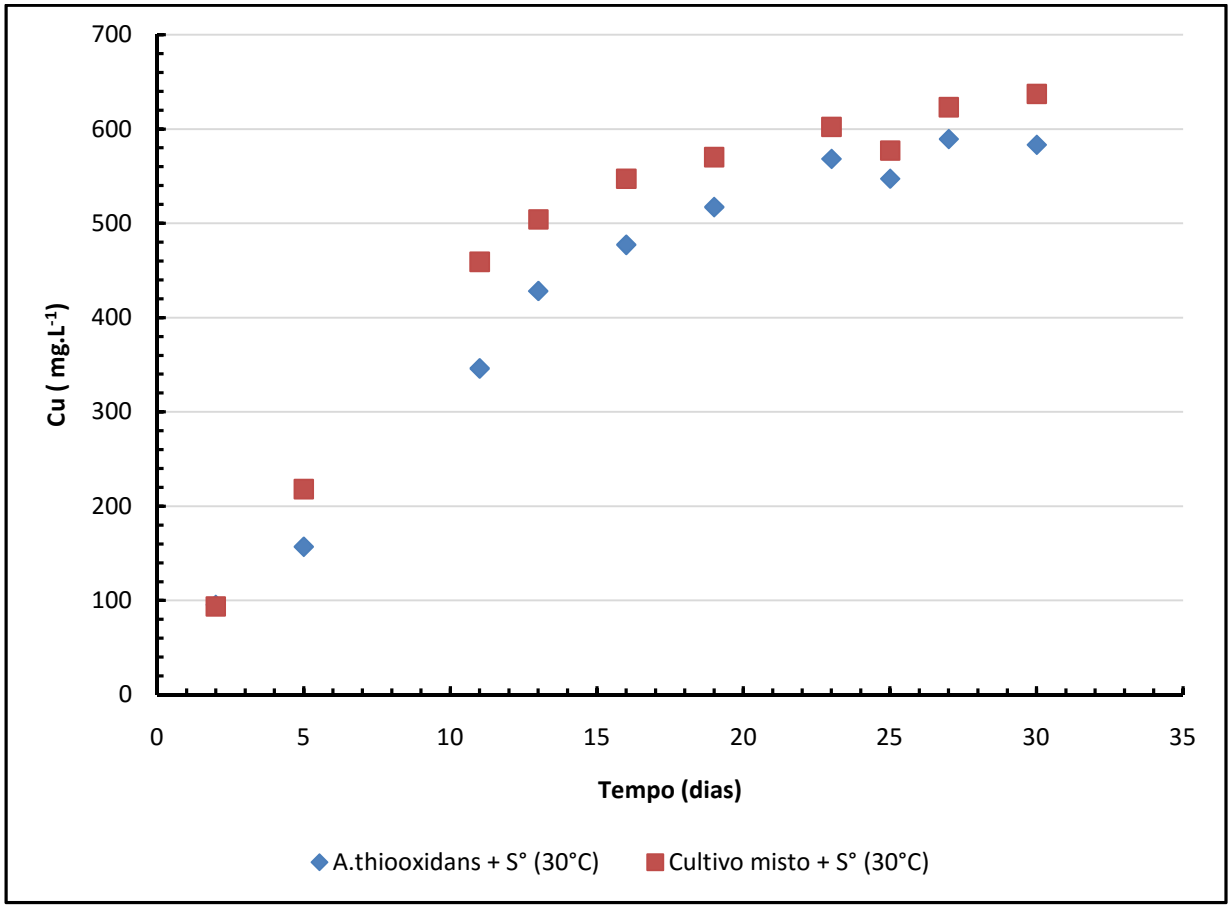

Figura 29: Solubilização de cobre ao longo do processo de lixiviação com controle da temperatura em 30°C.

A utilização de cultivo misto tem contribuído para maiores taxas de extração de metais a partir de minérios primários (QIU; XIONG; ZHANG, 2006; ZHANG et. al., 2008; LIU; GU; XU, 2011; AKINCI; GUVEN, 2011; ZHU et. al., 2011; YANG et. al., 2013; NKULU et. al., 2015; DENG et. al., 2017; WANG et. al., 2016; MA et. al., 2017).

A manutenção da temperatura em 30°C propiciou um ambiente mais apropriado para o metabolismo dos micro-organismos atuantes no processo. Isso resultou na redução da fase *lag*[6] de crescimento microbiano e, consequentemente, a produção de ácido ocorreu de modo mais efetivo propiciando o início da lixiviação

[6] *Lag*: é a fase que ocorre após a inoculação da estirpe em novo meio de cultivo. Pode ser curta ou longa, dependendo do histórico da cultura e das condições de cultivo (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004).

dos minerais de cobre ainda mais cedo quando comparado aos testes conduzidos sob temperatura ambiente (23°C). A Figura 30 mostra o aumento da concentração de sulfato em solução do reservatório de lixívia e, na Figura 31, observa-se a variação do pH ao longo do processo.

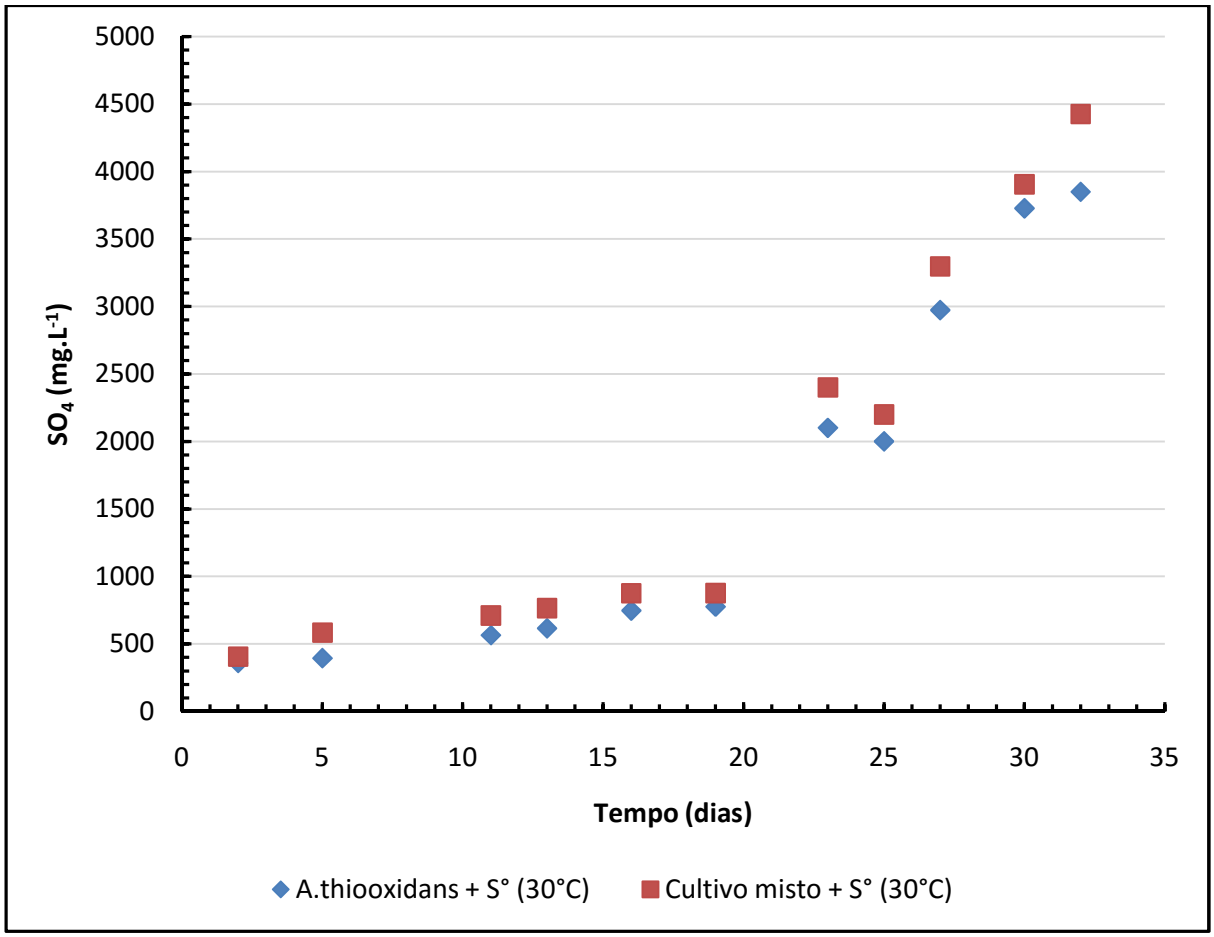

Figura 30: Variação da concentração de sulfato nos ensaios de lixiviação com controle da temperatura em 30°C.

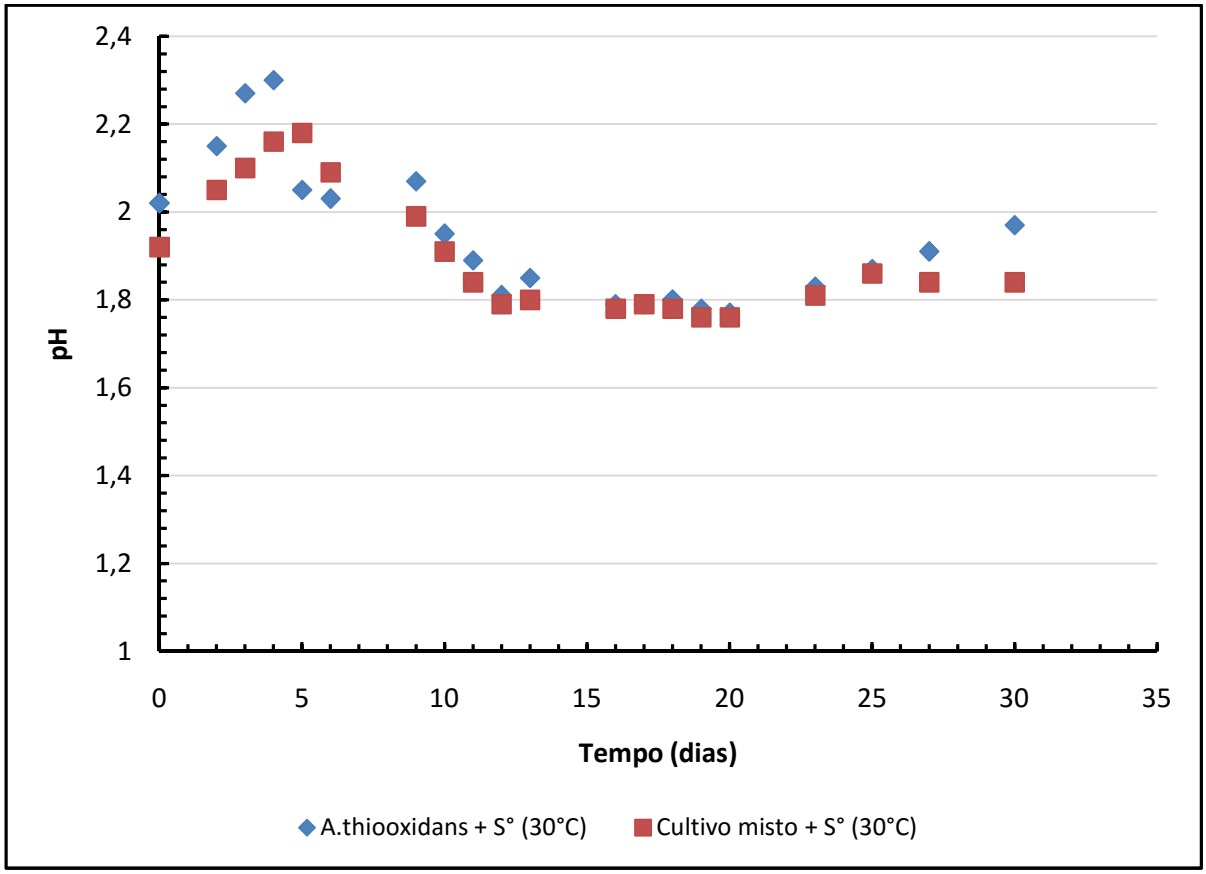

Figura 201: Variação de pH nos ensaios de lixiviação com controle da temperatura em 30°C.

Em ambos os ensaios, 100% do enxofre adicionado foi bio-oxidado. O controle da temperatura em 30°C foi um fator preponderante para aumentar a eficiência do processo. De acordo com Madigan, Martinko e Parker (2004) a temperatura é o fator ambiental mais importante que pode afetar o crescimento e a sobrevivência dos micro-organismos. A temperatura ótima é aquela em que o crescimento do micro-organismo ocorre rapidamente.

Convém comentar que, em uma pilha de lixiviação em escala industrial, em função das dimensões utilizadas e do teor de enxofre do minério, o leito mineral consegue manter o calor gerado durante as reações exotérmicas de dissolução dos minerais. Dessa forma, as regiões internas do leito mineral não ficam sujeitas às temperaturas inferiores a 30°C. Nesses casos, o controle da irrigação da solução lixiviante e da insuflação de ar tem sua importância não somente para recirculação de lixívia e de fornecimento de oxigênio, mas também exerce a função de controle de temperatura.

4.3.3 Lixiviação do minério intemperizado: avaliação do processo extrativo a partir de amostra britada em HPGR

No mesmo sistema empregado nos ensaios realizados com controle de temperatura, buscou-se avaliar a eficiência da técnica de britagem por HPGR em comparação com a britagem em britador de mandíbulas. Ao processar o minério com os rolos de alta pressão, ocorreu a formação de micro-fissuras nas partículas minerais. Essas microfissuras são geradas de uma forma indistinta entre e intra-partículas minerais (GOMES et. al., 2014) e essa técnica tem sido vista como promissora nos processamentos de minérios para posterior extração de metais pela biolixiviação (GHORBANI et. al., 2012).

A Figura 32 mostra a comparação da lixiviação das amostras de minério processadas por ambas as formas de britagem.

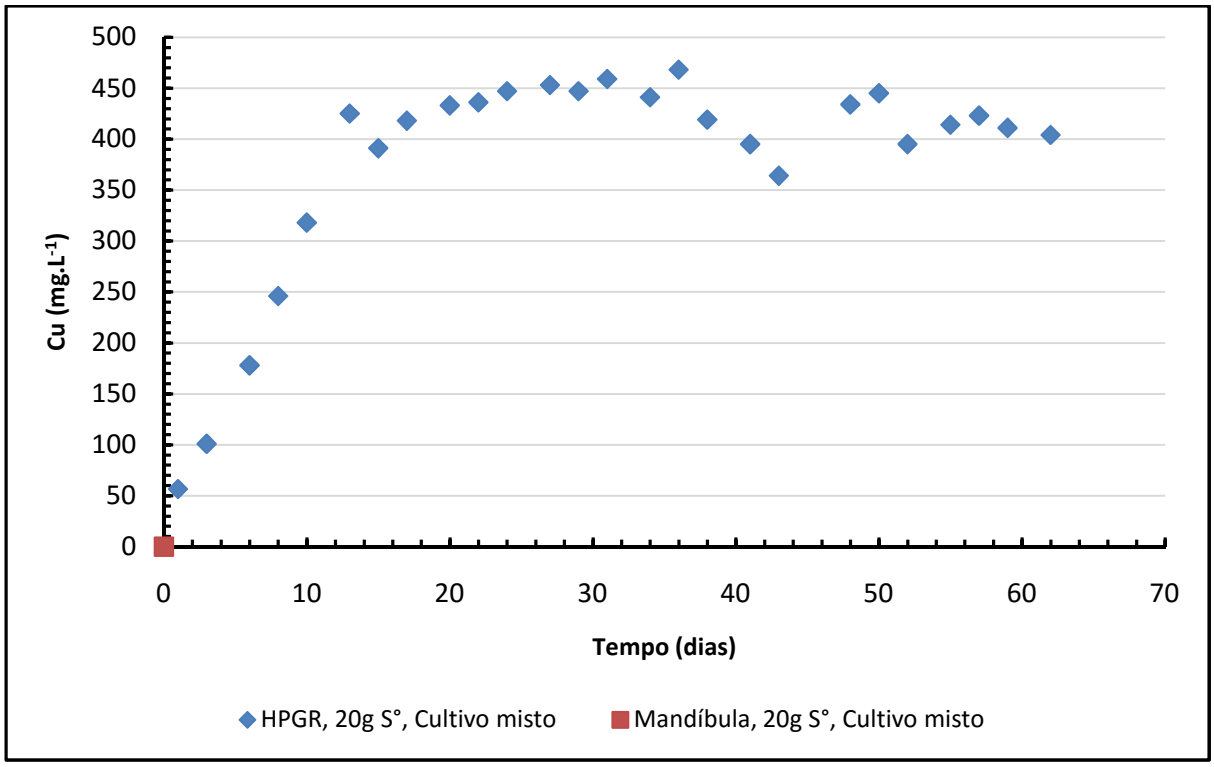

Figura 32: Variação da concentração de cobre ao longo do processo de lixiviação com controle da temperatura em 30°C e com leito mineral constituído por minério britado por HPGR.

O minério intemperizado utilizado neste estudo é bastante quebradiço,

levando à geração de partículas finas durante a operação de britagem, seja por mandíbula ou por HPGR, sendo este último método mais intenso a esse respeito. A bio-oxidação do enxofre pelo cultivo misto iniciou-se mais rapidamente quando comparada ao ensaio conduzido sob temperatura de 23°C; o pH da solução (Figura 33) começou a diminuir após um período *lag* de 4 a 6 dias.

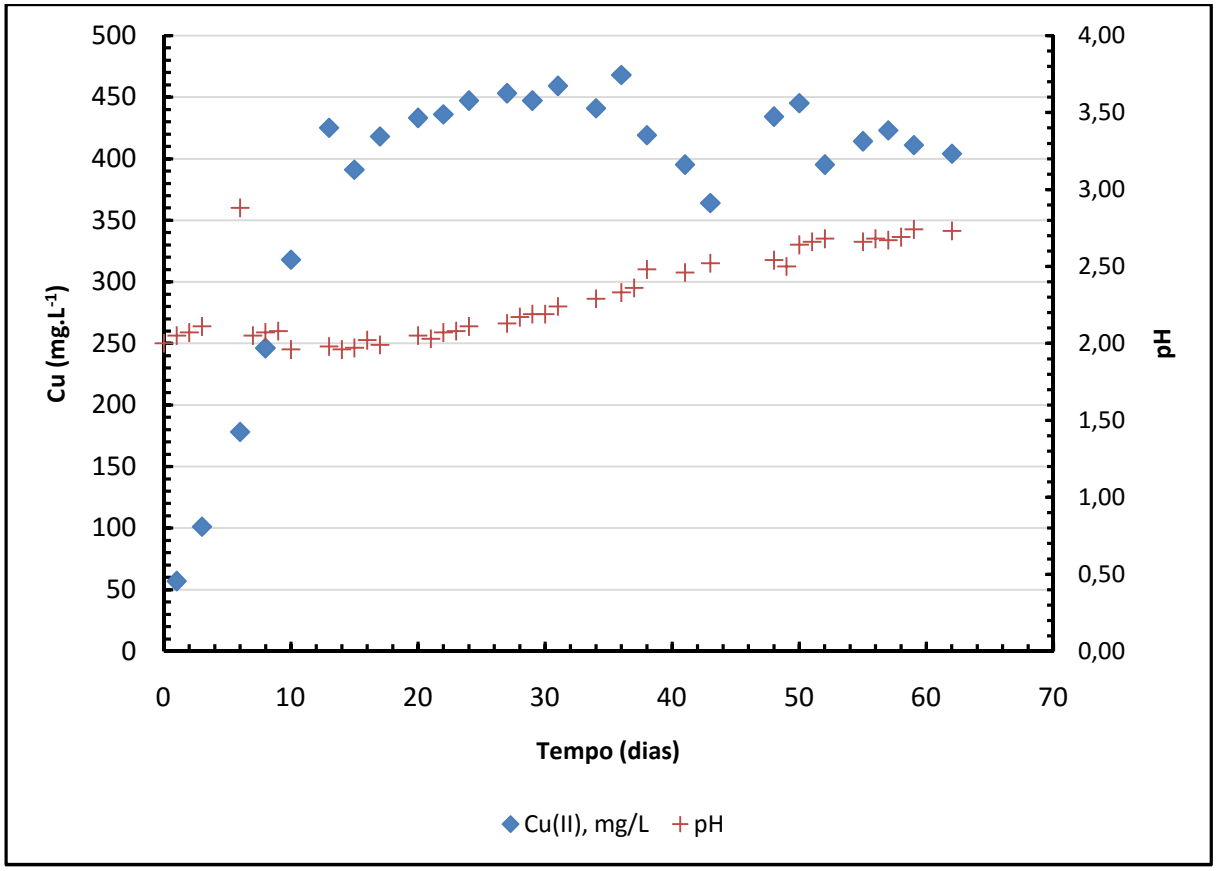

Figura 33: Variação da concentração de cobre vs. variação de pH ao longo do processo de lixiviação com controle da temperatura em 30°C e com leito mineral constituído por minério britado por HPGR.

A concentração máxima de cobre em solução foi alcançada após quatro semanas de bio-oxidação. No entanto, como isso equivalia a apenas 55% de extração de cobre (valor calculado a partir do cobre solubilizado e considerando o teor de cobre determinado na caracterização do minério), optou-se por dar continuidade ao teste, sendo finalizado após 62 dias do início do processo. A extração de cobre ao final desse período foi de 61,8%.

Nota-se que não houve evidências que o processamento desse minério

intemperizado em HPGR tenha oferecido alguma vantagem em comparação ao preparo em britador de mandíbulas.

A disponibilidade de enxofre elementar para ser bio-oxidado na superfície das partículas de minério, tornou o processo de dissolução de cobre efetivo independentemente do tipo de operação de britagem empregada no processamento mineral.

O resultado observado nessa comparação de distintas formas de britagem, difere do que é esperado ao se trabalhar com minerais mais refratários, ao exemplo de minérios primários e secundários. Diversos autores têm se dedicado, nos últimos anos, a realizar estudos de lixiviação utilizando amostras de minério primário processadas em HPGR (BAUM; AUSBURN, 2011; van der MEER; MAPHOSA, 2011; GHORBANI et al., 2011; 2012), pois com as diferenças de porosidade e a distribuição da rede de fissuras nas partículas, que proporciona um aumento da área superficial do minério, espera-se um aumento de eficiência dos processos de lixiviação. Estudos utilizando o HPGR em minérios de ouro semi-refratários de Nevada e África do Sul têm mostrado que a lixiviação dos minérios foi melhor após moagem a alta pressão, particularmente em frações granulométricas mais grosseiras (KLYMOWSKY et al., 2008). Da mesma forma, os resultados de algumas pesquisas sobre lixiviações de minérios primário de cobre realizadas no Chile e nos Estados Unidos mostraram que a britagem via HPGR resultou em um aumento na extração de cobre quando comparado com o minério britado de modo convencional (APLING; BWALYA, 1997; DANILKEWICH; HUNTE, 2006; KLYMOWSKY et al., 2008). Ghorbani et al. (2012) realizaram um estudo no qual utilizaram um consórcio de bactérias mesofílicas, acidofílicas e quimiolitotróficas na biolixiviação de um minério primário de zinco. Foram empregadas amostras de minério britadas de modo convencional, assim como em HPGR. Diferentes faixas granulométricas foram utilizadas nos ensaios realizados em colunas de lixiviação, variando desde 5,25 mm a 25 mm. Foi observado que o processamento de minério pelo HPGR produziu partículas minerais que eram lixiviadas mais rapidamente em todas as classes de tamanho testadas e apresentou de 10 a 15% de melhoria na extração de zinco por biolixiviação.

Diante desse aparente paradoxo, observando a Figura 34, a justificativa para a tendência assintótica do processo extrativo de cobre, com relação à utilização do material britado por HPGR, é que no interior das partículas microfissuradas pode ocorrer cristalização de sais de cobre (*i.e.* cristais de sulfato de cobre) provenientes da solubilização de óxidos, carbonatos, hidrossulfato e demais espécies mineralógicas solúveis em ácido. Isso pode acarretar uma intensificação da solubilização do cobre, atingindo um determinado valor de concentração com possibilidade de se alcançar o produto de solubilidade daquele sal e, consequentemente, sua cristalização.

4.3.4 Lixiviação do minério intemperizado de cobre com diferentes cargas de enxofre elementar.

Após um período que variou de 1 a 2 semanas, o pH das soluções dos reservatórios de lixívia começaram a diminuir (Figura 35), indicando que a produção de ácido a partir da bio-oxidação do S° começou a exceder a demanda de ácido do leito mineral.

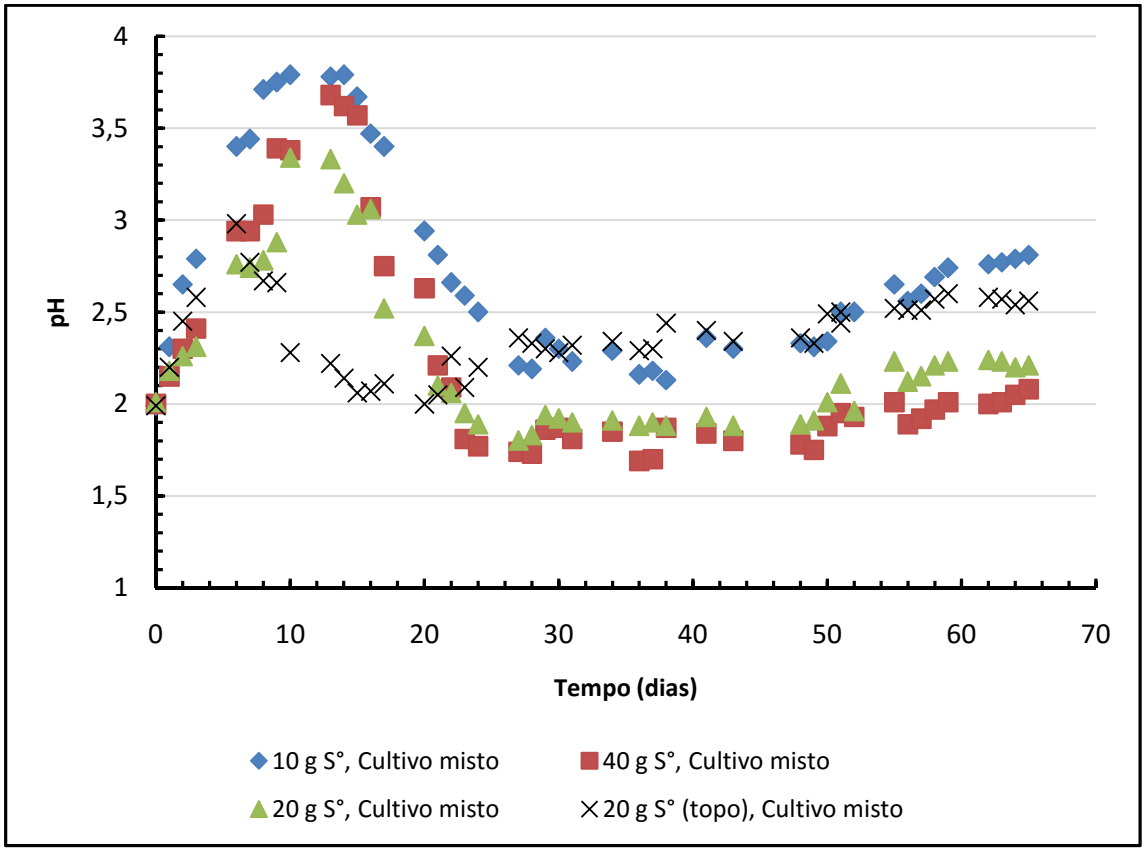

Figura 34: Variação de pH nos ensaios de lixiviação com distintas cargas de S°. Tem-se: 10 g de S°, 20 g de S° e 40 g de S° equivalentes à 3,33; 6,67 e 13,3 kg de S° por cada tonelada de minério, respectivamente.

Na coluna na qual o S° foi adicionado somente no topo do leito mineral a cinética das reações de dissolução dos minerais de cobre estava favorecida, pois o teor relativamente elevado de S° na zona superior (62,5 kg $S.t^{-1}$) estabeleceu, rapidamente, condições ácidas favoráveis ao crescimento dos micro-organismos. Após 23 dias de lixiviação, o pH das lixívias provenientes das colunas com teores de S° equivalentes a 6,67 e 13,3 kg por tonelada de minério diminuiu para valores inferiores a 2,0, permanecendo nessa faixa de pH durante um período que variou de 3 a 4 semanas. Essa manutenção de pH, nessas duas colunas, se deve ao fato da bio-geração de ácido sulfúrico a partir das partículas de enxofre elementar que circundavam as espécies minerais de cobre por todo o leito mineral contido nessas colunas, como mostrado, esquematicamente, na Figura 35.

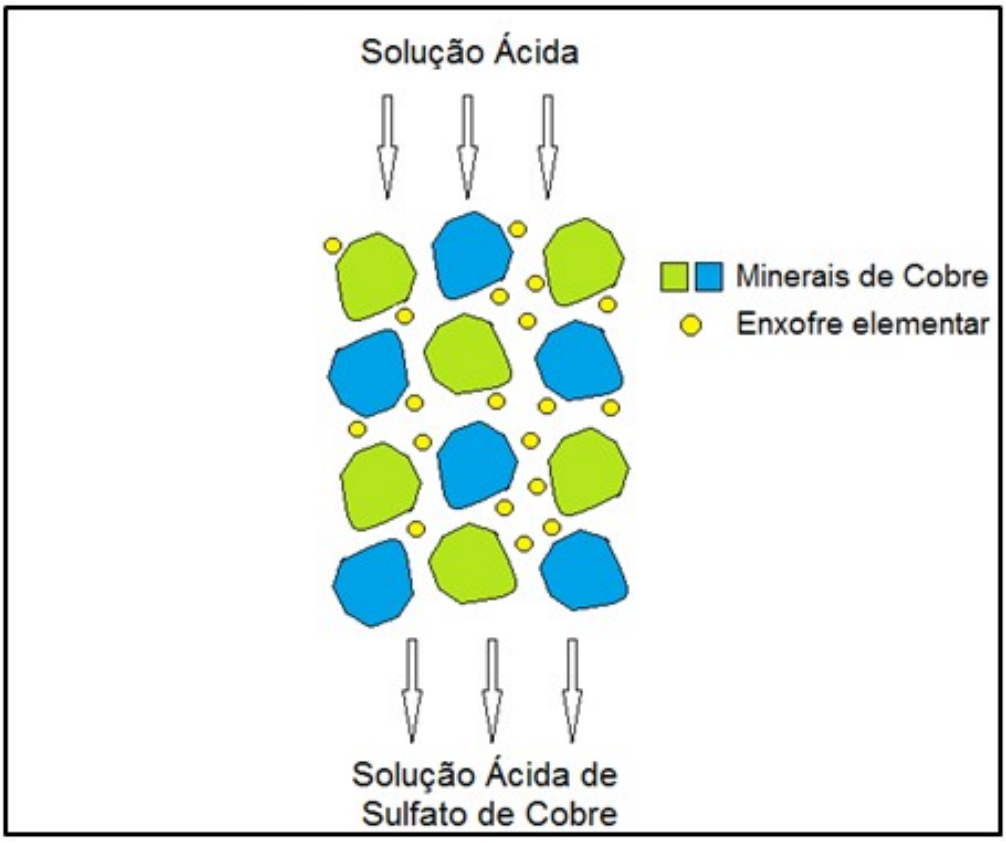

Figura 35: Lixiviação de minério intemperizado de cobre com utilização de enxofre elementar utilizado em mistura por todo o leito mineral.

A solução que percolava a coluna contendo 3,33 kg S°.t^{-1} e a coluna contendo 6,67 kg S°.t^{-1} adicionado no topo do leito mineral permaneceram com pH superior a 2,0 durante todo o período de duração do experimento. No caso da coluna com menor teor de enxofre elementar, a elevação de pH se deve à depleção desse substrato no decorrer desse ensaio. Entretanto, no ensaio onde o enxofre foi adicionado no topo do leito mineral, o ácido gerado na camada superior percolou o referido leito sendo consumido, de forma indistinta, por todas as espécies minerais presentes, mesmo pelas não carreadoras de cobre, chegando à base do leito com valores de pH superiores a 2,0. Esse fenômeno, ilustrado na Figura 36, fica ainda mais marcante quando da operação de uma pilha industrial que, normalmente, possui altura de leito de 8 metros.

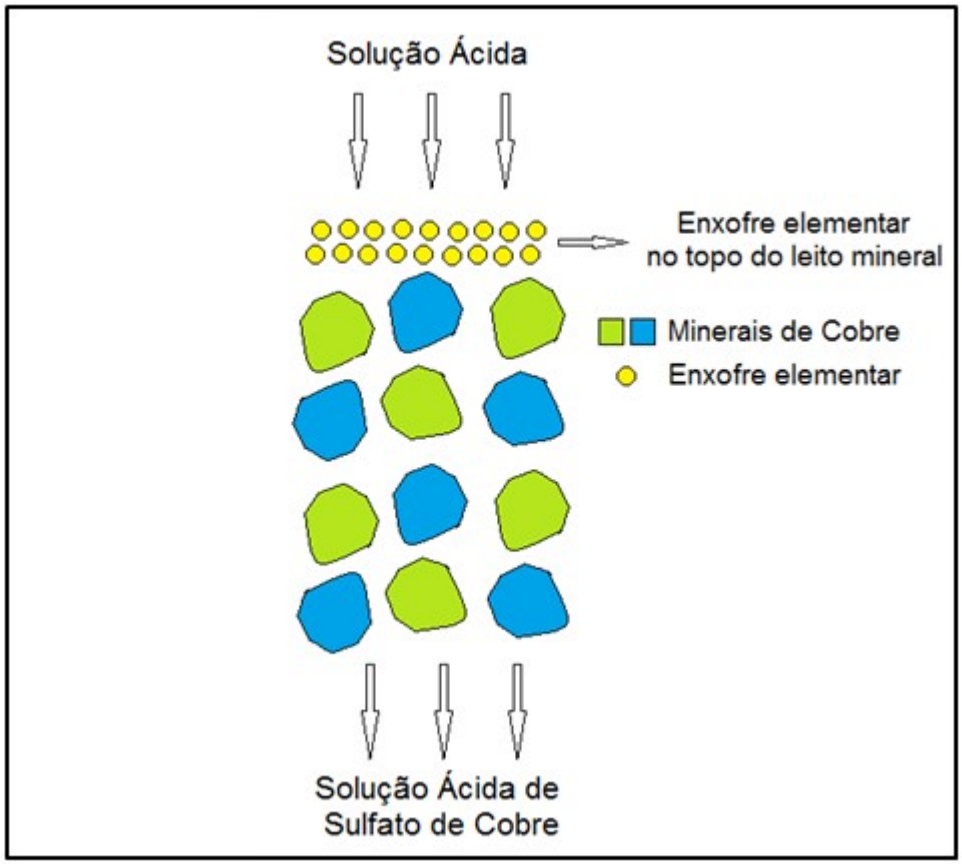

Figura 36: Lixiviação de minério intemperizado de cobre com utilização de enxofre elementar no topo do leito mineral.

Com a continuidade desse processo bio-extrativo, o pH começou a aumentar após 7 semanas em todas as colunas, o que pode indicar uma taxa mais baixa de bio-oxidação do enxofre elementar devido à depleção desse substrato mineral.

Convém ressaltar que durante todo o processo extrativo em questão, ocorre, como esperado, um aumento da concentração de íons sulfato nas lixívias, como resultado da bio-oxidação do enxofre elementar. A geração desses íons é intensificada à medida que se aumenta o teor de enxofre no leito mineral, como mostrado na Figura 37. Como consequência, ocorre um aumento de eficiência no processo extrativo.

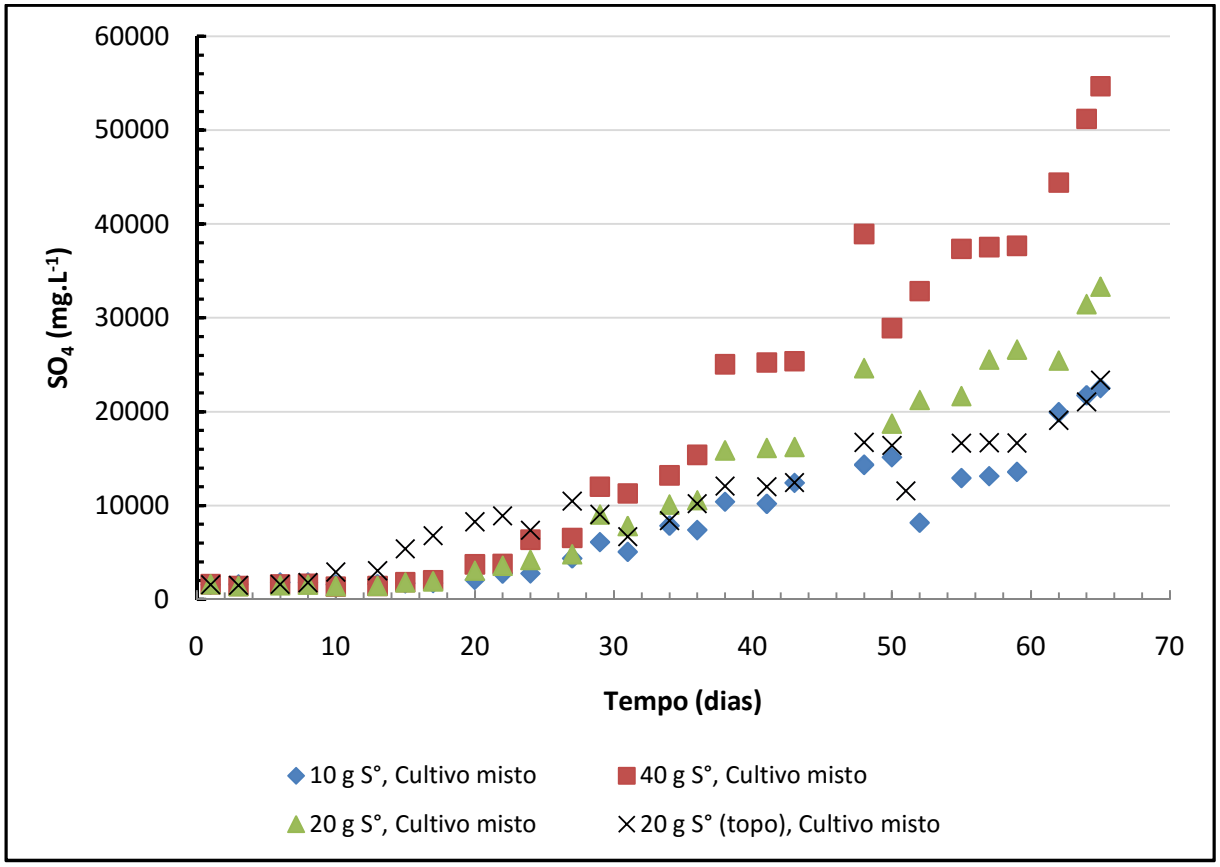

Figura 217: Variação das concentrações de sulfato nos ensaios de lixiviação com distintas cargas de S°. Tem-se: 10 g de S°, 20 g de S° e 40 g de S° equivalentes à 3,33; 6,67 e 13,3 kg de S° por cada tonelada de minério, respectivamente.

Ao comparar o efeito da adição de 20 g de enxofre (6,67 $kg.t^{-1}$), distribuída de modo uniforme no leito mineral com o efeito da adição de S° somente no topo do leito, constata-se que ocorre maior geração de íons sulfato no caso da adição do enxofre em mistura uniforme, fato que pode ser observado ao analisar o gráfico da Figura 38, que mostra, visivelmente, uma maior intensificação dos processos de dissolução das espécies mineralógicas de cobre.

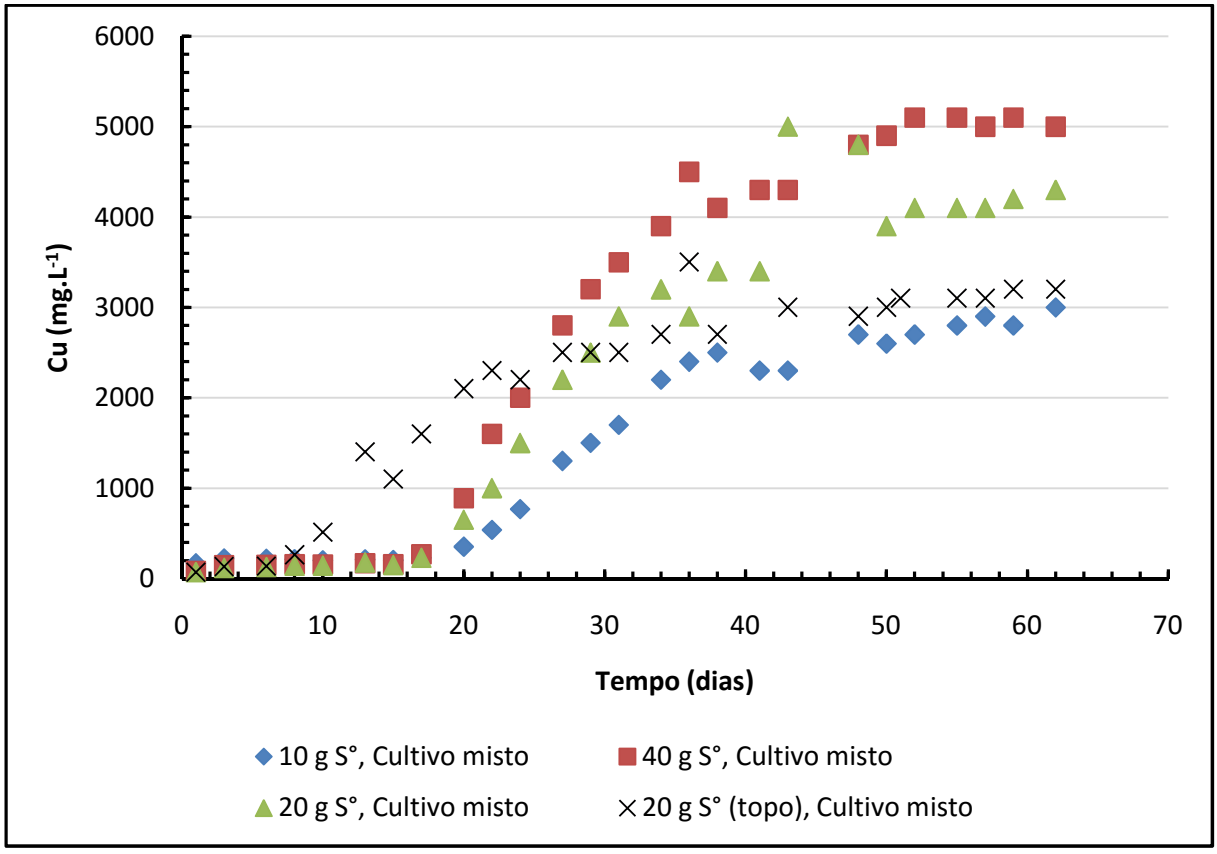

Figura 228: Variação da concentração de cobre solúvel nos reservatórios de lixívia dos ensaios de lixiviação com distintas cargas de S°. Tem-se: 10 g de S°, 20 g de S° e 40 g de S° equivalentes à 3,33; 6,67 e 13,3 kg de S° por cada tonelada de minério, respectivamente

O aumento da concentração de cobre dissolvido foi linear em todas as colunas desde 17° até os 34°-38° dias. Depois desse período, a cinética de solubilização do cobre diminuiu gradualmente e, praticamente, estagnou após 50 dias de lixiviação. Essa tendência não significa, necessariamente, a impossibilidade da continuidade do processo extrativo do cobre contido.

O comportamento assintótico da curva de solubilização de cobre, nas distintas condições experimentais, mesmo com a maior adição de enxofre, mostra, claramente, que pode se tratar do esgotamento do substrato responsável pela geração de ácido sulfúrico. Além disso, independentemente desse teor de enxofre poder ser incrementado, visando alcançar maiores porcentagens de extração do cobre, outros aspectos devem ser considerados com a continuidade do processo, que, igualmente, podem acarretar a estagnação da extração de cobre. Como exemplo disso tem-se a compactação parcial e gradativa do leito mineral, sempre

prevista, à medida da solubilização das espécies minerais solúveis de cobre. Isso não significa que o enxofre contido não esteja sendo bio-oxidado, como evidenciado anteriormente na Figura 37 que mostra a tendência sempre crescente da concentração de íons sulfato.

A Figura 39 mostra os elevados valores de potencial redox, que se mantiveram superiores a 800 mV *vs.* EPH durante quase todo o período de duração do experimento.

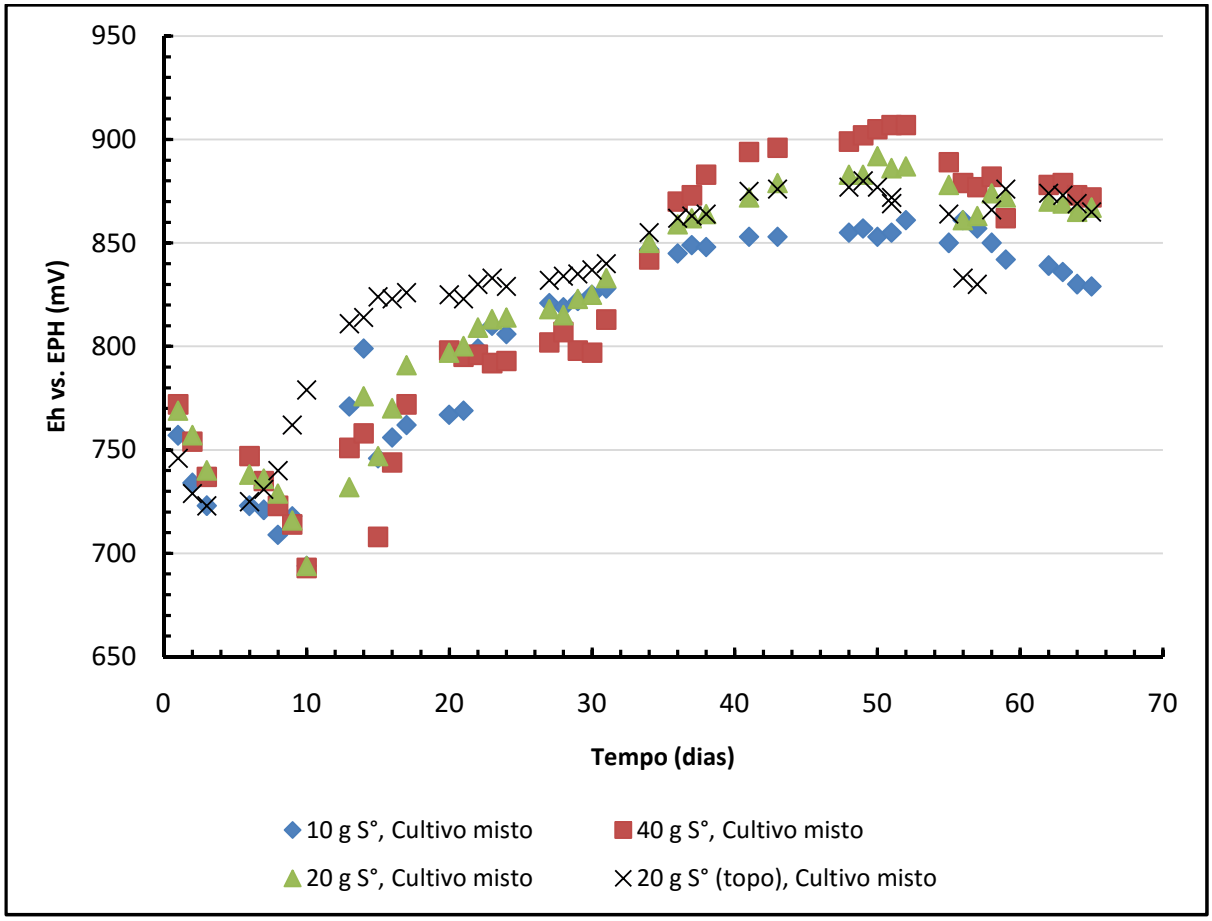

Figura 39: Variação do potencial redox ao longo do processo de lixiviação com distintas cargas de S°. Tem-se: 10 g de S°, 20 g de S° e 40 g de S° equivalentes à 3,33; 6,67 e 13,3 kg de S° por cada tonelada de minério, respectivamente.

Essa voltagem é um indicativo do processo extrativo e da continuidade da geração de ácido sulfúrico, tão necessário à continuidade da dissolução das espécies carreadoras de cobre. Conforme comentado anteriormente, trata-se do Potencial Formal que, conforme definido por Pecsok e Shields (1968), considera a

contribuição de todas as espécies iônicas em solução, inclusive das advindas da solubilização de espécies minerais como a magnetita[7] e a bornita.

A taxa linear de extração de cobre e a quantidade de cobre extraído a partir de cada coluna de lixiviação foi diretamente proporcional à quantidade de S° adicionado (Tabela 11), refletindo uma melhor extração de cobre sob valores mais baixos de pH.

Tabela 11: Extração de cobre após 62 dias de lixiviação a partir de minério inoculado contendo distintas quantidades de S° sob temperatura de 23°C.

Forma de aglomeração de S°	S° adicionado ($kg.t^{-1}$) de minério	Taxa de extração de Cu (%/dia)	Extração de Cu do final do processo (%)
Uniforme	3,33	2,00	56,0
Uniforme	6,67	2,95	76,5
Uniforme	13,3	3,94	88,0
S° adicionado no topo (em 11% do leito mineral somente)	62,5[b]	2,28	58,8

[a]Todas as colunas foram inoculadas com um cultivo misto composto por *A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*.
[b]Ao considerar a carga total de minério, tem-se o equivalente a 6,67 $kg.t^{-1}$ de minério.

A lixiviação do minério de cobre na coluna na qual o S° foi adicionado apenas na zona superior do leito não ocorreu de forma tão eficiente quando comparada às colunas nas quais o minério foi uniformemente distribuído no minério. Contudo, nota-se que a solubilização do cobre ocorreu de modo gradativo ao longo de todo o período de teste, indicando a continuidade do processo de dissolução das espécies minerais de cobre em função da extensão do tempo de lixiviação.

Essa observação evidencia que a solubilização dos metais ocorreu de forma mais efetiva quando o ácido sulfúrico foi gerado próximo a cada espécie mineral,

---

[7] Reação de dissolução de magnetita:

$$2Fe_2O_3.Fe_{(s)} + 8H_2SO_{4(l)} + Fe_2(SO_4)_{3(l)} \rightarrow 3Fe_2(SO_4)_{3(l)} + 2FeSO_{4(l)} + 8H_2O_{(l)}$$

tornando as reações de dissolução mais eficazes. Esses resultados não excluem a possibilidade da adição de S° no topo de uma pilha de lixiviação, em uma situação real e emergencial. Caso ocorra algum tipo de falha no fornecimento de ácido sulfúrico, para o preparo de uma solução diluída, o uso do S° como matéria-prima na produção de H_2SO_4 é uma forma alternativa, bastante viável, de impedir a descontinuidade do processo de lixiviação em uma planta já em operação.

CAPÍTULO V

5 CONCLUSÕES

A partir da análise dos resultados conclui-se que:

- ✓ A amostra de minério intemperizado estudada é bastante heterogênea, caracterizada pela presença de brocantita, malaquita, azurita e bornita, além de diversas espécies minerais que compõem a ganga do minério. Possui 0,64% de cobre;
- ✓ A partir de subcultivos sucessivos, com aumento gradual do teor de minério, obteve-se cultivos de *A. thiooxidans* e de *A. ferrooxidans* com densidade populacional da ordem de 10^9 céls.mL^{-1} adaptados para crescerem na presença do minério intemperizado de cobre utilizado nos ensaios de lixiviação;
- ✓ A partir de uma avaliação preliminar, realizada por meio de ensaios de lixiviação em frascos agitados utilizando minério finamente dividido, observou-se que o ácido sulfúrico produzido a partir da bio-oxidação do S°, resultou na mesma eficiência de extração de cobre, ao final de 7 dias de processo, em comparação com a lixiviação ácida convencional. Esses resultados acenaram para a viabilidade da atividade de *A. thiooxidans* tanto em um cultivo puro quanto em associação com *A. ferrooxidans* na produção de H_2SO_4 nos sistema de lixiviação do minério intemperizado de cobre utilizado;
- ✓ Foi possível hidrofilizar o enxofre elementar, para uso nos ensaios de lixiviação em colunas, por meio do contato prévio com *A. thiooxidans*, visto que esse micro-organismo produz tensoativo durante seu crescimento;
- ✓ Em relação aos ensaios de lixiviação em colunas, em todas as condições testadas, seja com cultura pura de *A. thiooxidans* ou cultura mista contendo *A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*, ocorreu a produção de H_2SO_4 a partir da bio-oxidação de S°. O ácido produzido sob as diferentes condições estabelecidas foi capaz de promover a dissolução das espécies mineralógicas carreadoras de cobre supramencionadas;

- ✓ Em todos os ensaios de lixiviação, o potencial redox aumentou, gradativamente, logo no início do processo, indicando a evolução do processo de dissolução dos minerais;
- ✓ A condução dos testes sob temperatura controlada de 30°C propiciou maior eficiência do processo extrativo por se tratar da temperatura ótima para o metabolismo das espécies bacterianas envolvidas. Sob essa condição, e utilizando 6,67 kg $S°.t^{-1}$ extraiu-se, após 32 dias de lixiviação, 73,26% de cobre no ensaio inoculado com *A. thiooxidans* e 78,72% a partir da ação do cultivo misto;
- ✓ As características físico-químicas do minério utilizado neste estudo não propiciaram maior eficiência, em termos de extração de cobre, na lixiviação do minério britado em HPGR (61,6% após 62 dias de lixiviação) quando comparado ao minério processado em britador de mandíbulas (73,26% após 32 dias de processo);
- ✓ Ao avaliar distintas cargas de enxofre na produção de ácido concluiu-se que maiores quantidades de enxofre resultaram em maiores percentuais de extração de cobre;
- ✓ A extração máxima de cobre (87,96%) foi obtida após 62 dias de lixiviação quando o equivalente a 13,3 kg de S° por tonelada de minério foi incorporado, de modo uniforme, ao leito mineral;
- ✓ A solubilização de cobre a partir do ácido produzido pela bio-oxidação do S° adicionado ao topo do leito mineral não foi tão eficiente como quando o enxofre foi incorporado de modo uniforme ao minério. Ainda assim, os resultados foram interessantes, pois, a solubilização do cobre ocorreu de modo gradativo ao longo de todo o período de teste, acenando para a continuidade do processo de dissolução das espécies minerais de cobre em função da extensão do tempo de lixiviação;
- ✓ Os resultados obtidos neste estudo podem ser considerados como muito promissores, pois essa abordagem inovadora para realização da lixiviação de minerais intemperizados de cobre pode ser aplicável quando o transporte de

ácido sulfúrico se torne perigoso ou dispendioso e um suprimento local de enxofre elementar estiver disponível.

6 SUGESTÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos neste estudo de produção biológica de ácido sulfúrico para a lixiviação de minério intemperizado de cobre demonstram a aplicabilidade dessa rota biotecnológica. Por isso a continuidade desse estudo se faz necessária para permitir o avanço em maior escala e, com isso, gerar os números necessários para uma futura abordagem de engenharia visando à aplicação industrial. Neste sentido, as perspectivas futuras incluem:

- ✓ Realizar ensaios em escala piloto, visando definir a altura máxima do leito mineral de modo que não ocorra o comprometimento da operação de percolação da solução lixiviante. Isso pode ser feito aumentando, gradativamente, a altura do leito mineral por meio de módulos de 2 metros de altura cada. Dessa forma, espelha-se o que acontece em escala industrial na qual são constituídas pilhas de até oito metros de altura. A escala piloto é mais apropriada para definir as condições de insuflação ascendente de ar e de percolação da solução, minimizando a possibilidade de compactação de leito;
- ✓ Realizar teste de distribuição de enxofre elementar no leito mineral utilizando equipamento aglomerador apropriado para a incorporação de enxofre elementar em grandes massas de minério considerando, ainda, a incorporação dos finos gerados durante o processamento mineral para que seja feita apenas uma única operação de aglomeração;
- ✓ Aprofundar o estudo de lixiviação em amostras britadas em HPGR, dessa vez utilizando pressões distintas, mais especificamente pressões inferiores à utilizada nesse estudo visando minimizar a geração de finos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABHILASH; PANDEY B. D.; NATARAJAN K. A., Microbiology for Minerals, Metals, Materials and the Environment. Ed. CRC Press, 2015.

AFONSO, J. C.; PEREIRA, K. S. Análise de compostos sulfurados em efluentes gasosos de refinaria de petróleo. *Química Nova*, v. 33, n. 4, p. 957-963, 2010.

AKINCI, G.; GUVEN D. E.. Bioleaching of heavy metals contaminated sediment by pure and mixed cultures of Acidithiobacillus spp. Desalination, Volume 268, Issues 1–3, 1, Pages 221-226, 2011.

ALMÁRCEGUI, R. J.; NAVARRO, C. A.; PARADELA, A.; ALBAR, J. P.; BERNATH, D.VON; JEREZ C.A. Response to copper of Acidithiobacillus ferrooxidans ATCC 23270 grown in elemental sulfur. Researchin Microbiology, 2014.

ALMEIDA, S. L. M.; LUZ, A. B.; FIGUEIRA, H. V. O. Britagem e Moagem. In: CETEM. (Org.). Tratamento de Minérios. 5ª Ed/LUZ, A. B.; SAMPAIO, J. A.; FRANÇA, S. C., Rio de Janeiro:CETEM/MCT, 2010.

APLING, A.; BWALYA, M., Evaluating high pressure milling for liberation enhancement and energy saving. Miner. Eng. 10 (9), 1013–1022, 1997

BAL'ZHINIMAEV, B.S.; BELYAEVA, N.P.; RESHETNIKOV, S.I.; YUDINA, E.S.; IVANOV, A.A. Phase transitions in a bed of vanadium catalyst for sulfuric acid production: experiment and modeling Chemical Engineering Journal, v. 84, p. 31-41, 2001.

BARD, Allen J, Roger Parsons, e Joseph Jordan. *Standard Potencial in Aqueous Solution.* CRC Press, 1985.

BARRON J.L.; LUEKING D. R.Growth and Maintenance of Thiobacillus ferrooxidans Cells. Applied And Environmental Microbiology, v. 56, p. 2801-2806, 1990.

BARRON, A. R. The group 16 elements: The Chalcogens. Disponível em www.cnx.org. Acesso em 27/07/2014.

BAUM W.; AUSBURN K. HPGR Comminution for optimization of copper leaching Minerals & Metallurgical Processing Vol. 28 No. 2 • May 2011.

BEEBE, J. L.; UMBREIT, W. W. Extracellular Lipid of *Thiobacillus thiooxidans. Journal of Bacteriology*, v. 108, n. 1, p. 612-614, 1971.

BELLENBERG, S., LEON-MORALES, C-F., SAND, W., VERA, M. Visualization of capsular polysaccharide induction in *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*, v. 129-130, n. 1, p. 82-89, 2012.

BELLO, N.S. , ROSSINI, G.A., OLIVEIRA, D.M., SOBRAL, L. G. S. Estudo da

biolixiviação do rejeito da lixiviação convencional de minério intemperizado de cobre visando recuperação desse metal remanescente nas escalas de laboratório e semipiloto. XXVI Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, Poços de Caldas-MG, 2015.

BERTANI N. G.; OLIVEIRA T. A.; ALVERNAZ S. A. qualitative analysis among chemical and physical sterilization methods. Rev. Edu., Meio Amb. e Saúde 3(1):22 3-23 7, 2008.

BHP Minerals International, Inc. Recovery of metals from ore, US6387239, 2002.

BINGOL D., CANBAZOGLU M., Dissolution kinetics of malachite in sulphuric acid. Hydrometallurgy 72 159–165, 2004.

BISWAS A. K.; DAVENPORT W. G. Extractive Metallurgy of Copper: International Series on Materials Science. Ed Elsevier,454 pp

BRIERLEY J. A. A perspective on developments in biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy*, v. 94, p. 2–7, 2008.

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

BRUYNESTEYN A., 2004. Process for leaching acid-consuming ores. U.S. Patent Appl. no. US2004/0131520 A1, July 8, 2004.

CARRETERO, E.; SOBRAL, L.G. S.; OLIVEIRA, D. M.; SOUZA, C. E.G. Bioleaching of Metal Sulphides Ores and Concentrates. In: Biohydrometallurgical processes: a practical approach. SOBRAL L.G. S., OLIVEIRA D. M.; SOUZA C. E. G (Eds).. - Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2010.

CHOI Y., KONDOS P., GRAHAM M., McMULLEN J., Van WEERT G., Thiosulphate Generation in situ in Precious Metal Recovery, United State Patent, no. 7,572,317 B2, Aug. 11, 2009.

CIMINELLI V.S.T., Hidrometalurgia. In: Tendências Tecnológicas Brasil 2015: Geociências e Tecnologia. FERNANDES, F. R. C.; LUZ, A. B.; MATOS, G. M. M.; CASTILHOS, Z. C.- Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2007.

CORNIANI, E., JECH, M., DITROI, F., WOPELKA, T., FRANEK, F. TLA and wear quantification of an aluminium–silicon–copper alloy for the car industry. Wear v. 267 p. 828–832, 2009.

CRUNDWELL, F. K.; MOATS, M. S.; RAMACHANDRAN, V.; ROBINSON, T. G.; DAVENPORT, W. G. Sulfur dioxide capture in sulfuric acid and other products. In: Extractive metallurgy of nickel, cobalt and platinum group metals, Oxford: Elsevier, p. 247-257, 2011. 610p.

DANILKEWICH, H.; HUNTER, I.; HPGR Challenges And Growth Opportunities. Vancouver: University Of British Columbia, p.27-44, 2006.

DAOUD, J.; KARAMANEV, D. Formation of jarosite during Fe^{2+} oxidation *by Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Minerals Engineering*, v. 19, p. 960–967, 2006.

DAS, A.; MODAK, J. M.; NATARAJAN, H. A. (1998) Surface chemical studies of *Thiobacillus ferrooxidans* with reference to copper tolerance. Antonie van Leeuwenhoek 73: 215–222

DAS, A.; MODAK, J. M.; NATARAJAN, H. A.,Technical Note: Studies on multi-metal ion tolerance of *Thiobacillus ferrooxidans*. Mineral Engineering 10: 743-749, 1997.

DAVENPORT W. G., KING M.J., MSCHLESINGER. E., BISWAS A.K. Extractive Metallurgy of Copper, Ed Elsevier, 2002.

DENG S.; GU G.; WU Z.; XU X. Bioleaching of arsenopyrite by mixed cultures of iron-oxidizing and sulfur-oxidizing microorganisms, Chemosphere, Volume 185, , Pages 403-411, 2017.

DHAWAN, N.; SAFARZADEH, M. S.; MILLER, J. D.; MOATS, M. S.; RAJAMANI R.K. Crushed ore agglomeration and its control for heap leach operations. Minerals Engineering, v. 41, p. 53-70, 2013.

DHAWAN, N.; SAFARZADEH, M.S.; MILLER, J.D.; RAJAMANI, R.K.; MOATS, M.; LIN, C.L. Recent advances in the application of X-ray computed tomography in the analysis of heap leaching systems. Minerals Engineering v. 35, p. 75–86, 2012.

DOMIC, E. M. Hidrometalurgia: fundamentos, procesos y aplicaciones, 1ª edição, Santiago-Chile: Andros Impresores, 1000p., 2001.

DONATI, E. R.; SAND, W. (eds). Microbial processing of metal sulfides. Netherlands: Springer, 314p., 2007.

DONATI, E. R.; SAND, W. Microbial processing of metal sulfides. La Plata: Springer, Cap. 1, p. 3-33, 2006.

DONG, Y.; LIN, H.; XU, X.; ZHANG, Y.; GAO, Y.; ZHOU, S.Comparative study on the bioleaching, biosorption and passivation of copper sulfide minerals. International Biodeterioration & Biodegradation, v. 84, p. 29-34, 2013.

DONG, Y.; LIN, H.; XU, X.; ZHANG, Y.; GAO, Y.; ZHOU, S.Comparative study on the bioleaching, biosorption and passivation of copper sulfide minerals. International Biodeterioration & Biodegradation, v. 84, p. 29-34, 2013.

DONOVAN P. KELLY, JASVINDER K. S.H., LU W., WOOD A.P., Oxidative metabolism of inorganic sulfur compounds by bacteria, Antonie van

Leeuwenhoek, Volume 71, Issue 1–2, pp 95–107, 1997.

DUEKER, W. W; WEST, J. R. (eds) Manufacture of sulfuric acid; ACS Monograph Series 144. New York: Reinhold Publishing, 1959.

EARTH Based Solutions Llp, Method for producing sulfuric acid, WO2008054648A3, 2008.

EHRLICH, H.L. Geomicrobiology. 3th ed. New York: Marcel Dekker Inc, 719p., 1996.

EHRLICH, H.L.; NEWMAN, D. K. Geomicrobiology. 5th ed., Boca Raton, FL: CRC Press, 656p., 2008.

ELSON DM. Atmospheric pollution: a global problem. 2nd ed. Oxford: Blackwell; 1992.

EPA - The U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste - Sulfur Recorery: Background Report, 1998.

FALAGÁN C.; GRAIL B. M.; JOHNSOND. B, New approaches for extracting and recovering metals from mine tailingsMinerals Engineering 106, 71–78, 2017.

FARIAS. José Osael Gonçalves de. Minério de cobre. Relatório técnico 23. Ago. 2009. Disponível em: http://www.mme.gov.br/, Acesso em: 28 dez. 2012.

FERREIRA L. C.; SCAVRONI J.; SILVA J. R. V., CATANEO A. C.; MARTINS D.; BOARO C. S. F. Copper oxychloride fungicide and its effect on growth and oxidative stress of potato plants. Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 112 p. 63–69, 2014.

FRENCH, M.S.; EVANS, L.V. Chapter 6 Fouling on Paints Containing Copper and Zinc. In: Studies in Environmental Science, v. 28, Pages 79-100, 1986.

FUTUYMA, D., Biologia Evolutiva. 2º Ed.. Editora – FUNPEC, 632 pg., 2002.

GARCIA JR, 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.

GARGARELLO, R. M.; DI GREGORIO, D.; HUCK, H. FERNANDEZ NIELLO, J.; CURUTCHET, G. Reduction of uranium(VI) by *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*, v.104, p. 529–532, 2010.

GHORBANI, Y. ; MAINZA, A.N.; PETERSEN, J.; BECKER, M.; FRANZIDIS, J-P.; KALALA J.T. Investigation of particles with high crack density produced by HPGR and its effect on the redistribution of the particle size fraction in heaps Minerals Engineering, v.43–44, p. 44-51, 2013.

GHORBANI, Y.; PETERSEN, J.; HARRISON, S. T.L. ; TUPIKINA, O. V. ; BECKER,

M. ; MAINZA, A. N. ; FRANZIDIS, J-P. An experimental study of the long-term bioleaching of large sphalerite ore particles in a circulating fluid fixed-bed reactor. Hydrometallurgy, v. 129–130, p. 161-171, 2012.

GIAVENO, M.A.; URBIETA, M.S.; DONATI, E.R. Mechanisms of bioleaching: Basic understanding and possible industrial implications. In: Biohydrometallurgical processes: a practical approach/Ed. SOBRAL, L.G. S.; OLIVEIRA, D. M. E.; SOUZA, C. E. G. (Eds). Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2010.

GLENCORE, Sulfuric Acid Supply/Demand Fundamentals, 2017.

GOEBEL, B. M.; STACKEBRANDT, E. Cultural and phylogenetic analysis of mixed microbial populations found in natural and commercial bioleaching environments. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 60, p. 1614-1621, 1994.

GOMES O.F. M., OLIVEIRA D.M, SOBRAL L.G.S.S, PIRAR E., Characterization of particle damage and surface exposure of a copper ore processed by jaw crusher, HPGR and electro-dynamic fragmentation. Characterization of Minerals, Metals, and Materials, (TMS The Mineral, Metals & Minerals Society), 2014.

GÓMEZ C., BLÁZQUEZ M.L. , BALLESTER A. Bioleaching of a Spanish Complex Sulphide Ore Bulk Concentrate, Minerals Engineering, v. 12, p. 93-106, 1999.

GUIMARÃES, E. M., Causas e formas de corrosão na unidade de recuperação de enxofre da refinaria Gabriel Passos Dissertação de mestrado, Escola de Engenharia da UFMG, Belo Horizonte, 2006.

HABASHI F. Handbook of Extractive Metallurgy. 4 vol. Weinheim, Germany: WILEY-VCH, 1997.

HAGHIGHI, H. K.; MORADKHANI, D.; SEDAGHAT, B.; NAJAFABADI, M. R.; BEHNAMFARD, A. Production of copper cathode from oxidized copper ores by acidic leaching and two-step precipitation followed by electrowinning. *Hydrometallurgy*, v. 133, p. 111–117, 2013.

HALLBERG, K. B.; GONZÁLEZ-TORIL, E.; JOHNSON, D. B. *Acidithiobacillus ferrivorans*, sp. nov. facultatively anaerobic, psychrotolerant iron, and sulfur-oxidizing acidophiles isolated from metal mine-impacted environments. *Extremophiles*, v. 14, n.1, p. 9-19, 2010.

HALLBERG, K. B.; LINDSTRÖM, E. B. Characterization of *Thiobacillus caldus* sp. nov., a moderately thermophilic acidophile. *Microbiology,* v. 140, p. 3451-3456, 1994.

HOCKING M.B. Acid Handbook of Chemical Technology and Pollution Control. 3^0 Ed., p. 253-287, 2005.

ISCG- International Copper Study Group . The World Copper Factbook 2013. Disponível em <www.icsg.org>. Acesso em 27/07/2014.

ISCG- International Copper Study Group . The World Copper Factbook 2016. Disponível em <www.icsg.org>. Acesso em 20/09/2017.

JIANG H.; LAWSON F.Reaction mechanism for the formation of ammonium jarosite. Hydrometallurgy, v. 82, p. 195–198, 2006.

JOHNSON, D. B. Importance of microbial ecology in the development of new mineral technologies. *Hydrometallurgy*, v. 59, p.147-157, 2001.

JONES, G.E.; STARKEY, R.L. Surface-active substances produced by *Thiobacillus thiooxidans*. *Journal of Bacteriology*, v. 23, p. 788–789, 1961.

JONGLERTJUNYA W., Bioleaching of chalcopyrite. Department of Chemical Engineering, School of Engineering, The University of Birmingham, United Kingdom, April, 2003.

KAMIMURA, K.; HIGASHINO, E.; MORIYA, S.; SUGIO, T. Marine acidophilic sulfur-oxidizing bacterium requiring salts for the oxidation of reduced inorganic sulfur compounds. *Extremophiles*, v. 7 p. 95–99, 2003.

KARAVAIKO, G. I.; TUROVA, T. P.; KONDRAT'EVA, T. F.; LYSENKO, A. M.; KOLGANOVA, T. V.; SAGEEVA, N.; MUNTYAN, L. N.; PIVOVAROVA, T. A. Phylogenetic heterogeneity of the species *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,* v. 53, p. 113–119, 2003.

KELLY G.; AHLBORN G.; CARRETERO E.; GUNN M.; HARVEY P., Laboratory And Demonstration Scale Optimisation Of The Quebrada Blanca Heap Leach Bacterial Regime Using GEOLEACH™, II Taller Internacional de Procesos Hidrometalurgicos, HydroProcess, 2008.

KELLY, D. P.; 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.

KELSO, J.R., PARKISON, G., 2008. Method for producing sulfuric acid. WO/2008/054648, May 8, 2008.

KING, M. J.; DAVENPORT, W. G.; MOATS, M.S.(eds) Sulfur burning, Sulfuric Acid Manufacture. Analysis, Control and Optimization. 2nd ed. p. 19–29, 511p., 2013.

KINNUNEN, P.H.M.; PUHAKKA, J.A., High rate ferric sulfate generation by a *Leptospirillum ferriphilum*-dominated biofilm and the role of Jarosite in biomass retainment in a fluidised-bed reactor. Biotechnology and Bioengineering, v. 85,

p. 697–705, 2003.

KLYMOWSKY, R.; PATZELT, N.; KNECHT, J.; BURCHARDT, E.; HPGR Technology: Present and Future. Procemin Chile. 2008.

KNICKERBOCKER, C.; NORDSTROM, D.K.; SOUTHAM, G. The role of ‘‘blebbing’’ in overcoming the hydrophobic barrier during biooxidation of elemental sulfur by *Thiobacillus thiooxidans. Chemical Geology*, v. 169, p. 425–433, 2000.

KOKES H., MORCALI M.H. , ACMA E. Dissolution of copper and iron from malachite ore and precipitation of copper sulfate pentahydrate by chemical process Engineering Science and Technology, 17, 39-44, 2014.

KULAIF, Y. Relatório Técnico 54: Perfil do Enxofre, MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA - MME, 2009.

LARA, R.H.; VALDEZ-PÉREZ, D.; RODRÍGUEZ, A. G.; NAVARRO-CONTRERAS, H. R.; CRUZ, R.; GARCÍA-MEZA, J. V. Interfacial insights of pyrite colonized by *Acidithiobacillus thiooxidans* cells under acidic conditions. *Hydrometallurgy,* v.103, p.35–44, 2010.

LAVALLE, L.; CHIACCHIARINI, P.; POGLIANI, C.; DONATI, E. Isolation and characterization of acidophilic bacteria from Patagonia, Argentina. *Process Biochemistry*, v. 40, p. 1095–1099, 2005.

LEAHY, M. J.; SCHWARZ, M. P. Modelling jarosite precipitation in isothermal chalcopyrite bioleaching columns. *Hydrometallurgy*, v. 98, p. 181–191, 2009.

LEWANDOWSKI, K; EISELE, T.; KAWATRA,. Agglomeration for copper heap leaching. XXV International Mineral Processing Congress 2010, IMPC 2010. 1. 183-192, 2010.

LI ,H. M.; KE, J. J. Influence of Cu^{2+} and Mg^{2+} on the growth and activity of Ni^{2+} adapted Thiobacillus ferrooxidans. Minerals Engineering 14: 113-116, 2001.

LIMA L.R.P. A., A mathematical model for isothermal heap and column leaching. Brazilian Journal of Chemical Engineering, 2004.

LIU H., GU G., XU Y., Surface properties of pyrite in the course of bioleaching by pure culture of Acidithiobacillus ferrooxidans and a mixed culture of Acidithiobacillus ferrooxidans and Acidithiobacillus thiooxidans Hydrometallurgy, Volume 108, Issues 1–2, Pages 143-148, 2011

LIU, H.; LAN, Y.; CHENG, Y. Optimal production of sulphuric acid by *Thiobacillus thiooxidans* using response surface methodology. *Process Biochemistry*, v. 39, p. 1953–1961, 2004.

LME. *London MEtal Exchange.*Disponível em: www.lme.com (acesso em 02 de agosto de 2016).

LUZ, A. B.; SAMPAIO, J. A.; FRANÇA, S. C. A. Tratamento de minérios, 5ª edição,. 960p., 2010

LUZ, A.B.; LINS, F. A. F. Introdução ao Tratamento de Minério. In: Tratamento de Minérios, 4ª Ed. CETEM/MCT, 2004, Cap.1, p. 3 – 14.

MA L.; WANG X.; TAO J.; FENG X.; LIU X.; Bioleaching of the mixed oxide-sulfide copper ore by artificial indigenous and exogenous microbial community Hydrometallurgy, Volume 169, Pages 41-46, 2017.

MACALADY, J. L.; JONES, D. S.; LYON, E. H. Extremely acidic, pendulous cave wall biofilms from the Frasassi cave system. Italy. *Environmental Microbiology*, v. 9, p.1402–1414, 2007.

MADIGAN, M., T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. Microbiologia de Brock. 10ª ed. São Paulo: Prentice Hall, 608 p., 2004.

MANAFI, Z.; ABDOLLAHI, H.; TUOVINEN O. H. Shake flask and column bioleaching of a pyritic porphyry copper sulphide ore. International Journal of Mineral Processing, v. 119, p. 16-20, 2013.

MARKETPUBLISHERS. Sulfuric Acid: 2014 World Market Outlook and Forecast up to 2018.

MARTINS J.C., OLIVEIRA D.M.; SOBRAL, L.G.S. Produção biológica de tiossulfato visando à lixiviação de minério primário de ouro, XXII JIC/CETEM, 2014.

MASCARIN, D. B. Solubilização da calcopirita e da bornita por *Thiobacillus ferrooxidans.* Dissertação de Mestrado – Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, 1999.

MCNAB, B., “Exploring HPGR technology for heap leaching of fresh rockgold ores,” HR Crushing and Grinding Conference, 2006, Townsville, pp. 1-26, 2006.

MERUANE, G., VARGAS, T., Bacterial oxidation of ferrous iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the pH range 2.5–7.0, Hydrometallurgy, v. 71, p. 149–158, 2003.

MORR, Z.; CATTIN, F.; BOURGARIT, D.; LEFRAIS, Y.; DEGRYSE, P. Copper quality and provenance in Middle Bronze Age I Byblos and Tell Arqa (Lebanon). Journal of Archaeological Science, v. 40, p. 4291-4305, 2013.

MOUSAVI S.M.; YAGHMAEI S.; VOSSOUGHI M.; ROOSTAAZAD R.; JAFARI A.; EBRAHIMI M.; CHABOK O. H.; TURUNEN I. The effects of Fe(II) and Fe(III) concentration and initial pH on microbial leaching of low-grade sphalerite ore in a column reactor. Bioresource Technology, v. 99, p. 2840–2845, 2008.

NASCIMENTO, P. F. C.; SOBRAL, L.G. S.; SOUZA, C. E.G.; ROCHA, P. M.; PADRÃO, D. O. Recovery of defective discs in the production of New Real coins by intensive cyanidation. Série Tecnologia Ambiental (63), Rio de Janeiro:

CETEM/MCTI, 2012.

NEHB, W.; VYDRA, K. Sulfur. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Weinheim: Wiley-VCH, 2006.

NKULU G.; GAYDARDZHIEV S.; MWEMA E.; COMPERE P.; SEM and EDS observations of carrollite bioleaching with a mixed culture of acidophilic bacteria Minerals Engineering, Volume 75, Pages 70-76, 2015.

NOVO, M.T.M.; SILVA, A. C.; MORETO, R.; CABRAL, P.C. P.; COSTACURTA, A.; GARCIA JR, O.; OTTOBONI, L. M. M. *Thiobacillus ferrooxidans* response to copper and other heavy metals:growth, protein synthesis and protein phosphorylation. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 77, p. 187–195, 2000.

OKABE, S.; ODAGIRI, M.; ITO, T.; SATOH, H. Succession of sulfur-oxidizing bacteria in the microbial community on corroding concrete in sewer systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 73, p .971–980, 2007.

OLIVEIRA, D. M.; SÉRVULO, E. F. C.; SOBRAL, L. G. S.; PEIXOTO, G. H. C. Biolixiviação: utilização de micro-organismos na extração de metais. Série de Tecnologia Ambiental. Rio de Janeiro, CETEM/MCT, 2010.

OLIVEIRA, D. M.; SOBRAL, L. G. S.; RODRIGUES, F. H.; PADRAO, D. O. The use of mesophile microorganisms for extracting nickel out of nickel-bearing flotation tailings. In: 4th International Seminar on Process Hydrometallurgy, 2012.

OLIVEIRA, D. M. “Influência do tensoativo (ramnolipídio) comercial na biolixiviação de minério primário de cobre.” Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. UFRJ, 2009.

OLIVEIRA, M. L. S.; WARD, C .R.; IZQUIERDO, M.; SAMPAIO, C. H.; BRUM, I. A. S.; KAUTZMANN, R. M.; SABEDOT, S.; QUEROL, X.; SILVA, L. F. O. Chemical composition and minerals in pyrite ash of an abandoned sulphuric acid production plant. Science of the Total Environment, v. 430, p.34–47, 2012.

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

PAKOSTOVA, E.; MANDL, M.; TUOVINEN, O. H. Cellular ATP and biomass of attached and planktonic sulfur-oxidizing *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Process Biochemistry*, v. 48, p.1785-1788, 2013.

PANDA, S.; SANJAY, K.; SUKLA, L. B.; PRADHAN, N.; SUBBAIA, H. T.; MISHRA, B.K.; PRASAD, M.S.R.; RAY, S. K. Insights into heap bioleaching of low grade chalcopyrite ores — A pilot scale study. Hydrometallurgy, v. 125–126, p. 157–165, 2012.

PARKER, C. D.; PRISK, J. J. gen. Microbial. 8, 344-364. The Oxidation of Inorganic Compounds of Sulphur by various Sulphur Bacteria, 1953.

PAULINO, L. C.; BERGAMO, R. F.; DE MELLO, M. P.; GARCIA JR, O., MANFIO, G. P.; OTTOBONI, L. M. Molecular characterization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *A. thiooxidans* strains isolated from mine wastes in Brazil. Antonie van Leeuwenhoek, v. 80, p. 65–75, 2001.

PEACOCK, J. Sulphuric Acid Market Outlook The Outlook for Sulphuric Acid Demand for Fertilizers, Metal and Uranium, CRU International/BSC Creon – Moscow, 2009.

PECSOK R. L; SHIELDS L. D., Modern Methods of Chemical Analysis, Wiley & Sons, 1968.

PENG, A.; XIA, J.; LIU, H.; NIE, Z.; YANG, Y.; ZHU W. Differential utilization of cyclic, orthorhombic α- and chain-like polymeric μ-sulfur by *Acidithiobacillus ferrooxidans* Transactions of Nonferrous Metals Society of China, v. 24, p. 1562-1570, 2014.

PHILLIPS Petroleum Company, Method for the microbiological production of sulfuric acid, US6610268, 2003.

PLUMB J.J.; McSweeney N.J.; Franzmann P.D. Growth and activity of pure and mixed bioleaching strains on low grade chalcopyrite ore. Minerals Engineering, v. 21, p. 93–99, 2008.

POGLIANI, E. DONATI Immobilisation of *Thiobacillus ferrooxidans*: importance of jarosite Precipitation. Process Biochemistry, v. 35, p. 997–1004, 2000.

PRADHAN N.; NATHSARMA K.C.; S.RAO K.; SUKLA L.B., MISHRA B.K Heap bioleaching of chalcopyrite: A review. Minerals Engineering, v. 21, p. 355–365, 2008.

QIU M.; XIONG S.; ZHANG W.; Efficacy of chalcopyrite bioleaching using a pure and a mixed bacterium Journal of University of Science and Technology Beijing, Mineral, Metallurgy, Material, Volume 13, Issue 1, Pages 7-10, 2006.

QIU, M; . XIONG, S.; ZHANG, W.; WANG. G. A comparison of bioleaching of chalcopyrite using pure cultureor a mixed culture. Minerals Engineering, v. 18, p. 987–990, 2005.

RABAH, M. A. Recovery of iron and copper from spent HCl used to clean up dirty car radiators. Hydrometallurgy, v. 56, p. 75–92, 2000.

RAWLINGS D. Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates ,Microbial Cell Factories, v . 4, p. 1-15, 2005.

RAWLINGS, E.; TRIBUTSCH, H.; HANSFORD, G. Reasons why ' *Leptospirillum* '-like species rather than *Thiobacillus ferrooxidans* are the dominant iron-oxidizing bacteria in many commercial processes for the biooxidation of pyrite and related ores v. 145, p, 5-10, 1999.

RIBEIRO, J. A. Cobre. Departamento Nacional de Produção Mineral, 2013.

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

ROMANO P.; BLAZQUEZ M.L.; ALGUACIL F.J.; MUNOZ J.A.; BALLESTER A.;GONZALEZ F., Comparative study on the selective chalcopyrite bioleaching of a molybdenite concentrate with mesophilic and thermophilic bacteria, FEMS Microbiology Letters, v. 196, p. 71-75, 2001.

RUSSEL, JOHN B., Química Geral Vol. 1, Ed Pearson, 1994.

SALMIMIES, R.; MANNILA M.; KALLAS J.; HÄKKINEN A.. “Acidic dissolution of Magnetite: experimental study on effects of acid concentration and temperatura.” Clay and Clay minerals, 59 (2) p. 136-146, 2011.

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

SCHAEFFER, W. I.; HOLBERT, P. E.; UMBREIT, W. W. Attachment of *Thiobacillus thiooxidans* to sulphur crystals. *Journal of Bacteriology*, v. 85, p.137–140, 1963.

SCHIPPERS, A. Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification. Em: DONATI, E. R.; SAND, W. Microbial processing of metal sulfides. La Plata: Springer, Cap. 1, p. 3-33, 2006.

SÉRVULO, E. F. C., Ação das bactérias oxidantes e redutoras de enxofre sobre o xisto. 148p, Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1991.

SHIVELY, J. M.;A. A. BENSON. Phospholipids of *Thiobacillus thiooxidans*. J. Bacteriol. v. 94, p. 1679-1683, 1967.

SILVERMAN, M.P.; LUNDGREN, D.G. Studies on the chemoautotropic iron bacterium Ferrobacillus ferrooxidans I. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields. J. bacteriology, 77, 642-647, 1959.

SILVESTRI, A.; TONIETTO, S.; MOLIN, G.; GUERRIERO P. The palaeo-Christian glass mosaic of St. Prosdocimus (Padova, Italy): archaeometric characterisation

of tesserae with copper- or tin-based opacifiers. Journal of Archaeological Science, v. 42, p. 51-67, 2014.

SOBRAL, L. G. S.; SOUZA, C. E. G.; OLIVEIRA, D. M. Processo e aparato para biolixiviação de minérios primários, rejeitos de flotação e minério intemperizado com produção biológica de ácido sulfúrico a partir de enxofre elementar e/ou pirita. WO 2014094091 A1, PCT/BR2013/000567, Data da prioridade: 17 dez. 2012.

SOTO, P. E.; GALLEGUILLOS, P. A.; SERÓN, M.A.; ZEPEDA, V. J.; DEMERGASSO, C. S.; PINILLA, C. Parameters influencing the microbial oxidation activity in the industrial bioleaching heap at Escondida mine, Chile. Hydrometallurgy, v. 133, p. 51–57, 2013.

STAHL, E. Process for the production of sulfuric acid by the contact process US 2819947 A, 1954

SUZUKI, I Oxidation o Elemental sulfur by na enzime system os *Thiobacillus thiooxidans.* Biochimica et Biophysica Acta, 104 p, 359-371, 1965.

ŠVARCOVÁ, S.; ČERMÁKOVÁ, Z.; HRADILOVÁ, J.; BEZDIČKA, P.; HRADIL, D. Non-destructive micro-analytical differentiation of copper pigments in paint layers of works of art using laboratory-based techniques Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, v. 132, p. 514-525, 2014.

TRUJILLO, Y.; CISTERNAS, L. A.; GÁLVEZ, E. D.; MELLADO, M. E. Optimal design and planning of heap leaching process: Application to copper oxide leaching Jorcy. *Chemical Engineering Research and Design*, v. 92, p. 308-317, 2014.

TUAN, W.; LEE, S. Eutectic bonding of copper to ceramics for thermaldissipation applications – A review Journal of the European Ceramic Society, v. 34, p. 4117–4130, 2014.

TUPIKINA O. V.; KONDRAT'EVA T. F.; SAMORUKOVA V. D.; RASSULOV V. A.; KARAVAIKO G. I. Dependence of the Phenotypic Characteristics of Acidithiobacillus ferrooxidans on the Physical, Chemical, and Electrophysical Properties of Pyrites. Microbiology, Vol. 74, No. 5, pp. 515–521, 2005.

UHRIE J. L, Method for biological oxidation of elemental sulfur-bearing materials for sulfuric acid production, US20040023350, 2004.

UHRIE, J.L.; GURTLER, J.A.; HOENECKE, S.P. Apparatus for processing elemental sulfur-bearing materials to produce sulfuric acid and methods of using same. U.S. patent appl. no. US2004/0022698 A1, Feb. 5, 2004.

USGS. Mineral commodity summaries 2014. *U.S. Geological Survey.* 2014.

USGS. Mineral commodity summaries 2016 U.S. Geological Survey, 2016.

van der MEER, F.P.; MAPHOSA, W. High pressure grinding moving ahead in copper, iron, and gold processing, The Southern African Institute of Mining and Metallurgy 6th Southern African Base Metals Conference 2011.

VERA, M.; SCHIPPERS, A.; SAND, W. Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation—part A. *Applied Microbiology and Biotechnology,* v. 97, p.7529–7541, 2013.

VIDAL, V. P. Chilean Sulfuric acid Market: Estimations Through 2020. Chillean Copper Commission, 2011.

VILCA, A. B. Studies on the curing and leaching kinetics of mixed copper. Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of applied science in the faculty of graduate studies (materials engineering) the University of British Columbia (Vancouver), 2013.

Vogel, Arthur I. *Química Analítica Qualitativa.* 5ed. São Paulo: Mestre Jou, 1981.

VOGLER, K. G.; UMBREIT, W. W. The necessity for direct contact in sulphur oxidation by *Thiobacillus thiooxidans*. *Soil Science*, v. 51, p. 331–337, 1941.

WAKSMAN, S. A.; JOFFE, J. S. Acid production by a new sulfur-oxidizing bacterium. *Science*, v. 53, p. 216, 1921.

WANG J., TAO L., ZHAO H., HU M., WANG D., Cooperative effect of chalcopyrite and bornite interactions during bioleaching by mixed moderately thermophilic culture, Minerals Engineering, Volume 95, Pages 116-123, 2016.

WANG, A.; CHEN, B.; FANG, L.; YU J.; WANG L. Influence of branched quaternary ammonium surfactant molecules as levelers for copper electroplating from acidic sulfate bath. Electrochimica Acta, v. 108, p. 698-706, 2013.

WANG. Y.; SU, L.; ZENG, W.; QIU, G.; WAN, L.; CHEN, X.; H. ZHOU. Optimization of copper extraction for bioleaching of complex Cu-polymetallic concentrate by moderate thermophiles Transactions of Nonferrous Metals Society of China, v. 24, p. 1161-1170, 2014.

WANG. Y.; SU, L.; ZENG, W.; QIU, G.; WAN, L.; CHEN, X.; H. ZHOU. Optimization of copper extraction for bioleaching of complex Cu-polymetallic concentrate by moderate thermophiles Transactions of Nonferrous Metals Society of China, v. 24, p. 1161-1170, 2014.

WATLING, H.R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides — A review. Hydrometallurgy, v. 84, p 81–108, 2006.

WEST-SELLS, P. G.; BOUFFARD, S. C.; TSHILOMBO, A. F.; BRUYNESTEYN, A. Acid generation by in-situ sulphur biooxidation for copper heap leaching. In: RIVEROS, P. A.; DIXON, D. G.; COLLINS, M. J. (Eds.), Cu 2007. (Book 1) The

John Dutrizac International Symposium on Copper Hydrometallurgy, vol. IV. Canadian Institute of Mining, Metallurgy and Petroleum, Toronto, Canada, p. 323–334, 2007.

WILLIAMS, K. P.; KELLY, D. P. Proposal for a new class within the phylum Proteobacteria, Acidithiobacillia classis nov., with the type order Acidithiobacillales, and emended description of the class Gammaproteobacteria. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v.63, p. 2901–2906, 2013.

WINBY R., Process for leaching low sulphur content materials, USH2005, 2001.

WITNE J.Y.; PHILLIPS, C.V. Bioleaching Of Ok Tedi Copper Concentrate In Oxygen-And Carbon Dioxide, Enriched Air. Minerals Engineering, v. 14, pp. 25-48, 2001.

WONG-ÁNGEL, W. D.; TÉLLEZ-JURADO, L.; CHÁVEZ-ALCALÁ, J.F.; CHAVIRA-MARTÍNEZ, E.; VERDUZCO-CEDEÑO, V. F. Effect of copper on the mechanical properties of alloys formed by powder metallurgy. Materials & Design, v. 58, p.12-18, 2014.

YANG, Y.; DIAO, M.; LIU, K.; QIAN; QIU L., Column bioleaching of low-grade copper ore by Acidithiobacillus ferrooxidans in pure and mixed cultures with a heterotrophic acidophile Acidiphilium sp. Hydrometallurgy, Volumes 131–132, Pages 93-98, 2013

YOUNG, D.C., Thermally stable urea-sulfuric acid compositions and methods of manufacture US 4944787 A, 1984.

YOUNG, T.L.; GREENE, M. G.; RICE, D.R.; KARLAGE, K.L.; PREMEAU, S.P.; CASSELLS, J.M. Materials and method for the biological production of sulfuric acid. U.S. patent no. 6,790,418 B2, Sept. 14, 2004.

YOUNG, T.L.; GREENE, M.G.; RICE, D.R.; KARLAGE, K.L.; PREMEAU, S.P.;CASSELLS, J.M. Method for the microbiological production of sulfuric acid. U.S. patent nº. 6,610,268 B1, Aug. 26, 2003.

ZHANG Y.; QIN W.; WANG J.;.ZHEN S.; QIU G.; Bioleaching of chalcopyrite by pure and mixed culture.Transactions of Nonferrous Metals Society of China, Volume 18, Issue 6, December 2008, Pages 1491-1496.

ZHU W; XIA J., YANG Y.; NIE Z.; QIU G.; Sulfur oxidation activities of pure and mixed thermophiles and sulfur speciation in bioleaching of chalcopyrite Bioresource Technology, Volume 102, Issue 4, , Pages 3877-3882, 2011.

ZHU W; XIA J.; YANG Y., NIE Z.; QIU G., Sulfur oxidation activities of pure and mixed thermophiles and sulfur speciation in bioleaching of chalcopyrite Bioresource Technology, Volume 102, Issue 4, Pages 3877-3882, 2011.