



# REDEMAT

REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

UFOP – CETEC – UEMG

## Dissertação de mestrado



**“Bio-oxidação de sulfetos de arsênio e antimônio por *Sulfobacillus thermosufidooxidans*”**



**Autora: Suzimara Reis da Silva**  
**Orientador: Prof. DSc. Versiane Albis Leão**

**Agosto de 2016**



# REDEMAT

REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

UFOP – CETEC – UEMG

Suzimara Reis da Silva

## **“Bio-oxidação de sulfetos de arsênio e antimônio por *Sulfobacillus thermosufidooxidans*”**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais da REDEMAT, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Processos de fabricação  
Orientador: Prof. DSc. Versiane Albis Leão

**Ouro Preto, agosto de 2016**

S586b

Silva, Suzimara Reis da.

Bio-oxidação de sulfetos de arsênio e antimônio por *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* [manuscrito] / Suzimara Reis da Silva. - 2016.  
82f. : il. : color; graf.; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Versiane Albis Leão.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Rede Temática em Engenharia de Materiais.

Área de Concentração: Processos de Fabricação.

1. Oxidação. 2. Antimônio. 3. Sulfeto de arsênio. I. Leão, Versiane Albis. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: 661.645

Catálogo: [www.sisbin.ufop.br](http://www.sisbin.ufop.br)



**REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**UFOP - UEMG**

Pós-Graduação em Engenharia de Materiais



**"Bio-oxidação de Sulfetos de Arsênio e Antimônio por  
Sulfobacillus Thermosulfidooxidans"**

**Autora: Suzimara Reis da Silva**

Dissertação defendida e aprovada, em 11 de agosto de 2016, pela banca  
examinadora constituída pelos professores:

Prof. Versiane Albis Leão (Doutor) - Orientador  
Universidade Federal de Ouro Preto

Prof.<sup>a</sup> Mônica Cristina Teixeira (Doutora)  
Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Leonardo de Paiva Barbosa (Doutor)  
Instituto Federal de Minas Gerais  
Campus Ponte Nova

Psq. Michael Leonardo Marques Rodrigues (Doutor)  
Universidade Federal de Ouro Preto

## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por ter permitido que valores e sentimentos tão nobres pudessem ter se manifestado nas pessoas que fizeram parte, direta e indiretamente, da execução desse trabalho. E por ter mostrado que não construímos nada sozinhos.

Aos **meus pais Geraldo e Madalena**, pelas demonstrações diárias de apoio e afeto. Não há palavras capazes de expressar minha gratidão por tanto amor. À minha **irmã Rosi** (minha melhor amiga), sempre disposta a uma boa conversa. Obrigada por sua compreensão e incentivo.

Ao meu **marido Carlos Alan**, pela compreensão e carinho, mesmo quando o cansaço e a falta de tempo não me permitiram estar tão presente quanto gostaria.

Ao meu **orientador Versiane Albis Leão**, por compartilhar o seu conhecimento, por toda a sua atenção e auxílio em todos os momentos do mestrado.

À minha **amiga Liliane Coelho**, pela colaboração neste trabalho e, sobretudo, pelo companheirismo. Meu muito obrigado por sua alegria, carinho e sugestões.

À **Flávia Donária, Flávio Luiz Martins, Isabel Cristina e Michael Leonardo**, pela atenção, carinho, cooperação e estímulo no desenvolvimento deste trabalho.

Aos **colegas do Laboratório de Bio&Hidrometalurgia** da UFOP em especial à Andreia, Angélica, Lucas, Gisele, Guilherme, Ludimila e Renata pelas dicas fabulosas, disponibilidade e paciência e, é claro, pelos momentos de descontração. Ao Romeu pelo entusiasmo, dedicação e alegria com que me ajudou neste projeto.

À **todos do laboratório NanoLab**, em especial ao técnico Ney Sampaio pela essencial colaboração nas análises de MEV/EDS e pela forma generosa com que transmitiu seu conhecimento.

Ao Prof<sup>o</sup> **Victor de Alvarenga** e aos seus alunos Tasso Machado e Matheus Simplício pela colaboração nas análises de DRX.

Aos **técnicos** Graciliano, Paulo e Anísio pela colaboração em diversas situações do mestrado.

À AngloGold Ashanti pela concessão das amostras, pelo apoio e pela oportunidade de uma interação academia/indústria.

Ao **Capes** pela concessão da bolsa de mestrado.

## RESUMO

Os sulfetos como a pirita ( $\text{FeS}_2$ ) e a arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ), são constituintes frequentes em minérios auríferos. Usualmente, o ouro não é acessível pelo cianeto nesses sulfetos, o que exige a realização de uma etapa de pré-tratamento, antes da extração do metal de interesse (Au e Ag) por meio da cianetação. Dentre os pré-tratamentos de minérios refratários de ouro inclui-se a bio-oxidação, a qual é caracterizada pelo emprego de micro-organismos capazes de oxidar os sulfetos minerais e, assim, expondo o ouro retido na estrutura cristalina dos minerais para posterior lixiviação. O uso de temperaturas mais elevadas pode resultar numa cinética mais rápida de bio-oxidação. Dessa forma, a presente dissertação estudou a bio-oxidação de amostras de um concentrado sulfetado de flotação (10,58% Fe; 1,88 % As; 3,16% Sb e 11,85% S) por *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, uma bactéria termófila moderada. Foram avaliados os efeitos da concentração inicial de  $\text{Fe}^{2+}$  (em g/L: 0,0; 2,5; 5,0 e 10,0), pH da suspensão (1,50, 1,75 e 2,00) e percentual de sólidos (em % (m/v): 1,50; 2,25 e 3,00) na bio-oxidação do concentrado. Os ensaios de bio-oxidação foram realizados em *shaker* termostatzado, a uma temperatura de  $47^\circ\text{C}$  e sob agitação de  $150\text{min}^{-1}$ . A eficiência da bio-oxidação foi avaliada através do acompanhamento da extração de arsênio e análise dos resíduos de bio-oxidação por meio das técnicas de DRX e MEV/EDS. O processo de bio-oxidação mediado pela espécie *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* foi mais eficiente quando comparado à lixiviação química pelo oxigênio em solução (ensaios controle). A bio-oxidação foi caracterizada pela precipitação de ferro, arsênio e antimônio (principalmente nos ensaios conduzidos com 10g/L de  $\text{Fe}^{2+}$  e pH 2,0). Foi constatado que no ensaio da influência da concentração inicial de  $\text{Fe}^{2+}$  os valores finais de extração de arsênio foram iguais a 15,56% (0,0g/L  $\text{Fe}^{2+}$ ), 25,42% (2,5g/L  $\text{Fe}^{2+}$ ), 36,56% (5,0g/L  $\text{Fe}^{2+}$ ) e 46,78% (10,0g/L  $\text{Fe}^{2+}$ ). Diante destes resultados, foi possível inferir que a suplementação de  $\text{Fe}^{2+}$ , na forma de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , se faz necessária para a eficiência da oxidação da amostra. No estudo da influencia do pH, a maior solubilização de arsênio foi constatada em pH 1,75. Os valores de extração final de arsênio no estudo da influência do percentual de sólidos sobre a bio-oxidação do concentrado foram: 46,21% (1,50% de sólidos), 37,80% (2,25% de sólidos) e 32,80% (3,00% de sólidos). A redução nos valores de extração com o aumento da concentração de sólidos parece estar relacionada com a necessidade de um tempo maior de reação, uma vez que não foi evidenciado prejuízos ao crescimento microbiano. As análises dos resíduos de bio-oxidação através das técnicas de DRX e MEV/EDS confirmaram o efeito catalítico dos micro-organismos na oxidação dos sulfetos em relação à lixiviação química pelo oxigênio dissolvido em solução. Diante disso, verifica-se o uso potencial da espécie *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* na bio-oxidação de minérios refratários de ouro em temperatura mais elevada.

**Palavras-chave:** Bio-oxidação; arsenopirita; sulfetos de antimônio; *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, arsênio; antimônio.

## ABSTRACT

Mineral sulphides such as pyrite ( $\text{FeS}_2$ ) and arsenopyrite ( $\text{FeAsS}$ ) are common constituents of gold ores and frequently the metal is not accessible to cyanide in such minerals, which characterize these type of ores as refractory. Therefore a preliminary oxidation step must be carried out to expose the noble metals (Ag and Au) to cyanide. Bio-oxidation, which is the use of microorganisms capable of oxidising sulphide minerals, is one of the options available to treat refractory gold ores. Bioleaching at higher temperatures may have an important impact on the kinetics of sulphide oxidation. Thus, the current investigation addressed the bio-oxidation of a gold-bearing flotation concentrate (10.58% Fe; 1.88 % As; 3.16% Sb and 11.85% S) by *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, a moderate thermophile bacterium. The effects of ferrous sulphate supplementation (as  $\text{gFe}^{2+}/\text{L}$ : 0.0; 2.5; 5.0 e 10.0), pH (1.50, 1.75 e 2.00) and pulp density (% (m/v): 1.50; 2.25 e 3.00) on the concentrate bio-oxidation were assessed, through arsenic dissolution. The bio-oxidation tests were performed in a temperature-controlled shaker at  $47^\circ\text{C}$ , under  $150\text{min}^{-1}$  as the stirring rate. The bacterial oxidation of the concentrate was more efficient as compared to chemical leaching by dissolved oxygen (from air). The overall process was characterized by iron, arsenic and antimony precipitation (mostly in the experiments carried out with  $10\text{g/L Fe}^{2+}$  and pH 2.0). When the effect of the  $\text{Fe}^{2+}$  content was assessed the final oxidation yields were 15.56% (0.0g/L added  $\text{Fe}^{2+}$ ), 25.42% (2.5g/L  $\text{Fe}^{2+}$ ), 36.56% (5.0g/L  $\text{Fe}^{2+}$ ) and 46.78% (10.0g/L  $\text{Fe}^{2+}$ ) and it was inferred that an external ferrous iron source is required to increase sulphide oxidation. Likewise, the most efficient oxidation (48%) was observed at pH 1.75 when the effect of this parameter was investigated, whereas at different pulp densities the following outcome was observed: 46.21%, 37.80% and 32.80% oxidation with 1.50%, 2.25% and 3.00% solids, respectively. The decreasing oxidation yield with pulp density appeared to be related to experimental time because the bacterial population was not affected at higher pulp densities. The analysis of the solid products by XRD and SEM/EDS confirmed the catalytic effect of the bacterial action on the sulphides oxidation. The results demonstrated the potential utilization of *S. thermosulfidooxidans* to treat refractory gold ores at high temperatures provided that an increase in the pulp density can be achieved.

**Key-words:** Bio-oxidation; arsenopyrite; antimony sulphides; *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, arsenic; antimony.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	11
2. RELEVÂNCIA E OBJETIVOS .....	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
3.1 Biomineração.....	15
3.1.1 Micro-organismos envolvidos nos processos de bio-oxidação .....	18
3.1.2 Mecanismos de oxidação de sulfetos minerais por bactérias .....	20
3.1.3 Fatores que afetam a bio-oxidação de sulfetos minerais.....	22
3.1.4 Química do ferro, arsênio e antimônio em sistemas de bio-oxidação.....	35
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	37
4.1 Amostras de concentrado.....	37
4.2 Micro-organismo e condições de cultivo.....	38
4.3 Experimentos de bio-oxidação em agitador orbital (shaker).....	39
4.4 Caracterização dos produtos de oxidação.....	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
5.1 Amostras de concentrado.....	41
5.2 Seleção dos micro-organismos à polpa .....	43
5.3 Experimentos de bio-oxidação .....	44
5.3.1 Influência da concentração inicial de $Fe^{2+}$ sobre a bio-oxidação do concentrado	45
5.3.2 Influência do pH na bio-oxidação do concentrado.....	51
5.3.3 Influência do percentual de sólidos na bio-oxidação do concentrado.....	57
5.3.4 Caracterização dos resíduos obtidos dos ensaios de bio-oxidação .....	62
6. CONCLUSÕES .....	75
7. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS .....	77
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78



## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Fluxo de elétrons durante a oxidação do $\text{Fe}^{2+}$ por <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> . .....	24
Figura 5.1. Difratoograma de Raios-X da amostra inicial utilizada nos ensaios de bio-oxidação. Símbolos: M, muscovita; C, clorita; Q, quartzo; P, pirita; A, arsenopirita; E estibinita; G gudmundita.....	41
Figura 5.2. Análise de EDS da região indicada, evidenciando arsenopirita (a), pirita (b), gudmundita (c) e estibinita (d) na amostra de concentrado sulfetado antes do processo de bio- oxidação. ....	42
Figura 5.3. Perfil do crescimento bacteriano (células/mL) obtido no processo de seleção microbiana ao concentrado sulfetado, em diferentes percentuais de sólido. Condições experimentais: pH 1,8, 47°C, agitação de $150\text{min}^{-1}$ , 2,5g/L de $\text{Fe}^{2+}$ , para os percentuais na faixa de 1,5-2,5%, e 5,0g/L de $\text{Fe}^{2+}$ , utilizando 3,0% e 3,5% de densidade de polpa. ....	44
Figura 5.4. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, pH 1,8, 47°C e em diferentes concentrações de $\text{Fe}^{2+}$ , nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).....	46
Figura 5.5. Perfil do crescimento bacteriano (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio- oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, pH 1,8, 47°C e em diferentes concentrações iniciais de $\text{Fe}^{2+}$ . ....	47
Figura 5.6. Variação da concentração total de ferro (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio- oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, pH 1,8, 47°C e em diferentes concentrações de $\text{Fe}^{2+}$ , nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada). ....	48
Figura 5.7. Variação da extração de As (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, pH 1,8, 47°C e em diferentes concentrações de $\text{Fe}^{2+}$ , nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).....	48
Figura 5.8. Variação da extração de antimônio com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, pH 1,8, 47°C e em diferentes concentrações de $\text{Fe}^{2+}$ nos ensaios inoculados (a) e não inoculados (b). ....	50
Figura 5.9. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, 2,0g/L de $\text{Fe}^{2+}$ , 47°C e em diferentes	

valores de pH (1,50; 1,75 e 2,00), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).....	52
Figura 5.10. Perfil do crescimento bacteriano (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, 2,0g/L de Fe <sup>2+</sup> , 47°C e em diferentes valores de pH.....	53
Figura 5.11. Variação da extração de As (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, 2,0g/L de Fe <sup>2+</sup> , 47°C e em diferentes valores de pH (1,50; 1,75 e 2,00), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).....	53
Figura 5.12. Variação da concentração total de ferro (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,50% de sólido, 47°C, 2,00g/L de Fe <sup>2+</sup> e diferentes valores de pH (1,50; 1,75 e 2,00), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).....	54
Figura 5.13. Variação da extração de antimônio (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, 47°C, 2,0g/L de Fe <sup>2+</sup> e em diferentes valores de pH (1,50; 1,75 e 2,00), nos ensaios inoculados (a) e não inoculados (b). .....	56
Figura 5.14. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, 47°C, 5,0g/L de Fe <sup>2+</sup> e em diferentes percentuais de sólido (1,50%; 2,25% e 3,00%), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).....	58
Figura 5.15. Perfil do crescimento bacteriano (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, 47°C, 5,0g/L de Fe <sup>2+</sup> e em diferentes percentuais de sólido. ....	59
Figura 5.16. Variação da extração de arsênio (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais pH 1,8, 47°C, 5,0g/L de Fe <sup>2+</sup> e em diferentes percentuais de sólido (1,50%; 2,25% e 3,00%), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).....	59
Figura 5.17. Evolução da extração de Sb (%) com o tempo para amostras do concentrado pirítico em condições de pH 1,8,47°C, adição de 5,0 g/L de Fe <sup>2+</sup> e em diferentes percentuais de sólido (1,50%; 2,25% e 3,00%), na presença (a) e na ausência de micro-organismos (b)..	61
Figura 5.18. Evolução da concentração de Fe <sub>total</sub> (mg/L) com o tempo para amostras do concentrado sulfetado em condições de pH 1,8, adição de 5,0g/L de Fe <sup>2+</sup> e em diferentes	

percentuais de sólido (1,50%; 2,25% e 3,00%), na presença (linha cheia) e na ausência de micro-organismos – Ensaio controle (linha tracejada). .....	62
Figura 5.19 - Difração de raios - X (DRX) dos resíduos gerados no estudo da influência da concentração inicial de $Fe^{2+}$ na bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, 47°C, 1,5% de sólidos (m/v) e 14 dias de ensaio. a) 0,0g/L $Fe^{2+}$ ; b) 2,5g/L $Fe^{2+}$ ; c) 5,0g/L $Fe^{2+}$ ; d) 10,0g/L $Fe^{2+}$ e) controle químico utilizando 5,0g/L $Fe^{2+}$ . Símbolos: M, muscovita; C, clorita; Q, quartzo; P, pirita; A, arsenopirita; E, estibinita; G, gudmundita; J, jarosita. ....	64
Figura 5.20. Difração de raios - X (DRX) dos resíduos gerados no estudo da influência do pH na bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, 47°C e 9 dias de ensaio. a) pH 1,50 ; b) pH 1,75; c) 2,00; d) controle químico em pH 1,75. Símbolos: M, muscovita; C, clorita; Q, quartzo; P, pirita; A, arsenopirita; E, estibinita; G, gudmundita; J, jarosita. ....	66
Figura 5.21. Difração de raios - X (DRX) dos resíduos gerados no estudo da influência do percentual de sólidos na bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, 47°C, 5,0g/L de $Fe^{2+}$ e 14 dias de ensaio. a) 1,5% de sólidos; b) 2,25% de sólidos ; c) 3,0% de sólidos; d) controle químico com 2,25% de sólidos (m/v). Símbolos: M, muscovita; C, clorita; Q, quartzo; P, pirita; A, arsenopirita; E, estibinita; G, gudmundita; J, jarosita. ....	67
Figura 5.22. Análise de EDS do resíduo de bio-oxidação obtido do ensaio de influência da adição de 10g/L de $Fe^{2+}$ na bio-oxidação do concentrado sulfetado. (a) controle, evidenciando grãos de arsenopirita (1 e 2), pirita (3 e 4), gudmundita (5 e 6) e quartzo (7). (b) com micro-organismo, evidenciando grãos de pirita (8 e 9), gudmundita (10 e 11) e estibita (12). Condições experimentais: 1,5% de sólido, 47°C, pH 1,75 e 14 dias de ensaio. ....	69
Figura 5.23. Análise de EDS do resíduo de bio-oxidação obtido do ensaio da influência da adição de 10g/L de $Fe^{2+}$ na bio-oxidação do concentrado sulfetado, evidenciando um grão de gudmundita no controle químico (a) e no sistema com micro-organismo (b). Condições experimentais: 1,5% de sólido, 47°C, pH 1,8 e 14 dias de ensaio. ....	70
Figura 5.24. Análise de EDS do resíduo de bio-oxidação obtido do ensaio de influência do pH 1,75 na bio-oxidação do concentrado. (a) sem micro-organismo, evidenciando grãos de arsenopirita (1 e 2), pirita (3 e 4), estibinita (5) e gudmundita (6). (b) com micro-organismo, evidenciando grãos de pirita (7 e 8), estibinita (9 e 10) e gudmundita (11 e 12). Condições experimentais: 1,5% de sólido, 47°C, pH 1,75 e 9 dias de ensaio. ....	71

Figura 5.25. Análise de EDS do resíduo de bio-oxidação obtido do ensaio de influência de 2,25% percentual de sólidos na bio-oxidação do concentrado. (a) sem micro-organismo, evidenciando grãos de arsenopirita (1 e 2), pirita (3 e 4), gudmundita (5 e 6). (b) com micro-organismo, evidenciando grãos de pirita (7), estibinita (8), gudmundita (9, 10 e 11) e quartzo (12). Condições experimentais: 22,5% de sólido, 47°C, pH 1,8 e 14 dias de ensaio.. 72

Figura 5.26. Análise de EDS do resíduo de bio-oxidação obtido do ensaio da influência do pH 2,0 na bio-oxidação do concentrado sulfetado, evidenciando um grão de pirita parcialmente oxidado. Condições experimentais: 47°C, pH 2,0, 1,5% de sólido, 2,0g/L de  $Fe^{2+}$  e 9 dias de ensaio..... 73

## LISTA DE TABELA

Tabela 3.1. Valores de taxa máxima de oxidação de ferro obtidos durante a bio-oxidação de um minério refratário de ouro em diferentes condições de temperaturas. ....	20
Tabela 3.2. Resultados das taxas máximas de solubilização de ferro e produção de sulfato (valores em mg/L/h) obtidos durante a oxidação de concentrado de pirita/arsenopirita por culturas mesófilas (30°C), termófilas moderadas (48°C) e termófilas extremas (70°C). ....	27
Tabela 4.1. Dados da distribuição granulométrica do concentrado sulfetado.....	37

## 1. INTRODUÇÃO

Os processos bio-hidrometalúrgicos, em função de menores custos operacionais e de investimento de capital em relação aos métodos tradicionais, tais como hidrometalúrgicos químicos e pirometalúrgicos, têm se mostrado atrativos na produção de uma gama de metais, tais como níquel, cobre, zinco e ouro. Dentro do campo das tecnologias de bioprocessos aplicadas na indústria minero-metalúrgica, a bio-oxidação de minérios refratários de ouro tem sido tema de pesquisas e, atualmente, é considerada uma técnica estabelecida no cenário industrial (KAKSONEN *et al.*, 2014).

A bio-oxidação é uma tecnologia empregada como etapa de pré-tratamento de minérios refratários de ouro, visando a posterior recuperação do metal de interesse (Au e Ag) por meio da cianetação. O pré-tratamento consiste na oxidação de espécies minerais pela ação de micro-organismos capazes de catalisar reações de oxidação do íon ferroso e/ou espécies reduzidas de enxofre, a exemplo do enxofre elementar e íons sulfeto ( KAKSONEN *et al.*, 2014). Desta forma, a oxidação dos sulfetos minerais permite a exposição do ouro retido na estrutura cristalina destes sulfetos, propiciando a sua recuperação em etapa posterior. Dentre os minerais susceptíveis ao processo de bio-oxidação, podem-se citar: a pirita ( $\text{FeS}_2$ ), arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ), pirrotita ( $\text{Fe}_{x-1}\text{S}$ ) e estibinita ( $\text{Sb}_2\text{S}_3$ ) (GRIGOR'EVA *et al.*, 2014; TRINDADE e BARBOSA, 2002).

Várias espécies de micro-organismos com habilidade de oxidar  $\text{Fe}^{2+}$  e/ou compostos sulfetados já foram identificadas (RIVADENEIRA, 2010). Dentre eles, a espécie mesófila *Acidithiobacillus ferrooxidans* é a mais utilizada em estudos de bio-oxidação/biolixiviação de sulfetos metálicos (BEVILAQUA *et al.*, 2002). Entretanto, a fim de se obter ganhos na cinética de dissolução em relação à apresentada nos sistemas contendo bactérias mesófilas, o uso de micro-organismos termófilos aparece como uma alternativa promissora (GRIGOR'EVA *et al.*, 2014). Nesse sentido, a espécie termófila moderada, *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, vem sendo comumente estudada em processos de oxidação bacteriana (CLARK e NORRIS, 1996; WATLING *et al.*, 2008; PINA *et al.*, 2010; BECKER *et al.*, 2011; BULAEV *et al.*, 2012).

Os processos de oxidação bacteriana de sulfetos minerais são fortemente dependentes de fatores físicos, químicos e microbiológicos, tais como tamanho da partícula, características

mineralógicas dos minérios e de seus concentrados, pH e temperatura. Além disso, os microorganismos envolvidos nos processos de bio-oxidação de sulfetos minerais podem sofrer efeitos deletérios na presença de elementos tóxicos em solução, tais como, arsênio, antimônio, cobre, zinco e prata (BROOY *et al.*, 1994).

Neste contexto, o presente trabalho visa estudar a bio-oxidação de um concentrado sulfetado pela bactéria termófila moderada *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, a fim de avaliar a influência da concentração inicial de sulfato ferroso, pH e porcentagem da polpa sobre a bio-oxidação destes sulfetos.

## 2. RELEVÂNCIA E OBJETIVOS

A crescente demanda por produtos metálicos e o empobrecimento das reservas minerais tem estimulado a procura por processos alternativos para extração de metais. A redução de custos no processo, aliada ao surgimento de leis ambientais mais rigorosas, do ponto de vista da emissão de efluentes e disposição de resíduos, tem contribuído para que a biohidrometalurgia seja amplamente estudada e, atualmente reconhecida como um processo promissor para a extração de metais de interesse econômico.

Quando comparada as demais rotas, tais como ustulação e lixiviação sob pressão, a bio-oxidação tem-se mostrado atrativa economicamente para minérios de baixo teor e rejeitos, principalmente em função da redução dos custos operacionais e de investimento de capital inicial (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Além disso, é ambientalmente mais aceita, uma vez que não gera gases tóxicos, como no processo pirometalúrgico (ZHANG *et al.*, 2008), sendo assim, não requer logística de adequação deste poluente gasoso às leis ambientais.

Dentre os fatores limitantes da bio-oxidação está a sua lenta cinética de oxidação, quando comparada a alternativas tradicionalmente empregadas no processamento de sulfetos metálicos. A temperatura é um parâmetro relevante na cinética das reações químicas em sistemas de biolixiviação/bio-oxidação. Diante disso, o uso de micro-organismos termófilos moderados tem tido destaque em processos de oxidação biológica, por possibilitarem o emprego de temperaturas mais altas, a fim de se obter ganhos na cinética de dissolução (CLARK e NORRIS, 1996). Contudo, ainda há um número reduzido de estudos envolvendo os termófilos.

O concentrado sulfetado utilizado neste estudo apresenta em sua composição arsênio e antimônio, os quais podem afetar o crescimento dos micro-organismos envolvidos no processo, reduzindo a eficiência na oxidação dos minerais sulfetados. Além disso, o arsênio é um elemento frequente em minerais auríferos, o que justifica ainda mais o direcionamento de estudos com minérios contendo este elemento.

Nesse contexto, o objetivo geral deste trabalho foi estudar a bio-oxidação de um concentrado sulfetado com micro-organismos termófilos moderados (*Sulfobacillus thermosulfidooxidans*). Os objetivos específicos são apresentados a seguir:



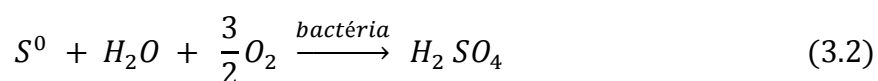
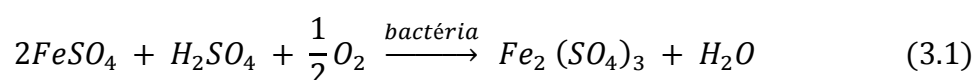
- ✓ Avaliar a influência da concentração inicial de  $\text{Fe}^{2+}$  na bio-oxidação do concentrado sulfetado;
- ✓ Avaliar o efeito da variação do pH na bio-oxidação do concentrado sulfetado;
- ✓ Avaliar o efeito de diferentes percentuais de sólido no crescimento microbiano e na bio-oxidação dos sulfetos, tendo como enfoque o efeito de arsênio e antimônio no processo;
- ✓ Realizar a caracterização dos resíduos gerados nos ensaios de bio-oxidação.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 *Biominação*

A dissolução de metais ocorre naturalmente em áreas de mineração de sulfetos e, por muito tempo foi considerada como um fenômeno exclusivamente químico, que ocorria mediante a ação conjunta de água e oxigênio atmosférico (URBANO *et al.*, 2001). Somente em 1947, ao se descobrir a existência de bactérias em amostras de rejeito, os micro-organismos foram considerados como os responsáveis pela oxidação das espécies sulfetadas. Desde então, iniciou-se um esforço de pesquisas técnico-científicas, destinado a compreender ao máximo esses seres vivos, a fim de alcançar elevado rendimento econômico na recuperação de metais (DOMIC, 2001). Diante disso, foram desenvolvidos bioprocessos aplicados à metalurgia extrativa fundamentados na capacidade de oxidação de sulfetos minerais por certos micro-organismos, os quais são nomeados de biolixiviação e bio-oxidação.

Os processos de bio-oxidação e biolixiviação são baseados na capacidade de certos micro-organismos catalisarem reações de oxidação do íon ferroso ( $Fe^{2+}$ ) a íon férrico ( $Fe^{3+}$ ) e/ou espécies reduzidas de enxofre (como o enxofre elementar) a ácido sulfúrico, com consequente dissolução do mineral (RIVADENEIRA, 2010). As Equações 3.1 e 3.2, apresentadas a seguir, mostram o efeito catalisador da atuação dos micro-organismos na oxidação do sulfato ferroso e enxofre elementar, respectivamente.



Ainda que apresentem similaridades quanto à oxidação da matriz mineral e a atuação dos micro-organismos, os processos de biolixiviação e bio-oxidação se configuram de maneiras particulares. Na biolixiviação, o metal de interesse econômico contido no sulfeto é liberado para a solução aquosa (ROHWERDER *et al.*, 2003). Já a bio-oxidação é empregada com a finalidade de promover o rompimento das estruturas cristalinas do mineral sulfetado através da sua oxidação, tornando assim, possível o acesso do íon cianeto ao metal de interesse em etapa posterior (BROOY *et al.*, 1994). Portanto, como neste caso o metal de interesse não é

lixiviado, mas sim exposto no resíduo remanescente, o termo bio-oxidação é preferencialmente usado (ROHWERDER *et al.*, 2003). A “Biominação” é um termo geral que abrange ambas tecnologias (RAWLINGS, 1997).

Dentre os minérios que podem ser biolixiviados, podemos mencionar os sulfetos de cobre, zinco e cobalto (VIERA *et al.*, 2007). Já os minérios sulfetados refratários de ouro e prata são submetidos ao processo de bio-oxidação (ROHWERDER *et al.*, 2003). Dentre os minerais susceptíveis ao processo de bio-oxidação, podemos citar: a pirita ( $\text{FeS}_2$ ), arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ), pirrotita ( $\text{Fe}_{x-1}\text{S}$ ) e estibinita ( $\text{Sb}_2\text{S}_3$ ) (GRIGOR'EVA *et al.*, 2014; TRINDADE e BARBOSA, 2002). No Brasil, os minérios que apresentam certo grau de refratariedade são processados na mina de São Bento, em Santa Barbara (MG), e na mina de Sabará (MG), da mineração da AngloGold (TRINDADE e BARBOSA, 2002).

A refratariedade atribuída aos minérios sulfetados de ouro deve-se à resistência aos métodos de cianetação. BROOY *et al.* (1994) classificam esses minérios quanto ao grau de resistência ao processo de cianetação convencional em: i) altamente refratários: recuperação de ouro menor do que 50%; ii) moderadamente refratários: recuperação do metal entre 50-80%; iii) ligeiramente refratários: recuperação do metal entre 80-90%; iv) não-refratário: recuperação do metal entre 90-100%.

Para os minérios sulfetados, a origem da refratariedade está associada à oclusão ou disseminação do ouro na matriz do mineral e à inacessibilidade do reagente ao metal precioso ( KAKSONEN *et al.*, 2014). Portanto, para a recuperação do ouro a partir de tais minérios, faz-se necessário à realização de uma etapa de pré-tratamento físico ou químico, de forma a romper a estrutura cristalina do mineral, expondo a partícula do metal precioso ao agente lixiviante. Além da bio-oxidação, também citam-se como tratamentos pré-oxidativos: i) moagem fina ( $100\% < 38\mu\text{m}$ ); moagem ultrafina (1-20  $\mu\text{m}$ ); ii) tratamento químico: oxidação sob pressão em condições alcalina ou ácida, Processo Artech/Cashman, Processos Nitrox/Redox, Processo Activox, Ácido de Caro e Eletroquímico; iii) tratamento térmico: ustulação (“roasting”) (BROOY *et al.*, 1994). Contudo, dentre tais tratamentos destacam-se a ustulação, oxidação sob pressão e bio-oxidação.

Em função da economia de custos operacionais e de investimento de capital inicial, a aplicação industrial dos processos biohidrometalúrgicos tem-se mostrado atrativa

economicamente para minérios de baixo teor e rejeitos, sobretudo quando comparados à ustulação e a oxidação aquosa sob pressão. Dentre as vantagens da bio-oxidação, destacam-se: i) o processo não requer usina de oxigênio, uma vez que o presente no ar é utilizado para oxidar os sulfetos; ii) menor gasto energético para a oxidação do mineral; iii) economia de reagentes, como ácidos e agentes oxidantes, os quais são parcialmente produzidos pelos micro-organismos; iv) baixo capex devido à simplicidade das instalações utilizadas; v) necessidade de mão-de-obra especializada reduzida, como consequência da baixa complexidade de operação (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Além disso, os processos de lixiviação/oxidação mediados por micro-organismos não geram dióxido de enxofre, como no processo pirometalúrgico (ZHANG *et al.*, 2008), sendo assim, não requerem logística de adequação deste poluente gasoso em conformidade às leis ambientais.

A bio-oxidação de minérios refratários de ouro é aplicada industrialmente em biorreatores e pilhas (KAKSONEN *et al.*, 2014). A configuração em pilhas é sugerida nas seguintes situações: i) processamento de minérios com baixo teor, no qual a etapa de concentração do minério torna o processo inviável economicamente; ii) presença de sulfetos refratários com características mineralógicas que impossibilitam sua concentração; iii) usinas de pequeno porte (BRIERLEY e BRIERLEY, 2001).

Essas vantagens econômicas somadas à eficiência de processo tornam a bio-oxidação de minérios refratários uma tecnologia consolidada no cenário atual da indústria extrativa mineral. Dentre os processos comerciais incluem-se: BIOX<sup>®</sup>, BACOX<sup>®</sup>, BacTech, GEOCOAT<sup>®</sup> e BIANORD<sup>®</sup>. A primeira aplicação da bio-oxidação de minérios refratários de ouro em escala industrial ocorreu em 1986, na mina de Fairview (África do Sul), com o processo BIOX<sup>®</sup> desenvolvido pela Gencor. Recentemente, países como Austrália, Gana, Peru, China, Rússia, Cazaquistão, África do Sul, Estados Unidos e Uzbequistão utilizam esta tecnologia no processamento do ouro (KAKSONEN *et al.*, 2014). No Brasil, essa tecnologia foi aplicada no início da década de 90 na mina de São Bento, em Minas Gerais. Nesta usina, o processo BIOX<sup>®</sup>, combinado à oxidação sob pressão, era utilizado em função da natureza altamente refratária do minério de ouro (MÁRQUEZ *et al.*, 2006).

### 3.1.1 *Micro-organismos envolvidos nos processos de bio-oxidação*

Várias espécies de micro-organismos usadas atualmente em biolixiviação/bio-oxidação foram isoladas de locais onde ocorre a oxidação natural de sulfetos metálicos. Dentre os micro-organismos envolvidos no processo de oxidação de sulfetos metálicos incluem-se: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, *Sulfolobus acidocaldarius*, (OLIVEIRA *et al.*, 2010; REITH *et al.*, 2012). Estes micro-organismos, de um modo geral, são acidófilos e quimiolitotróficos. São também classificados de acordo com a temperatura na qual se desenvolvem, sendo: i) mesófilos, crescendo a temperaturas que variam de 25 - 35°C; ii) termófilos moderados cuja temperatura ótima de crescimento situa-se entre 40°C a 55°C e iii) termófilos extremos que são capazes de se desenvolver em temperaturas de 50°C a 80°C (WATLING, 2006; RIVADENEIRA, 2010).

Os micro-organismos termófilos moderados vêm se mostrando atrativos em processos de oxidação biológica, por possibilitarem o emprego de temperaturas mais altas, a fim de se obter eficiência na cinética de dissolução (SICUPIRA, 2011; CLARK e NORRIS, 1996). A bactéria *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, utilizada nesta dissertação, pertence ao gênero *Sulfobacillus*, o qual classificam-se bactérias acidófilas e termófilas moderadas encontradas em rejeitos sulfetados da mineração de carvão, fontes geotérmicas ácidas e pilhas de minérios sulfetados. Segundo Watling *et al.* (2008), quatro espécies são identificadas neste gênero: *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, *Sulfobacillus yellowstonensis*, *Sulfobacillus thermotolerans* e *Sulfobacillus sibiricus*, sendo estas constituídas de células gram-positiva com forma de bastão (KARAVAIKO *et al.*, 2006).

A espécie *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* é quimiolitotrófica facultativa, sendo capaz de oxidar substratos inorgânicos, como íons ferrosos e compostos reduzidos de enxofre, como fonte de energia (KARAVAIKO *et al.*, 2006). Além disso, segundo NORRIS *et al.* (2016), a bactéria *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* (VKM B-1269) desenvolve metabolismo autotrófico e mixotrófico (utiliza conjuntamente produtos orgânicos e inorgânicos como fonte de carbono e/ou energia) na presença mútua de ferro, enxofre elementar e extrato de levedura. Contudo, pode crescer heterotroficamente em meio contendo extrato de levedura como substrato.

De acordo com estudo desenvolvido por Grigor'eva *et al.* (2014), o gênero *Sulfobacillus* desempenha um importante papel na bio-oxidação de minérios refratários de ouro. No estudo qualitativo e quantitativo da comunidade de termoacidófilos quimiolitotróficos conduzido pelos autores, constatou-se a predominância de *Sulfobacillus thermotolerans*, *Acidithiobacillus caldus* e *Ferroplasma spp* nas condições experimentais com melhores resultados de crescimento e oxidação do concentrado de minério refratário de ouro contendo pirita (35,0%), arsenopirita (8,0%) e estibinita (0,56%). Os experimentos, com duração de 9 dias foram realizados em frascos agitados a  $190\text{min}^{-1}$ . Foram avaliadas as influências do pH (0,9-1,8 com variação de 0,1) e temperatura ( $40^{\circ}\text{C}$ - $50^{\circ}\text{C}$  com variação de  $2,5^{\circ}\text{C}$ ) sobre a bio-oxidação do minério refratário de ouro e o crescimento dos micro-organismos envolvidos neste processo. Os parâmetros ótimos determinados neste estudo foram: pH 1,4-1,8 e  $47,5^{\circ}\text{C}$ . Valores de pH acima de 1,2 mostraram-se mais favoráveis para o crescimento microbiano, com máxima concentração celular ( $3,25 \times 10^9$  células/mL) em pH 1,6. A concentração de  $\text{Fe}^{3+}$  mais alta (17,5g/L) foi constatada em pH 1,4, seguida por 16,4g/L para pH 1,5 e 1,6. O cultivo em pH 1,6 possibilitou melhores condições de oxidação de ferro (4,2g/L.dia).

Na tabela 3.1, são apresentados os valores da taxa máxima de oxidação de ferro nas temperaturas estudadas (GRIGOR'EVA *et al.*, 2014). Os ensaios conduzidos a  $47,5^{\circ}\text{C}$  e  $50,0^{\circ}\text{C}$ , além de revelarem maiores taxas de oxidação de ferro, também possibilitaram maior solubilização de ferro do que as demais condições de temperatura, atingindo 12,95g/L e 12,88g/L, respectivamente. Embora os ensaios a  $50^{\circ}\text{C}$  tenham possibilitado bons resultados de oxidação de ferro, foi constatado efeito nocivo da temperatura sobre a comunidade microbiana. Para esta condição de temperatura, a população celular apresentou um pico ( $12,3 \times 10^8$  células/mL) no 3º dia e manteve-se em fase estacionária até o final do experimento. Além disso, foi observada lise celular em resposta ao aumento na temperatura. Por outro lado, não foi constatado influencia negativa da temperatura no crescimento celular a  $47,5^{\circ}\text{C}$ , atingindo máxima concentração celular igual a  $27,5 \times 10^8$  células/mL (GRIGOR'EVA *et al.*, 2014).

Tabela 3.1. Valores de taxa máxima de oxidação de ferro obtidos durante a bio-oxidação de um minério refratário de ouro em diferentes condições de temperaturas.

Temperatura (°C)	Taxa máxima oxidação de ferro (g/L.dia)
40,0	1,54
42,5	2,04
45,0	1,86
47,0	2,80
50,0	2,73

(Fonte: adaptado de Grigor'eva *et al.* (2014).

### 3.1.2 Mecanismos de oxidação de sulfetos minerais por bactérias

Muitas informações sobre os mecanismos de oxidação de sulfetos minerais por micro-organismos têm sido publicadas (CRUNDWELL *et al.*, 2003; SAND *et al.*, 2001; RODRÍGUEZ, 2003), no entanto, estes estudos ainda concentram-se nas espécies *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans*. Sendo assim, a maior parte dos estudos que empregam bactérias termoacidófilas na oxidação de sulfetos minerais estão embasados nestas espécies, as quais são comumente empregadas na indústria minero-metalúrgica.

A literatura científica relata a possibilidade de dois mecanismos atuarem durante a dissolução de minerais sulfetados, sendo eles: “mecanismo direto” e “mecanismo indireto” (CRUNDWELL *et al.*, 2003), sendo este último, subdividido em “mecanismo de contato” e “mecanismo de não-contato” (SAND *et al.*, 2001). Contudo, a atuação bacteriana na dissolução dos sulfetos minerais por meio destes mecanismos permanece controversa e, embora diferentes autores estejam de acordo com vários aspectos relacionados ao fenômeno, nenhuma teoria unificada foi aceita (RODRÍGUEZ, 2003).

No “mecanismo direto”, os micro-organismos aderidos à superfície do mineral, realizam a dissolução oxidativa do mesmo por meio de reações enzimáticas, ou seja, por meios

puramente biológicos sem a presença de íons férricos ou ferrosos (CRUNDWELL, 2003). Existem dúvidas razoáveis quanto à atuação dos micro-organismos na biolixiviação/bio-oxidação através deste mecanismo.

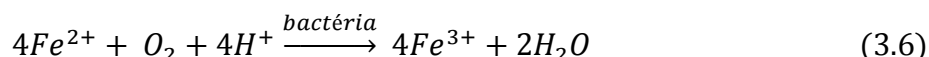
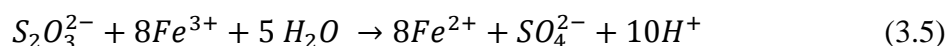
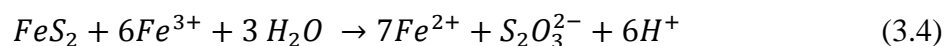
O “mecanismo indireto de não-contato” consiste na oxidação química do mineral por meio de agentes lixiviantes (íons  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{H}^+$ ), os quais são produzidos pela bactéria durante a oxidação de substratos solúveis, como  $\text{Fe}^{2+}$  e compostos reduzidos de enxofre. Durante a oxidação do sulfeto, o íon férrico é convertido a íon ferroso. A função do micro-organismo, nesse caso, é reoxidar o íon ferroso a íon férrico, regenerando assim o agente oxidante (SAND e GEHRKE, 2006).

O “mecanismo indireto de contato” ocorre de maneira similar ao indireto de não-contato. Entretanto, as reações de oxidação dos íons ferrosos acontecem na interface micro-organismo/mineral, e é mediada por substâncias poliméricas extracelulares (EPS - *Extracellular Polymeric Substances*) (CRUNDWELL *et al.*, 2003). Desta forma, a concentração do agente oxidante ( $\text{Fe}^{3+}$ ) na interface sólido/solução contribui para uma aceleração da velocidade de oxidação do sulfeto (SAND *et al.*, 2001; RODRÍGUEZ, 2003).

A dissolução de sulfetos minerais, através do mecanismo indireto, envolve duas vias, sendo a reatividade do minério aos prótons, o critério determinante da rota (SCHIPPERS e SAND, 1999; SAND *et al.*, 2001, ROHWERDER *et al.*, 2003). O “mecanismo do tiosulfato” é aplicado a sulfetos insolúveis em ácido tais como, pirita ( $\text{FeS}_2$ ), molibdenita ( $\text{MoS}_2$ ) e tungstênita ( $\text{WS}_2$ ). Enquanto os sulfetos solúveis em ácido como, esfarelita ( $\text{ZnS}$ ), galena ( $\text{PbS}$ ), arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ) e calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ), são oxidados segundo o “mecanismo do polissulfeto”.

No “mecanismo do tiosulfato”, devido à insolubilidade em meio ácido, os sulfetos são oxidados exclusivamente por íons  $\text{Fe}^{3+}$ , resultando na formação de cátions ( $\text{Me}^{2+}$ ) e do intermediário tiosulfato ( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ). Na presença de oxigênio, bactérias oxidantes de  $\text{Fe}^{2+}$ , tais como *Acidithiobacillus ferroxidans* e *Leptospirillum ferroxidans* regeneram o agente oxidante. O tiosulfato, após uma série de reações, é oxidado liberando sulfato como produto final (SAND e GEHRKE, 2006; ROHWERDER *et al.*, 2003). As Equações (3.4) a (3.6) descrevem o mecanismo de biolixiviação da pirita pelo ataque químico indireto de íons férricos através do mecanismo do tiosulfato (SAND *et al.*, 2001).





No “mecanismo do polissulfeto”, os sulfetos são oxidados pela ação combinada de íons  $Fe^{3+}$ , e prótons ( $H^+$ ), gerando  $Me^{2+}$  e polissulfeto ( $H_2S_n$ ). Este último é oxidado a enxofre elementar e, posteriormente, a sulfato pela ação de bactérias. Na ausência de bactérias oxidantes de enxofre, mais de 90% do sulfeto é transformado em enxofre elementar no curso da oxidação do polisulfeto (SCHIPPERS e SAND, 1999).

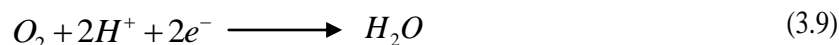
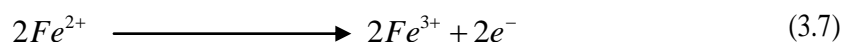
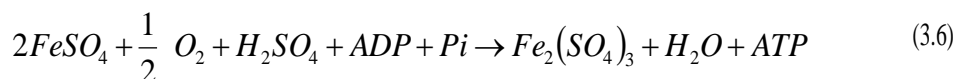
### 3.1.3 Fatores que afetam a bio-oxidação de sulfetos minerais

Altas recuperações de ouro a partir de sulfetos minerais utilizando processos biotecnológicos requerem condições operacionais ótimas para o crescimento microbiano e oxidação dos substratos energéticos durante a bio-oxidação (GRIGOR'EVA *et al.*, 2014). Dentre os fatores que influenciam os processos de bio-oxidação de minérios refratários incluem-se:

#### a) Potencial hidrogeniônico

Os micro-organismos envolvidos no processo de bio-oxidação são acidófilos. Contudo, o pH ótimo de crescimento é inerente ao tipo de micro-organismo, por exemplo, a bactéria *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* apresenta crescimento ótimo em pH 1,7-1,8 e desenvolvimento na faixa de pH de 1,1-2,4 (KARAVAIKO *et al.*, 2006). Esta bactéria obtém energia a partir da oxidação de compostos inorgânicos como  $Fe^{2+}$  e espécies reduzidas de enxofre, sendo os íons  $H^+$  de grande importância na produção de ATP (trifosfato de adenosina).

O processo de oxidação do íon  $Fe^{2+}$  está sucintamente apresentado nas Equações 3.6, 3.7, 3.8 e 3.9 (GARCIA Jr, 1989; OLIVEIRA, 2009), nas quais se verifica a oxidação do sulfato ferroso a sulfato férrico e água, sob condições ácidas. O  $Fe^{2+}$  atua como um doador de elétrons para a bactéria, liberando a energia requerida para a fosforilação de difosfato de adenosina (ADP), sendo o  $O_2$  o acceptor final dos elétrons (GARCIA Jr, 1989):



Onde  $Pi$  = fosfato inorgânico

Tomando como exemplo a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, sua cadeia respiratória contém três proteínas importantes para o fluxo de elétrons, os citocromos *c* e *a* e a rusticianina, uma proteína periplasmática importante para a oxidação do  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$  (Figura 3-1). Assim, esta oxidação é iniciada no periplasma, onde a rusticianina transfere o elétron produzido na oxidação do íon férrico para o citocromo *c* e este, por sua vez, reduz o citocromo *a* (MADIGAN e MARTINKO, 2004). De acordo com a equação 3.9, o íon  $H^+$  é necessário para a redução do  $O_2$ , reação esta mediada pelo citocromo *a*. O ATP é sintetizado a partir de ATPases translocadoras de prótons (Figura 3.1).

Há um grande gradiente de prótons proporcionado pela diferença entre o pH do meio intracelular, o qual encontra-se próximo da neutralidade ( $pH \pm 6,5$ ) e o extracelular, normalmente com valores próximos a 2,0 (OLIVEIRA, 2009). Assim, os prótons que penetram no citoplasma por intermédio das ATPases devem ser consumidos, para que o pH interno seja mantido na faixa ideal. Estes íons  $H^+$  são consumidos durante a produção de água, reação que requer os elétrons oriundos da oxidação do  $Fe^{2+}$  (equações 3.6 a 3.9). Dessa forma, enquanto houver  $Fe^{2+}$  disponível, a síntese de ATP irá ocorrer, principalmente, a expensas da força próton motiva natural existente na membrana citoplasmática (MADIGAN e MARTINKO, 2004).

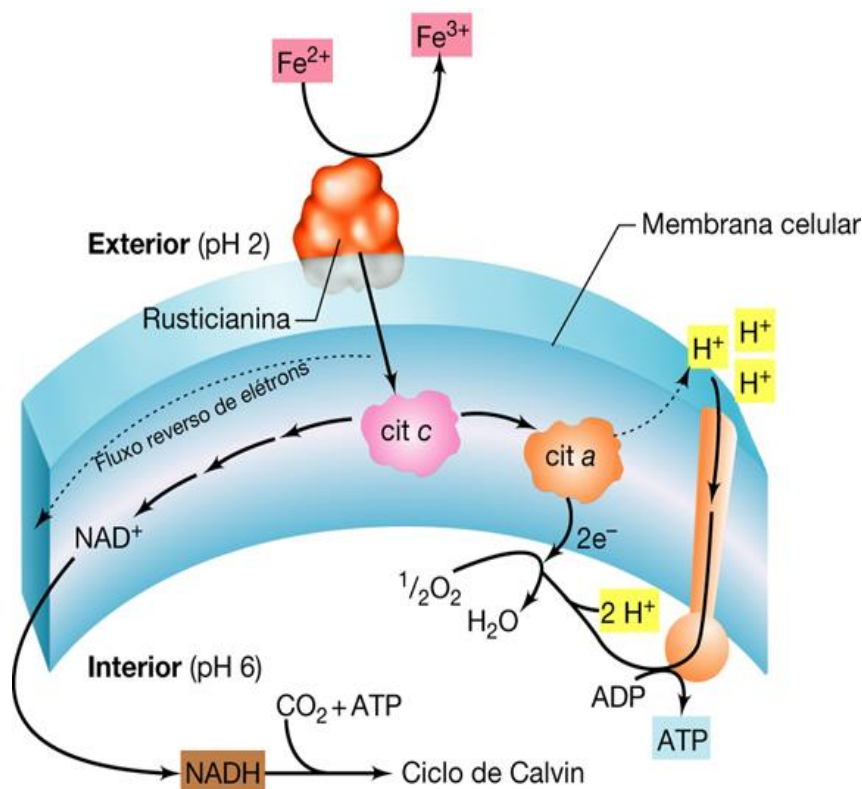


Figura 3.1. Fluxo de elétrons durante a oxidação do  $\text{Fe}^{2+}$  por *Acidithiobacillus ferrooxidans*.  
 Fonte: Madigan e Martinko (2004).

Outro aspecto importante é que o fluxo reverso de elétrons gera poder redutor, eventualmente NADH (Nicotinamida adenina dinucleotídeo), necessário para a fixação do  $\text{CO}_2$  atmosférico pelo ciclo de Calvin (OLIVEIRA, 2009). Além da influência biológica do pH na bio-oxidação, este parâmetro é também fundamental no controle da precipitação de íon férrico (RIVADENEIRA, 2010; FRANCISCO Jr. *et al.*, 2007). Entre os precipitados citam-se: jarosita, hidróxido férrico  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ , oxi-hidróxidos de ferro ( $\text{FeOOH}$ ) e arsenato férrico ( $\text{FeAsO}_4$ ) (OLIVEIRA, 2009; PINA, 2006; RIVADENEIRA, 2010; BEVILAQUA *et al.*, 2002; TUOVINEN *et al.*, 1994, HENAO e GODOY, 2010; FANTAUZZI *et al.*, 2011). Informações mais detalhadas sobre a formação destes precipitados serão fornecidas na seção 3.1.4.

Henao e Godoy (2010), assim como Márquez *et al.* (2006), ao estudarem a bio-oxidação de sulfetos minerais detectaram jarosita contendo arsênio, a qual é formada por solução sólida substitucional de elementos constituintes da jarosita, conforme discutido por Kubisz, (1970), Dutrizac e Jambor, (1988) e Scott (1987). Em sistemas de biolixiviação/bio-oxidação a formação de precipitados férricos é fortemente influenciada pelo pH, temperatura e

concentração de íons férricos, sendo que uma elevação na temperatura ou no valor do pH favorecem a formação destes precipitados (RIVADENEIRA, 2010).

A literatura relata que a geração de precipitados férricos pode acarretar em diminuição na cinética de dissolução durante a biolixiviação/bio-oxidação de sulfetos (OLIVEIRA, 2009; RIVADENEIRA, 2010). No entanto, a causa dessa redução ainda apresenta controvérsias. De acordo com alguns autores, o motivo desta inibição refere-se ao revestimento da partícula a ser oxidada por esses compostos insolúveis, dificultando o acesso do agente lixiviante à partícula mineral e, conseqüentemente, inibindo o progresso da reação de oxidação (RIVADENEIRA, 2010; MUÑOZ *et al.*, 1995b).

Por outro lado, alguns autores sugerem como causa da redução na cinética de oxidação o aprisionamento de íons férricos e nutrientes do meio de cultura na estrutura da jarosita, os quais são necessários para o crescimento dos micro-organismos (PINA, 2006; NAZARI *et al.*, 2014). Fantauzzi *et al.* (2011) investigaram a formação de subprodutos da biolixiviação de pirita e arsenopirita em reatores agitados mecanicamente (STR: *stirred tank reactor*) utilizando *Acidithiobacillus ferrooxidans* sob condições de pH inicial 2,3 a 28°C. Os autores identificaram a presença de precipitados de oxi-hidróxidos de ferro (FeOOH) e jarosita sobre as partículas minerais dos resíduos biolixiviados. Contudo, a formação destas formas insolúveis não teve efeito prejudicial sobre o processo de oxidação do mineral, o qual alcançou percentuais de dissolução de pirita e arsenopirita iguais a 95% e 85%, respectivamente. Nazari *et al.* (2014), ao estudarem o efeito da formação de precipitados férricos sobre o comportamento dos íons necessários para o crescimento de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, constataram que a concentração de íons de potássio (K<sup>+</sup>) foi significativamente reduzida após 5 dias do processo de bio-lixiviação em níveis de pH superiores a 1.9. A razão, segundo os autores, poderia estar relacionada à precipitação destes íons como jarosita.

A literatura científica relata ainda que a presença de precipitados de ferro no produto da bio-oxidação pode levar a um aumento no consumo de cianeto na etapa de cianetação pela formação de hexacianoferratos (KOMNITSAS e POOLEY, 1990; CIFTCI e AKCIL, 2010). Em suma, o pH apresenta um papel fundamental na oxidação bacteriana do íon ferroso, sendo um parâmetro que deve ser avaliado durante a solubilização dos metais através da bio-oxidação. Grigor'eva *et al.* (2014), ao estudarem a influência do pH na bio-oxidação de um concentrado de flotação (pirita-arsenopirita) por micro-organismos termófilos moderados,

verificaram que a melhor eficiência de crescimento microbiano e dissolução da matriz mineral ocorreu na faixa de pH 1,4-1,8 .

#### b) Temperatura

O metabolismo microbiano é altamente susceptível às alterações de temperatura. Dessa forma, quando há um aumento de temperatura, a velocidade das reações químicas e enzimáticas na célula tende a aumentar, o que acarreta significativa aceleração da taxa de crescimento. Contudo, quando a temperatura excede a faixa compatível com o desenvolvimento pleno do micro-organismo, a qual inclui temperaturas mínima, ótima e máxima de crescimento, inicia-se o processo de desnaturação de proteínas e ácidos nucleicos, impossibilitando a sobrevivência celular (MADIGAN e MARTINKO, 2004). A bactéria *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* se desenvolve na faixa de 26,0°C – 58,0°C, sendo a temperatura ótima de crescimento próxima a 50°C (WATLING *et al.*, 2008).

Estudos de biolixiviação de pirita realizados por He *et al.* (2012) mostraram mudanças na diversidade da comunidade microbiana em resposta às alterações de temperatura iguais a 30°C, 35°C, 40°C e 45°C. A comunidade microbiana era composta por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Acidithiobacillus caldus*, *Leptospirillum ferrooxidans* e *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. Entre as espécies, a *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* apresentou-se predominante em temperaturas iguais a 40°C e 45°C.

A temperatura é um parâmetro relevante na cinética das reações químicas em sistemas de biolixiviação/bio-oxidação. Estudos têm mostrado que a taxa de dissolução da pirita a 40°C e 50°C é suficientemente rápida, enquanto que, no caso da calcopirita, são necessárias temperaturas maiores que 80°C para que o processo seja acelerado à níveis aceitáveis para a viabilidade do processo (VILCÁEZ *et al.*, 2008). Um outro aspecto a ser considerado na biolixiviação/bio-oxidação de sulfetos é o caráter exotérmico destes processos, o qual eleva a temperatura do sistema para valores incompatíveis com as condições exigidas pelos micro-organismos mesófilos, podendo necessitar de sistema de resfriamento nos reatores industriais (BULAEV *et al.*, 2011).

Clark e Norris (1996) avaliaram a oxidação de um concentrado de pirita/arsenopirita em reator air-lift em diferentes temperaturas (30°C, 48°C e 70°C) utilizando micro-organismos

mesófilos (*Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans*), termófilos moderados (*Sulfobacillus thermosulfidooxidans*) e termófilos extremos (*Sulfolobus ssp*). Os elementos principais do concentrado de pirita/arsenopirita eram: Fe (19,1%), S (19,4%), As (3,8%) e Cu (0,1%). Foi evidenciado que, em baixa concentração do mineral (2% m/v), a taxa de dissolução de pirita/arsenopirita foi proporcional à temperatura dentro da faixa de 30-70°C. Contudo, no ensaio conduzido com consórcio microbiano de termófilos extremos, a 70°C e em alta concentração do mineral (10% m/v), verificou-se o efeito inibidor para os micro-organismos (Tabela 3.1). Portanto, para esta condição de concentração, o aumento na cinética de dissolução em relação à apresentada nos sistemas contendo bactérias mesófilas foi somente constatada nos ensaios conduzidos com termófilos moderados a 48°C. Na Tabela 3.1 estão apresentadas as taxas máximas de solubilização de ferro e de produção de sulfato referentes à biolixiviação dos concentrados de pirita/arsenopirita por meio dos micro-organismos acidófilos. De acordo com os autores, a atividade dos termófilos extremos poderia ser favorecida através da seleção ou adaptação dos micro-organismos ou ainda, pela adequação do design do reator, a fim de minimizar a inibição microbiana devido à tensão de cisalhamento e estresse causados pela agitação.

Tabela 3.2. Resultados das taxas máximas de solubilização de ferro e produção de sulfato (valores em mg/L/h) obtidos durante a oxidação de concentrado de pirita/arsenopirita por culturas mesófilas (30°C), termófilas moderadas (48°C) e termófilas extremas (70°C).

	<b>Temperatura (°C)</b>		
	30	48	70
<b>2% (m/v) de sólido</b>			
Ferro	13	30	70
Sulfato	38	75	225
<b>10% (m/v) de sólido</b>			
Ferro	44	89	-
Sulfato	36	288	-

Fonte: adaptado de Clark e Norris (1996).

### c) Características da amostra mineral

A lixiviação de sulfetos metálicos mediada por micro-organismos é influenciada pelas características mineralógicas das amostras sólidas. Sendo assim, os diferentes tipos de minerais conferem particularidades ao processo (p.ex.: oxidação preferencial do sulfeto devido efeitos galvânicos e produtos de oxidação distintos) e, por isso, necessitam ser bem compreendidas. Dentre tais características, citam-se: i) presença de elementos tóxicos aos micro-organismos no sólido e; ii) natureza e composição do sulfeto (KOMNITAS e POOLEY, 1990; HENAO e GODOY, 2010; TSAPLINA *et al.*, 2013).

#### i) *Presença de elementos tóxicos aos micro-organismos nas amostras*

O crescimento dos micro-organismos envolvidos nos processos de bio-oxidação de sulfetos minerais pode ser afetado na presença de Cu, Zn, As, Sb e Ag em solução, entretanto, os micro-organismos podem ser adaptados a certo grau a estas substâncias tóxicas na polpa (BROOY *et al.*, 1994). O processo de seleção dos micro-organismos à polpa é realizado com o intuito de aumentar a tolerância dos mesmos aos elementos possivelmente tóxicos presentes no sólido que será bio-oxidado (HAGHSHENAS *et al.*, 2009). Neste processo, o micro-organismo entra em contato com o resíduo ou o minério por meio de repicagens sequenciais com concentrações crescentes do material sólido (YAMANE *et al.*, 2011).

Durante a bio-oxidação de concentrados contendo ouro, várias substâncias tóxicas podem ser dissolvidas, dentre elas, antimônio e arsênio. Estes elementos são comumente encontrados em minérios submetidos à processos de bio-oxidação, sendo, de modo geral, presentes na forma de arsenopirita (FeAsS) e estibinita (Sb<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) e gudmundita (FeSbS) (GRANATO, 1986). Espécies iônicas de antimônio e arsênio dissolvidas durante a lixiviação podem apresentar efeitos deletérios sobre o crescimento microbiano, como também na bio-oxidação. Um estudo sobre bio-oxidação de sulfetos minerais ricos em antimônio avaliou o efeito deste elemento sobre o crescimento dos micro-organismos termoacidófilos *Sulfobacillus spp*, *Leptospirillum spp* e *Ferroplasma spp* (TSAPLINA *et al.*, 2013). Os resultados evidenciaram que o consórcio microbiano foi capaz de crescer na presença do antimônio, além de oxidar minérios contendo uma ampla faixa de teores de estibinita (0,84-29,95%). Contudo, foi constatada uma relação entre a taxa de crescimento específico das populações microbianas com a composição do minério, sendo que a maior taxa (0,053h<sup>-1</sup>) foi observada para amostras contendo baixo

conteúdo de sulfeto de antimônio (2,89%). A taxa mais baixa de crescimento ocorreu no meio contendo o minério mais pobre em recursos energéticos,  $S^{2-}$  /  $S^0$  e pirita. Ainda, foram observados indicativos de inibição, tais como, diminuição da população microbiana e alteração do estado fisiológico das células (presença de esporos, lise celular e mudança na morfologia das células) (TSAPLINA *et al.*, 2013). Neste estudo, não foi monitorada a concentração de antimônio com o tempo, sendo os valores de extração deste elemento determinados pela diferença entre os teores iniciais e os contidos no resíduo bio-oxidados. Diante disso, verifica-se certa complexidade na compreensão dos danos constatados por este elemento em solução, uma vez que, conforme observado por Luptakova *et al.* (2008), a solubilidade de antimônio em sistemas de biolixiviação/bio-oxidação é baixa, e o mesmo forma óxidos insolúveis de antimônio.

Torma e Gabra (1977) realizaram um estudo em frascos agitados da oxidação de estibinita por *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Os autores avaliaram o efeito da concentração de estibinita (2-14% (m/v)) sobre o rendimento de antimônio dissolvido, em condições de pH 1,75 e 35°C. Os ensaios mostraram que o valor ótimo de concentração de antimônio (1400mg/L) foi constatado para 12% de sólido. Os resultados de análise de Raios-X dos resíduos lixiviados indicaram presença de  $(SbO)_2SO_4$ ,  $(SbO_2)_2SO_4$  e estibinita residual. As discussões apresentadas pelos autores são inconsistentes em relação ao efeito do antimônio sobre os micro-organismos, fazendo uma pequena menção da provável inibição da ação bacteriana devido a precipitação de oxi-sulfatos insolúveis ( $(SbO)_2SO_4$ ,  $(SbO_2)_2SO_4$ ) na superfície da estibinita.

Luptakova *et al.* (2008) também avaliaram o uso da *Acidithiobacillus ferrooxidans* no processamento biohidrometalúrgico de um minério aurífero contendo, majoritariamente, estibinita e pirita e quartzo. Os teores dos principais elementos da amostra foram: 21,93% Si, 4,94% Sb, 4,28% de Fe e 3,77% S. Os ensaios, com duração de 120 dias, foram realizados em reator operado em batelada, a 30°C e pH 2,5. Durante os 7 primeiros dias, foi constatado aumento gradual na concentração de antimônio, alcançando aproximadamente 70mg/L, seguido por redução em sua concentração até aproximadamente 43mg/L. Neste estudo, os autores constataram a capacidade da *Acidithiobacillus ferrooxidans* em biolixiviar pirita e estibinita e não discutem sobre o efeito tóxico dos elementos presentes na amostra aos micro-organismos.



A toxicidade do arsênio aos micro-organismos oxidantes de sulfetos também tem sido foco de estudos. Na forma solubilizada, o arsênio está presente como arsenito –  $\text{As}^{3+}$  ou arsenato –  $\text{As}^{5+}$ , sendo o primeiro o responsável por apresentar maior toxicidade às bactérias (HALLBERG *et al.*, 1996). Hallberg *et al.* (1996) estudaram a biolixiviação, em reatores agitados, de concentrados de pirita e arsenopirita pela bactéria *Sulfolobus acidocaldarius* (BC) a 65°C e por uma cultura mista composta, majoritariamente, por *Acidithiobacillus caldus* (KU) a 45°C. Este estudo teve como propósito investigar a toxicidade de arsênio durante a biolixiviação em temperaturas elevadas, por meio de análise comparativa entre a biolixiviação da pirita e arsenopirita. O concentrado de pirita apresentou teores iguais a: 45,00% Fe, 51,50% S e 0,02% As, enquanto que os teores dos mesmos elementos no concentrado de arsenopirita foram: 38,7% Fe, 40,5% S e 11,3% As. Os autores observaram que a espécie *Sulfolobus acidocaldarius* (BC) apresentou-se sensível aos efeitos tóxicos do arsênio durante a oxidação do concentrado de arsenopirita. Por outro lado, a habilidade de lixiviação pela cultura de *Thiobacillus caldus* (KU) não foi afetada. Os resultados mostraram que não houve diferenças significativas na taxa de oxidação específica, medida em termos de dissolução de ferro ( $\text{mg.Fe.L}^{-1}\text{mineral.h}^{-1}$ ), nos ensaios conduzidos com 2%, 4% e 6% (m/v) de concentrado de pirita para ambas as culturas. Contudo, foi constatada, para os ensaios com concentrado de arsenopirita e *S. acidocaldarius*, redução de 50% na taxa de oxidação específica de ferro com o aumento de 2% para 4% (m/v) na porcentagem de sólidos do concentrado de arsenopirita e, para a condição com 6% (m/v) do concentrado a taxa foi somente de 25%, quando comparada à obtida com 2% (m/v) de sólidos. Quanto ao arsênio, as concentrações atingidas ao final do experimento (16 dias), para os percentuais de sólido de 2%, 4% e 6%, foram 1000mg/L, 1700mg/L e 1940mg/L, respectivamente. Diante dos resultados, os autores destacaram a importância da seleção da cultura em processos comerciais de biolixiviação/bio-oxidação de minerais contendo arsênio.

## ii) Natureza e composição do sulfeto

O comportamento cinético de oxidação das fases minerais é inerente à composição mineral no sistema (KOMNITAS e POOLEY, 1990; ALBUQUERQUE Jr *et al.*, 2006). Estudos galvânicos têm mostrado alterações no comportamento eletroquímico dos minerais combinados em relação ao seu comportamento isolado (ALMEIDA, 1999). As interações galvânicas, ocorrem quando há contato entre minerais. Como resultados deste fenômeno, são promovidas reações de oxirredução devido às diferenças entre os potenciais de equilíbrio dos

minerais sulfetados, resultando em oxidações preferenciais de sulfetos na mistura para aqueles com menor potencial de equilíbrio (ALBUQUERQUE Jr *et al.*, 2006).

Nesse contexto, Albuquerque Jr. *et al.* (2006) realizaram um estudo eletroquímico sobre a interação galvânica entre pirita e arsenopirita. Foram tomadas medidas de potencial dos minerais com e sem interligação elétrica entre ambos. Na ausência de contato elétrico com a arsenopirita, foi constatada a oxidação da pirita com formação de  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ . Contudo, ao se interligar o eletrodo de pirita ao de arsenopirita, a interação pirita-arsenopirita inibiu a oxidação da pirita. Por outro lado, quando o eletrodo de arsenopirita foi interligado ao de pirita, os valores de potencial aumentaram, evidenciando uma potenciação da oxidação da arsenopirita com a interação arsenopirita/pirita.

Komnitas e Pooley (1990) em seus estudos sobre bio-oxidação de um concentrado contendo pirita e arsenopirita (Fe 38,5%; As 13,10% e S 36,93%) constataram que a cinética de bio-oxidação da arsenopirita é mais rápida quando comparada à de pirita. A bio-oxidação do concentrado foi conduzida em reator com agitação aerada (*Pachuca*) com a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ . O potencial de oxidação da arsenopirita foi medido em soluções contendo  $1-10\text{g.L}^{-1}$  de  $\text{Fe}^{3+}$  usando um electrodo de arsenopirita puro. A análise do potencial de oxidação revelou que a dissolução da arsenopirita ocorreu na faixa de Eh entre 390 e 430mV, enquanto que a dissolução da pirita foi iniciada em níveis mais elevados de Eh. Este evento foi usado pelos autores como justificativa para a tendência de lixiviação mais rápida da arsenopirita. Conclusões semelhantes foram obtidas por Ciftci e Akcil (2010) e Henao e Godoy (2010) em seus estudos com um concentrado contendo pirita (28,0%), arsenopirita (0,82%).

Como consequência da bio-oxidação de sulfetos podem ser formadas fases secundárias. Dentre estas fases relatadas na literatura, a jarosita é o principal produto gerado durante a solubilização de pirita e arsenopirita (TUOVINEN *et al.*, 1994; HENAO e GODOY, 2010; MÁRQUEZ *et al.*, 2012). No entanto, também foi detectada nos resíduos a formação de  $\text{S}^\circ$  e arsenato de ferro, tais como escorodita ( $\text{FeAsO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ); tooeleite ( $\text{Fe}_6(\text{AsO}_3)_4\text{SO}_4(\text{OH})_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) e kaatialaite ( $\text{Fe}(\text{H}_2\text{AsO}_4)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) (TUOVINEN *et al.*, 1994, HENAO e GODOY, 2010; FANTAUZZI *et al.*, 2011). Dentre as técnicas utilizadas para a caracterização destes produtos estão: espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios-X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) acoplada à

espectroscopia por dispersão de elétrons (EDS). Alguns tipos de fases secundárias formadas em diferentes tipos de minerais, bem como alguns dos efeitos destes precipitados em sistemas de oxidação bacteriana serão abordados em estudos apresentados a seguir.

Henao e Godoy (2010), em seus estudos sobre biolixiviação de arsenopirita e pirita por *At. ferrooxidans*, realizaram uma análise detalhada dos resíduos biolixiviados. A caracterização mineralógica dos resíduos da biooxidação foi realizada através das técnicas: FTIR, DRX e MEV/EDS. Os ensaios foram conduzidos em *shaker* termostaticado, a 35°C e sob agitação de 180min<sup>-1</sup>, sendo utilizado um percentual de sólidos de 2,5% (m/v) e pH inicial igual a 1,8. O processo de biolixiviação possibilitou a extração de 88% de arsênio em 25 dias e revelou três diferentes tipos de jarosita. Segundo os autores, o primeiro tipo está normalmente associado ao processo de oxidação da arsenopirita, levando à formação de pseudomorfos de jarosita contendo altas concentrações de arsênio. O segundo era caracterizado pela incorporação de íons de Fe, S, K e As em sua estrutura. Além disso, os autores atribuem, de modo geral, a formação de jarosita com elevados teores de potássio à oxidação da pirita, uma vez que, verifica-se o predomínio de dissolução de Fe e S deste mineral. E, finalmente, o terceiro tipo de jarosita foi observado principalmente nos grãos de pirita residuais, o qual forma uma fina película que reveste este sulfeto. Além disso, as análises de DRX revelaram pequenas quantidades de escorodita e tooeleite nos resíduos da bio-lixiviação.

A literatura científica relata muitos estudos sobre os mecanismos de bio-oxidação da arsenopirita (TUOVINEN *et al.*, 1994; JONES *et al.*, 2003; FANTAUZZI *et al.*, 2011; MÁRQUEZ, *et al.*, 2012), contudo a aplicação de micro-organismos termófilos nestas pesquisas ainda é reduzida. A exemplo destes estudos utilizando micro-organismos termófilos, Tuovinen *et al.* (1994) avaliaram a biolixiviação da arsenopirita utilizando uma cultura mista de acidófilos termófilos moderados, a qual continha como micro-organismo predominante a espécie *Acidithiobacillus caldus* (KU). Os ensaios, com duração de 16 dias, foram conduzidos em sistema de frascos agitados a 45±1°C, com um percentual de sólidos de 2,5% (m/v) e pH inicial igual a 2,0. Durante o ensaio foram monitoradas as concentrações de Fe e As dissolvidos, as quais foram determinadas por espectrometria de absorção atômica com chama. Além disso, as concentrações de Fe e As total foram determinadas por espectrometria de absorção atômica após digestão ácida seletiva dos precipitados (4,5mol/L HCl, 30min a 65°C). A diferença entre a concentração total e a concentração dissolvida representa as concentrações de Fe e As contida nos precipitados de jarosita e arsenato férrico

formados durante a oxidação da arsenopirita. Através dos resultados das análises químicas de ferro e arsênio os autores constataram a formação de precipitados contendo esses elementos durante o ensaio de biolixiviação, havendo produção de aproximadamente 24% de precipitados férricos e 57% arsênicos. Os resíduos dos ensaios foram caracterizados por difração de raios X. Os difratogramas revelaram como produto da oxidação da arsenopirita,  $S^{\circ}$ , jarosita e arsenato férrico, sendo a produção destes controlada pelo grau de oxidação da arsenopirita, pH e a composição da solução de lixiviação e temperatura.

Segundo Cassity e Pesic (1999), a formação de precipitados de arsênio durante a biolixiviação de sulfetos contendo este elemento, tais como arsenopirita e cobaltita ( $CoAsS$ ), pode oferecer benefícios ambientais, por reduzir significativamente a mobilidade de espécies de arsênio, presentes tanto como arsenito ( $As^{3+}$ ) quanto como arsenato ( $As^{5+}$ ), sem comprometer a extensão da lixiviação do metal de interesse. Esta colocação apresentada pelos autores está baseada em seus estudos sobre biolixiviação de minério de arsenopirita (9,9% As; 18,6% Fe; 9,3%  $S_{total}$ ; 7,5%  $S_{sulfeto}$  e 25,9%  $SiO_2$ ). Neste estudo, foi adicionado à amostra de minério de arsenopirítico um concentrado de cobaltita, sendo este utilizado como indicador do nível de oxidação. Segundo os autores, o cobalto é estável em solução mesmo com a ocorrência de precipitação de Fe e As. Foi demonstrado que, embora os ensaios com pH 2,5 e 3,0 tenham resultado em níveis de Fe e As dissolvido praticamente nulos, devido a formação de precipitados, houve aumento crescente na concentração de cobalto, alcançando valores de extração iguais a 100% e 80% do metal. No ensaio conduzido em pH 1,0, os resultados de dissolução de cobalto ao longo do processo foram praticamente idênticos naqueles feitos em pH 2,5. Contudo os valores de  $Fe_{total}$  e As dissolvido mostraram ser radicalmente diferentes, sendo alcançados valores, em termos de fração mássica destes elementos dissolvidos, iguais a 0,62 (5.766mg/L de  $Fe_{total}$ ) e 0,35 (1.733mg/L de As), respectivamente.

A capacidade de *Acidithiobacillus ferrooxidans* em oxidar sulfetos de antimônio tem sido reportada desde a década de 70 (LYALIKOVA *et al.*, 1972; TORMA e GABRA, 1977) e, mais recentemente, estudos tem sido desenvolvidos com micro-organismos termófilos, tais como, *Sulfobacillus ssp*, *Leptospirillum ssp* e *Ferroplasma ssp* (TSAPLINA *et al.*, 2013). Torma e Gabra (1977), em seus estudos sobre bio-oxidação de estibinita ( $Sb_2S_3$ ) em *erlenmeyer* com *Acidithiobacillus ferrooxidans*, detectaram por meio de análise de DRX a formação de óxidos insolúveis de antimônio ( $(SbO)_2SO_4$  e  $(SbO_2)_2SO_4$ ). Além disso, devido a baixa solubilidade destes compostos, a máxima concentração de antimônio total dissolvido

$([Sb_t] = [Sb^{+3}] + [Sb^{+5}] + [SbO^+] + [SbO_2^+])$  foi cerca de 1400mg/L. As condições experimentais que possibilitaram esses resultados foram: 12% de porcentagem de sólido, 35°C e pH 1,75.

Resultados semelhantes foram observados por Luptakova *et al.* (2008), ao estudarem a biolixiviação de minério de ouro contendo estibinita e pirita por *At. ferrooxidans*. Os autores sugeriram a formação de oxi-sulfato de antimônio insolúvel  $((SbO)_2SO_4)$ , uma vez que a concentração de Sb dissolvido, após alcançar seu valor máximo ( $\approx 65$ mg/L) no 35º dia de ensaio, apresentou uma redução atingindo aproximadamente 40mg/L de Sb dissolvido ao final dos experimentos. Assim como em Torma e Gabra (1977), neste trabalho não foi realizada discussão sobre os possíveis efeitos deletérios do antimônio no processo de bio-oxidação.

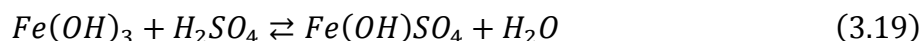
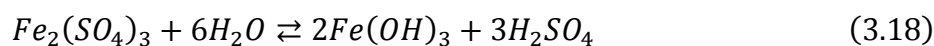
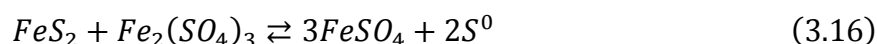
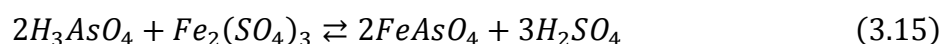
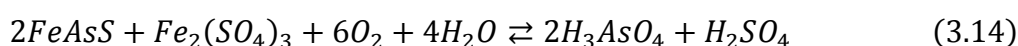
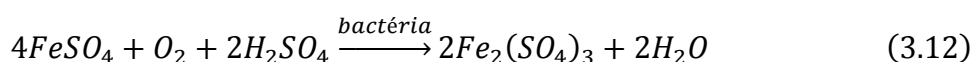
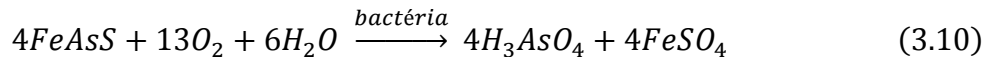
Segundo Pessoa (1980), o efeito prejudicial do antimônio na bio-oxidação de concentrados de sulfetos auríferos foi constatado nos depósitos de Olympiadinskoe, na Rússia, resultando em alto consumo de cianeto e baixa recuperação de ouro devido à oxidação incompleta dos sulfetos minerais contendo antimônio. Além disso, no decurso da oxidação de estibinita,  $Sb^{3+}$  é oxidado a  $Sb^{5+}$ , levando a formação de óxidos e hidróxidos de antimônio, pouco solúveis (PESSOA, 1980).

Tsaplina *et al.* (2013), em seus estudos sobre lixiviação de antimônio a partir de minérios sulfetados contendo ouro, constataram que o processo de oxidação é influenciado tanto pelo efeito do antimônio no crescimento dos micro-organismos (vide 3.1.3-c-i) quanto pela presença de substratos mais facilmente oxidáveis (sulfeto de ferro e sulfeto de arsênio). Neste estudo, realizado em frascos agitados a  $39\pm 1^\circ C$  foi utilizado um consórcio de micro-organismos composto por *Sulfobacillus spp*, *Leptospirillum spp* e *Ferroplasma spp* e diferentes minérios com teores na faixa de: 0,84% a 29,95% de sulfeto de antimônio; 0,47% a 2,5% de sulfeto de ferro e 0,01% a 0,4% de sulfeto de arsênio. Os micro-organismos foram capazes de oxidar os minérios, independentemente do teor de sulfeto de antimônio contido nas amostras, no entanto, os percentuais de dissolução obtidos foram influenciados tanto pela composição mineralógica quanto pelo conteúdo de antimônio: os melhores resultados de lixiviação de antimônio (86,2%; 81,3% e 78,2%) foram alcançados para as amostras contendo baixo teor de sulfeto de antimônio (2,89%; 6,91% e 0,84%, respectivamente). Os minérios com alto teor de antimônio (21,85%; 29,95%; 14,50%) atingiram ao final do processo 34,5%; 30,9% e 20,6% de lixiviação, respectivamente. Diante dos resultados obtidos, foi proposto

que para minérios contendo alto teor de sulfeto de antimônio e altos níveis de substratos facilmente oxidáveis (sulfeto de ferro e sulfeto de arsênio) resultaram em atividades mais baixas de lixiviação de antimônio. Enquanto que nos ensaios utilizando minérios com baixos teores de sulfeto de ferro e arsênio, porém com alto conteúdo de sulfeto de antimônio, a concentração de antimônio lixiviado foi superior. Diante da análise deste estudo, foi possível sugerir que a diversidade de elementos presentes nas amostras tenha conduzido a resultados inconclusivos sobre o efeito prejudicial do antimônio na bio-oxidação dos sulfetos.

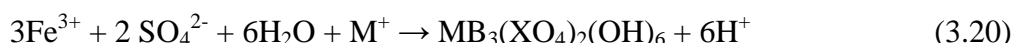
### 3.1.4 Química do ferro, arsênio e antimônio em sistemas de bio-oxidação

Durante a bio-oxidação de sulfetos contendo ferro (p.ex.: pirita e arsenopirita), ocorrem dois processos concomitantemente: (i) dissolução dos sulfetos, com conseqüente liberação de Fe e As e formação de  $SO_4^{2-}$ ; (ii) precipitação de fases secundárias contendo constituintes liberados durante a oxidação da matriz mineral, como por exemplo jarosita e arsenato férrico. As principais reações que elucidam a formação de fases secundárias durante o processo de bio-oxidação de arsenopirita e pirita são apresentadas a seguir (GRANATO, 1986):



Conforme mostrado nas equações 3.10 e 3.11, a arsenopirita e pirita são lentamente oxidadas quimicamente por oxigênio em solução, formando sulfato ferroso, ácido arsênico (no caso da arsenopirita) e ácido sulfúrico (pirita). O sulfato ferroso é rapidamente oxidado a sulfato férrico e água, sob condições ácidas através de reações mediadas por micro-organismos (Equação 3.12).

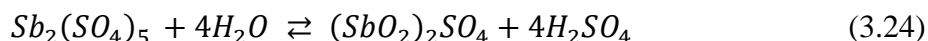
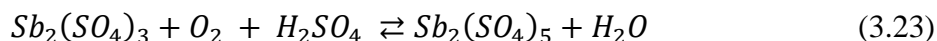
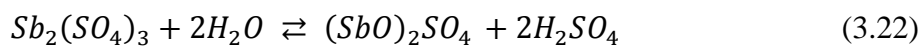
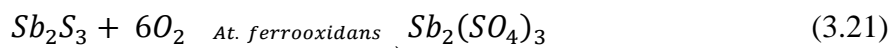
A estabilidade do íon férrico em solução é dependente do pH do meio (RIVADENEIRA, 2010). De modo geral, nos processos de bio-oxidação são formados precipitados férricos devido às condições favoráveis, principalmente de pH, tais como: arsenato férrico ( $\text{FeAsO}_4$ ) (Equação 3.15) e hidróxido férrico  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  (Equação 3.18). Na presença de  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{Ag}^+$  ocorre a formação de minerais da família da alunita-jarosita (Equação 3.20). Além disso, devido à liberação de As durante a oxidação da arsenopirita, pode também ser formado jarosita contendo este elemento em sua estrutura como um ânion  $\text{XO}_4^{y-}$ , conforme mostrado na equação abaixo (HENAO e GODOY, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 1996; SCOTT, 1987).



Onde M representa um cátion grande de coordenação dodecaédrica ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{Ag}^+$ ) e B um cátion menor, de coordenação octaédrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ). O ânion  $\text{XO}_4^{y-}$  pode ser  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$ ,  $\text{SbO}_4^{3-}$ ,  $\text{CrO}_4^{3-}$  ou  $\text{SiO}_4^{4-}$  (OLIVEIRA *et al.*, 1996; SCOTT, 1987)

Com relação à oxidação de sulfetos de antimônio, ainda não há muitos relatos na literatura sobre as fases formadas durante o processo. Contudo, é sabido que o Sb liberado apresenta baixa solubilidade, podendo precipitar como  $(\text{SbO})_2\text{SO}_4$  e  $(\text{SbO}_2)_2\text{SO}_4$  (TORMA e GABRA, 1977; LUPTAKOVA *et al.* 2008), ou ainda como jarosita, na forma do ânion antimoniato ( $\text{SbO}_4^{3-}$ ), conforme demonstrado na Equação (3.20).

A formação de  $(\text{SbO})_2\text{SO}_4$  e  $(\text{SbO}_2)_2\text{SO}_4$  a partir da oxidação bacteriana de estibinita são apresentadas nas Equações (3.21) a (3.24), conforme apresentado por Torma e Gabra (1977):



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Amostras de concentrado

#### a) Preparação da amostra

Os experimentos de bio-oxidação foram realizados com uma amostra de concentrado de flotação gentilmente cedida pela empresa AngloGold Ashanti. Inicialmente, a amostra de concentrado sulfetado foi homogeneizada e quarteada, de acordo com o método de pilhas cônicas. Uma das frações da amostra resultante do quarteamento foi submetida à análise granulométrica, a úmido, segundo a série Tyler de peneiras. Os dados da distribuição granulométrica indicaram que 89% do material encontram-se abaixo de 0,037mm (<400# Tyler) (Tabela 4.1). Diante desta característica do concentrado, os ensaios de bio-oxidação foram conduzidos com a fração com tamanho de partícula 100% inferior a 0,037mm (<400# Tyler).

Tabela 4.1. Dados da distribuição granulométrica do concentrado sulfetado.

<b>Abertura livre (mm)</b>	<b>Fração retida (%)</b>
0,295	0,03
0,208	0,05
0,147	0,07
0,104	0,18
0,074	0,50
0,053	1,14
0,044	2,69
0,037	2,61
<0,037	89,61



## b) Caracterização da amostra

A caracterização do sólido inicial (concentrado) foi realizada pelas seguintes técnicas:

i) Difração de raios-X (método do pó) (*PanAnalytical*, modelo *Empirean*) com radiação  $\text{CuK}\alpha$ , numa faixa de varredura de  $2\theta$  entre  $8^\circ$  e  $80^\circ$ . A análise dos dados foi feita através de comparações com os padrões do banco de dados (JCPDS) com a utilização do *software* “*X’Pert HighScore*”, versão 1.0.

ii) Microscopia eletrônica de varredura acoplada ao sistema de espectroscopia por energia dispersiva (MEV/EDS) (*Tescan*, modelo *Vega 3*). A preparação das amostras para observação no MEV/EDS envolveu o embutimento do sólido em resina epóxi e, após seu endurecimento, planificação da superfície por meio de lixamento e, finalmente, polimento para obtenção de uma superfície lisa. Após a preparação das amostras, estas foram revestidas com carbono.

iii) Análise química semi-quantitativa por espectrometria de fluorescência de raios-X (XRF) (*Shimadzu*, Ray Ny-EDX 720).

iv) Análise química por ICP-OES (*Varian*®, 725/ES), após abertura por fusão à  $1000^\circ\text{C}$ , utilizando os reagentes tetraborato de sódio e carbonato de sódio - 1:2, seguida de digestão ácida em chapa quente, utilizando-se ácido clorídrico, nítrico e fluorídrico, a aproximadamente  $150^\circ\text{C}$ . Devido a volatilização do arsênio a aproximadamente  $615^\circ\text{C}$ , foi realizada um segundo método para digestão do concentrado, utilizando-se 40mL de água régia ( $\text{HCl}:\text{HNO}_3$  - 3:1), 0,25g de concentrado sulfetado a  $80^\circ\text{C}$ , por 2h, em chapa aquecedora. O teor de enxofre total (assumido como sulfeto) foi analisado por detecção no infravermelho, através do equipamento *LECO*, modelo SC632.

## **4.2 *Micro-organismo e condições de cultivo***

Os ensaios de bio-oxidação foram conduzidos com a cultura do micro-organismo termófilo moderado da espécie *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. Esse micro-organismo foi adquirido das coleções depositadas na “*Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen*” (DSMZ 9293).

Previamente aos ensaios de bio-oxidação, os micro-organismos foram submetidos à um processo de seleção por meio de percentuais crescentes (variado de 1,0-3,5% (m/v)) do concentrado de flotação, utilizando-se *erlenmeyers* de 250mL contendo 150 mL de solução e 10% de inóculo (v/v), mantidos em um *shaker* New Brunswick Scientific, modelo Innova 44. As condições de cultivo empregadas no processo de seleção dos micro-organismos foram: pH 1,8, 47°C, agitação de 150min<sup>-1</sup>, 0,1g/L de extrato de levedura, meio Norris com a seguinte composição (em g/L): (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,04); K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0,04); MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,08) e 2,5g/L de Fe<sup>2+</sup> (como sulfato ferroso) para os percentuais de sólidos na faixa de 1,5-2,5% (m/v). Tal concentração foi elevada para 5,0g/L de Fe<sup>2+</sup> para as densidades de polpa de 3,0% e 3,5% (m/v). No processo de seleção foram realizados repiques com intervalos de 15 dias, sendo que para cada um dos percentuais de sólido utilizados no processo de adaptação, foram realizados dois repiques subsequentes. A atividade microbiana foi medida indiretamente através do potencial de oxi-redução da solução, utilizando-se de um eletrodo de Ag/AgCl (Digimed). As medidas foram realizadas em temperatura ambiente e foram considerados aceitáveis como indicativo de crescimento microbiano valores de potencial redox acima de 500mV. Adicionalmente, foi monitorada a concentração bacteriana utilizando um microscópio óptico (Leica-DM 2500M) com o auxílio de uma câmara de Neubauer, a fim de complementar a avaliação da evolução do processo de adaptação.

Após o processo de seleção, foram realizados repiques de manutenção utilizando-se 3,0% de sólido (m/v), nas mesmas condições experimentais utilizadas durante a fase de adaptação. O pH do meio era ajustado, quando necessário, pela adição de solução de 1mol/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ou 6mol/L de NaOH. Para a medição do pH foi utilizado um pHmetro (Digimed DM-22), composto de eletrodo de membrana de vidro. O potencial de oxi-redução foi medido periodicamente através de um eletrodo de Ag/AgCl e um Ehmetro-Digimed DM-20.

### **4.3 Experimentos de bio-oxidação em agitador orbital (*shaker*)**

As variáveis estudadas nos ensaios de bio-oxidação foram: concentração inicial de íons Fe<sup>2+</sup> (0,0g/L; 2,5g/L; 5,0g/L e 10,0g/L); pH da suspensão (1,50, 1,75 e 2,00) e, percentual de sólidos (1,50%; 2,25% e 3,00% (m/v)). O ensaio de avaliação da concentração de íons Fe<sup>2+</sup> foi conduzido com percentuais de sólido iguais a 1,5% (m/v) e pH 1,80. Já o ensaio de influência do pH foi realizado com 1,5% de sólido (m/v) na presença de 2,0g/L de Fe<sup>2+</sup>. E finalmente, o experimento com diferentes percentuais de sólido foi realizado com 5,0g/L de Fe<sup>2+</sup> e pH 1,80.

Os experimentos de bio-oxidação foram conduzidos em frascos *erlenmeyer* com capacidade de 250mL, sendo 150mL o volume total da solução. Para o crescimento das bactérias, utilizou-se 0,1g/L de extrato de levedura e o meio de cultura Norris que contem (em g/L):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (0,04);  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (0,04);  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,08)). Um volume de 300mL do inóculo empregado nos experimentos foi filtrado em membranas de celulose (Millipore-0,22 $\mu\text{m}$ ), sendo estas transferidas para o meio, gerando uma população bacteriana inicial na ordem de  $10^7$  células/mL. Os *erlenmeyers* foram incubados em *shaker* (New Brunswick Scientific, modelo Innova 44) a 47°C e  $150\text{min}^{-1}$  em todos os ensaios.

Os experimentos foram conduzidos em duplicata, assim como também foi realizado um controle negativo para cada um dos ensaios bióticos. Neste controle, foi utilizado timol como bactericida (2% m/v).

O potencial de oxi-redução e o pH da suspensão foram monitorados diariamente. O pH da suspensão foi ajustado, quando necessário, pela adição 1,0mol/L de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ou solução 5,0mol/L de NaOH. Os frascos *erlenmeyers* contendo a solução foram pesados a fim de repor as perdas de água por evaporação com água destilada. A concentração bacteriana foi monitorada utilizando um microscópio óptico (Leica-DM 2500M) com o auxílio de uma câmara de Neubauer.

Foram realizadas, periodicamente, análises químicas das concentrações de Fe, As e Sb da solução via ICP-OES (725/ES - Varian®). O acompanhamento do nível de oxidação do concentrado, em termos de lixiviação, foi feito através da evolução da solubilização de arsênio com o tempo, uma vez que houve adição externa de Fe e S na forma de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (utilizado para ajuste do pH) e nos sais constituintes do meio Norris. Além disso, a bio-oxidação foi caracterizada pela formação de fases secundárias contendo Fe e S na sua estrutura (jarosita), inviabilizando o acompanhamento das concentrações destes elementos como indicativo do nível de oxidação.

#### **4.4 Caracterização dos produtos de oxidação**

Foi realizada análise dos resíduos de bio-oxidação de maneira a complementar o entendimento dos fenômenos associados à oxidação do concentrado. Para tanto, ao final dos experimentos, os resíduos foram filtrados, secos, pesados e analisados através das técnicas de

DRX (*PanAnalytical*, modelo *Empirean*) e MEV/EDS (*Tescan*, modelo *Vega 3*), com o propósito de obter informações acerca do ataque oxidativo dos sulfetos presentes na amostra, bem como identificar possíveis produtos originários das reações de oxidação da amostra mineral. As condições de análise de ambas técnicas foram as mesmas que às realizadas durante a caracterização da amostra inicial (item 4.1).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Amostras de concentrado

A caracterização mineralógica, obtida por DRX identificou a presença de muscovita ( $\text{KAl}_2\text{Si}_3\text{AlO}_{10}(\text{OH},\text{F})_2$ ), clorita ( $(\text{Mg},\text{Al},\text{Fe})_{12}(\text{Si}, \text{Al})_8\text{O}_{20}(\text{OH})_{16}$ ), quartzo ( $\text{SiO}_2$ ), arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ), pirita ( $\text{FeS}_2$ ), estibinita ( $\text{Sb}_2\text{S}_3$ ) e gudmundita ( $\text{FeSbS}$ ) na amostra (Figura 5.1). Além disso, as análises de MEV-EDS confirmaram a presença de pirita, arsenopirita, estibinita e gudmundita (Fig.5.2) na amostra estudada.

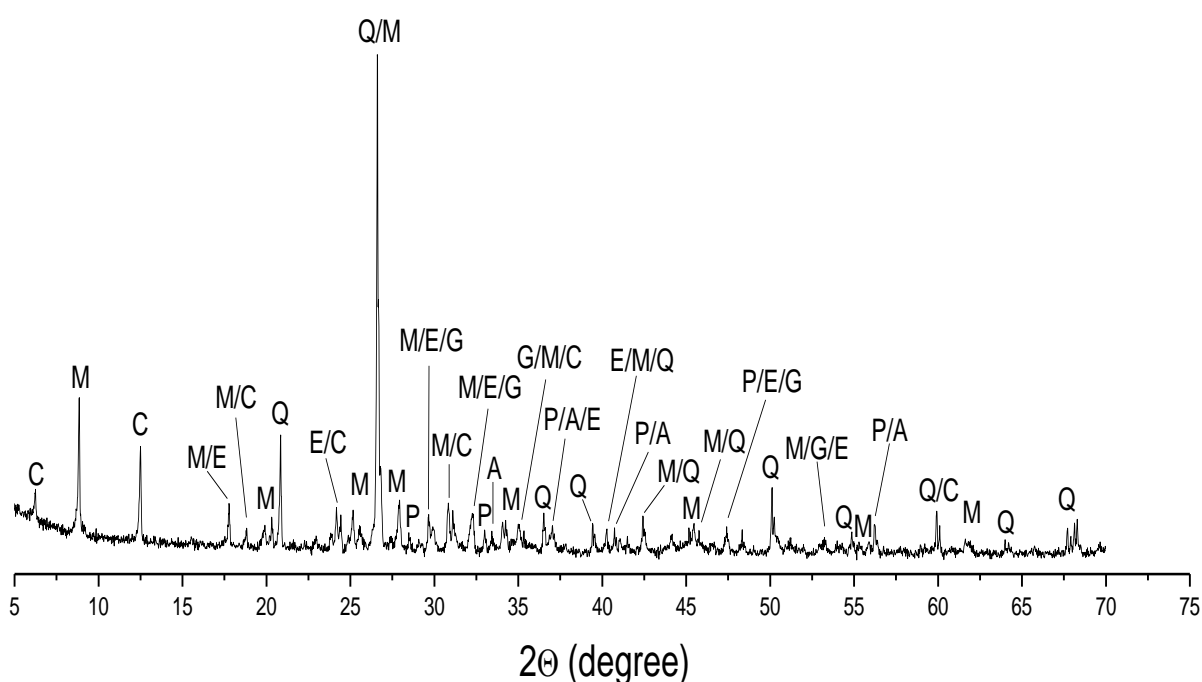


Figura 5.1. Difratograma de Raios-X da amostra inicial utilizada nos ensaios de bio-oxidação. Símbolos: M, muscovita; C, clorita; Q, quartzo; P, pirita; A, arsenopirita; E estibinita; G gudmundita.

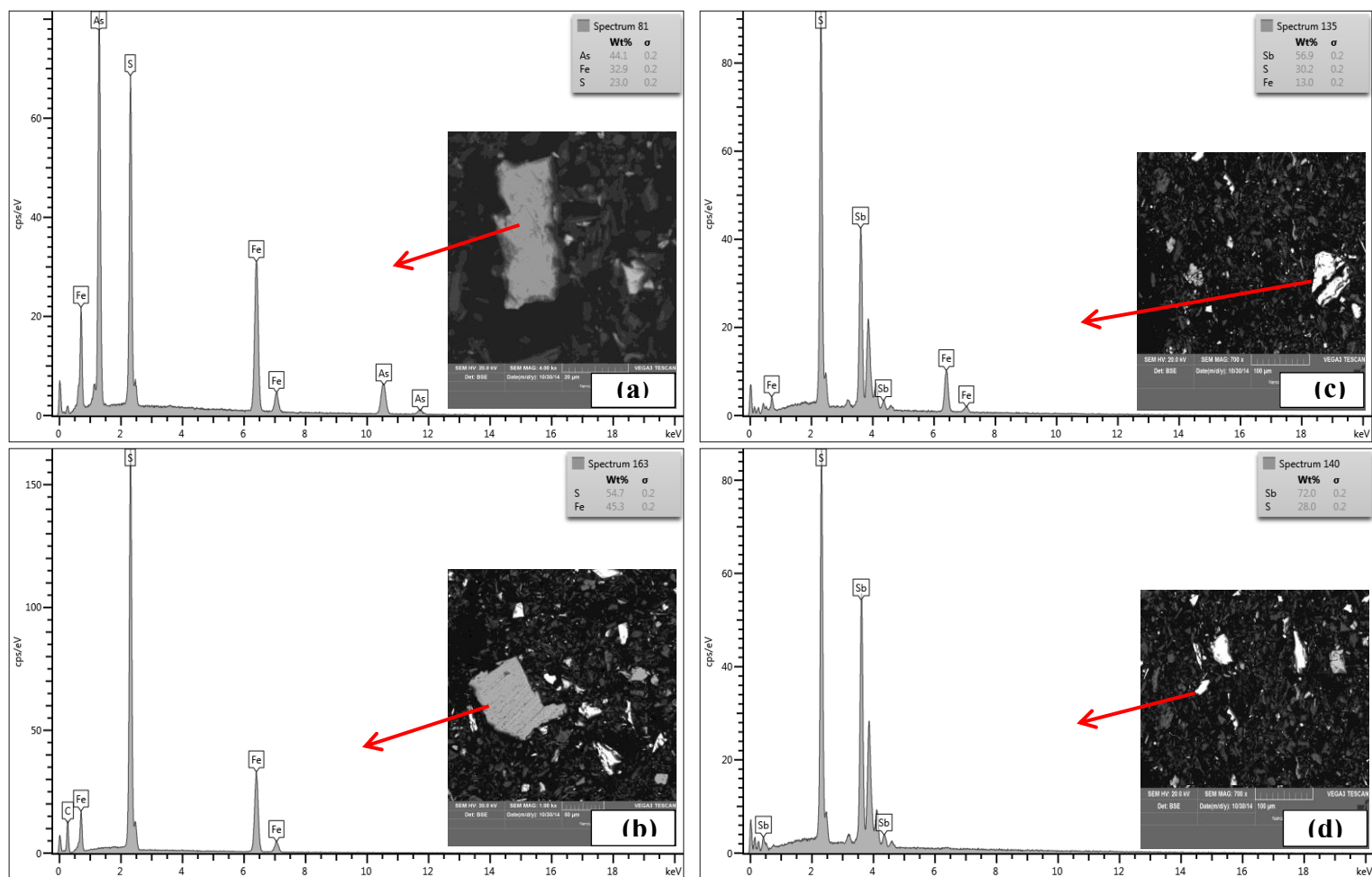


Figura 5.2. Análise de EDS da região indicada, evidenciando arsenopirita (a), pirita (b), gudmundita (c) e estibinita (d) na amostra de concentrado sulfetado antes do processo de bio-oxidação.

A análise semi-quantitativa por fluorescência de raios-x identificou como elementos majoritários o silício, ferro, alumínio e enxofre, como também antimônio, potássio e arsênio em teores mais reduzidos. De acordo com a análise química via ICP-OES, os teores dos elementos principais foram: Fe ( $10,58 \pm 0,16\%$ ), As ( $1,88 \pm 0,04\%$ ), Sb ( $3,16 \pm 0,65\%$ ). O teor de enxofre total, (assumido como sulfeto), segundo a análise conduzida por detecção no infravermelho (equipamento LECO, modelo SC632) foi igual a  $11,80 \pm 0,31\%$ .

## ***5.2 Seleção dos micro-organismos à polpa***

A atividade microbiana foi constatada em presença de até 3,0% (m/v) do concentrado, alcançando valores de Eh próximos a 590mV em, aproximadamente, 7 dias de ensaio. Contudo, para as condições de cultivo contendo 3,5% (m/v) de sólido, os valores de Eh atingiram valores próximos a 430mV apenas, o que sugere dificuldade de crescimento nessa condição. Além disso, os micro-organismos não foram capazes de se multiplicarem satisfatoriamente, apresentando declínio da população após o 2º dia de ensaio, alcançando uma concentração celular um pouco superior a ordem de  $10^6$  cel/mL, após 9 dias (Figura 5.3), sugerindo dificuldade de crescimento nessa condição. Por outro lado, a população bacteriana nas condições com percentual de sólido inferiores a 3,5% apresentou-se superior a  $10^7$  células/mL ao longo dos 9 dias (Figura 5.3). A tentativa de evolução para percentual de sólido maior que 3,0% (m/v) teve duração de 6 semanas, sendo realizados repiques a cada 15 dias de ensaio.

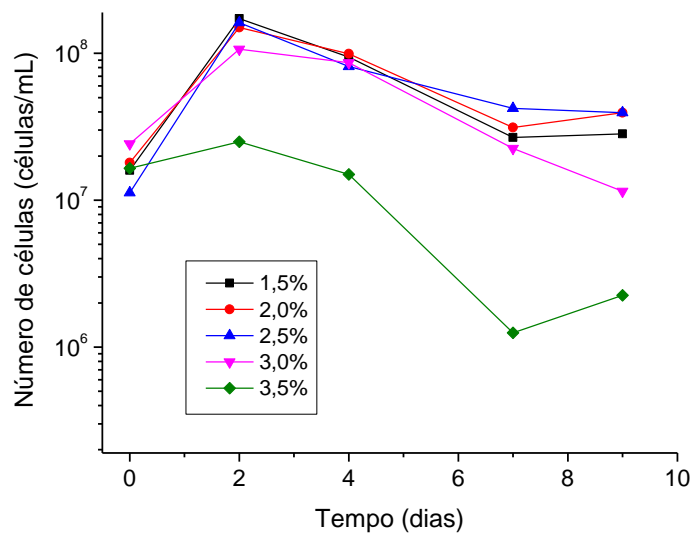


Figura 5.3. Perfil do crescimento bacteriano (células/mL) obtido no processo de seleção microbiana ao concentrado sulfetado, em diferentes percentuais de sólido. Condições experimentais: pH 1,8, 47°C, agitação de 150min<sup>-1</sup>, 2,5g/L de Fe<sup>2+</sup>, para os percentuais na faixa de 1,5-2,5%, e 5,0g/L de Fe<sup>2+</sup>, utilizando 3,0% e 3,5% de densidade de polpa.

### 5.3 Experimentos de bio-oxidação

A seguir, são apresentados os efeitos dos parâmetros: i) concentração inicial de íons Fe<sup>2+</sup>; ii) pH e iii) porcentagem de sólidos na bio-oxidação do concentrado, bem como no crescimento dos micro-organismos.

A bio-oxidação de pirita é difícil de ser acompanhada a partir da concentração de íons em solução, pois as espécies solubilizadas (Fe e S) precipitam-se no sistema quando a jarosita é formada (Equação 3.20), ou seja, os produtos da oxidação não são solúveis. Fato semelhante ocorre com o antimônio, que também não é solúvel em meio ácido (como será visto adiante). Dessa forma, a concentração de arsênio solúvel foi a única opção para o acompanhamento do nível de bio-oxidação dos sulfetos em termos da lixiviação dos minerais constituintes das amostras. Cabe ressaltar que a precipitação de jarosita, bem como a potencial formação de arsenato férrico remove arsênio do sistema, como será visto ao longo desse trabalho, e por isso, a análise do resíduo de bio-oxidação é importante para a compreensão dos fenômenos envolvidos no processo.

### 5.3.1 Influência da concentração inicial de $Fe^{2+}$ sobre a bio-oxidação do concentrado

Conforme mencionado anteriormente, os íons  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$  atuam respectivamente como fonte de energia para os micro-organismos e agente oxidante dos sulfetos metálicos (RIVADENEIRA, 2010). Diante disso, presume-se que é necessário um valor mínimo de concentração de  $Fe^{2+}$  nos sistemas de bio-oxidação para permitir o crescimento dos micro-organismos, bem como acelerar a cinética de oxidação dos sulfetos. Sendo assim, a influência deste parâmetro na bio-oxidação do concentrado foi avaliada utilizando-se concentrações iniciais de íons  $Fe^{2+}$  iguais a 0,0g/L, 2,5g/L, 5,0g/L e 10,0g/L.

O potencial de oxi-redução ( $E_h$ ) é um parâmetro indicativo da capacidade oxidante de um eletrólito (OLIVEIRA, 2009). Um acréscimo no valor do  $E_h$  para o par  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  é decorrente do aumento da concentração de íons  $Fe^{3+}$  e, no contexto da bio-oxidação, da atividade microbiana. De modo geral, valores de potencial redox acima de 500mV são aceitáveis como indicativo de atividade microbiana adequada. Nestes sistemas, o potencial redox da solução está relacionado a razão  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  pela equação de Nernst (Equações 5.1 e 5.2) (OLIVEIRA, 2009):



$$E_h = E_h^{\circ} + \frac{2,3RT}{1} \log \frac{a_{Fe^{3+}}}{a_{Fe^{2+}}} \quad (5.2)$$

Onde  $E_h$ : potencial de oxi-redução da lixívia [V];  $E_h^{\circ}$ : potencial padrão [V]; R: constante dos gases [J/mol.K]; T: temperatura [K];  $a_{Fe^{3+}}$ : atividade do íon férrico;  $a_{Fe^{2+}}$ : atividade do íon ferroso.

Sendo assim, no presente estudo, o  $E_h$  foi utilizado como parâmetro de medição indireta de atividade microbiana. Na Figura 5.4, estão apresentados os valores de  $E_h$  obtidos utilizando-se diferentes concentrações iniciais de íons  $Fe^{2+}$ , em pH igual a 1,8 a 47°C. Os valores de  $E_h$  em todas as condições bióticas testadas foram significativamente superiores (550mV-600mV, no 3º dia) aos apresentados nos ensaios conduzidos sem inoculação inoculação ( $\approx$ 380mV, no 8º dia). Os baixos valores de  $E_h$  observados nos controles químicos permitem inferir que nos sistemas abióticos a velocidade de oxidação do íon ferroso pelo



oxigênio dissolvido na polpa é lenta. Já nos sistemas inoculados, nota-se um efeito catalisador na velocidade de oxidação do íon ferroso. Os resultados de Eh obtidos na presença de micro-organismos (600mV) encontram-se próximos ao descrito na literatura para experimentos conduzidos com a espécie *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* a 50°C (650-700mV) (RODRIGUES *et al.*, 2015).

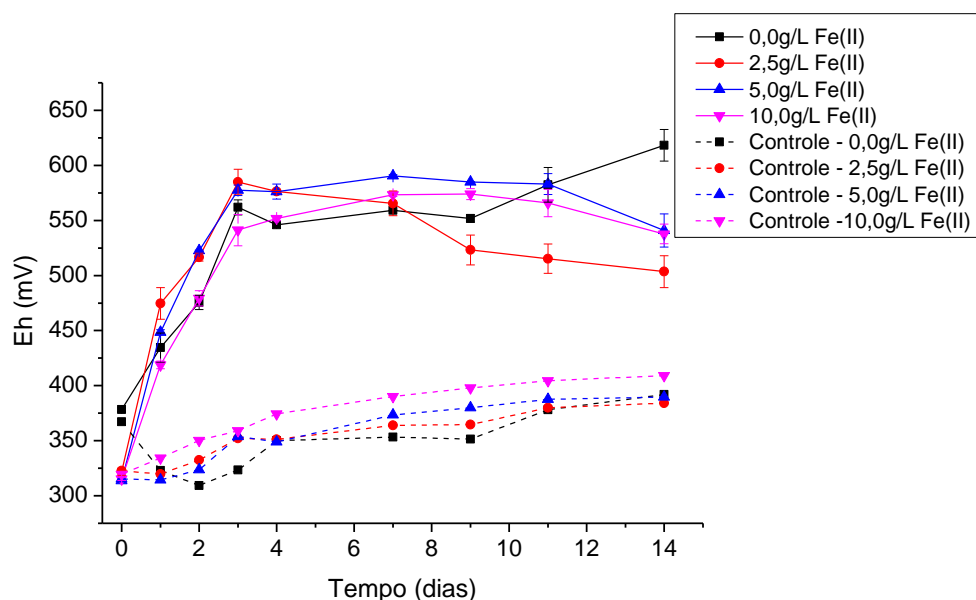


Figura 5.4. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, pH 1,8, 47°C e em diferentes concentrações de  $Fe^{2+}$ , nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).

Ainda na Figura 5.4, constata-se que os valores de Eh apresentaram aumento acentuado até o 3º dia de ensaio, sugerindo que a atividade microbiana, medida através da oxidação do íon ferroso, iniciou-se rapidamente. Ao analisar o crescimento bacteriano (Figura 5.5), confirma-se que a fase de latência dos micro-organismos em todas as condições testadas (fase de adaptação ao meio) foi curta.

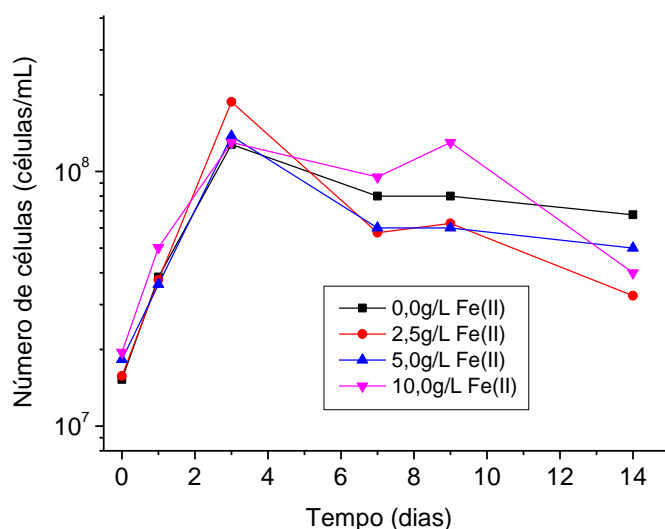


Figura 5.5. Perfil do crescimento bacteriano (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, pH 1,8, 47°C e em diferentes concentrações iniciais de  $Fe^{2+}$ .

O comportamento similar do Eh (Figura 5.4) e do número de células (Figura 5.5) em todas as concentrações de  $Fe^{2+}$  testadas, evidencia que os micro-organismos foram capazes de se desenvolver mesmo sem a adição de sulfato ferroso. Conforme apresentado na Figura 5.6, para a condição sem a suplementação de íons  $Fe^{2+}$ , ocorre uma rápida dissolução do concentrado no sistema, possibilitando atingir-se 498,0mg/L de ferro total, no 2º dia de ensaio. Estes resultados sugerem que o concentrado fornece este substrato em quantidade suficiente para o crescimento microbiano, mesmo o ferro mantendo-se em baixa concentração na solução e próxima ao sistema abiótico. Por outro lado, foi constatado que a concentração inicial de  $Fe^{2+}$  exerce influência significativa na solubilização de arsênio, sendo sugerida a necessidade de suplementação deste substrato para melhor oxidação da arsenopirita (Figura 5.7). Observa-se que, na ausência de sulfato ferroso, a extração final de arsênio atinge valores semelhantes à observada para o controle abiótico utilizando-se 10g/L de  $Fe^{2+}$  ( $\approx 16,0\%$  de extração de As ou 44mg/L de As em solução). Além disso, a adição de 2,5g/L, 5,0g/L e 10g/L possibilitou obter extrações finais de arsênio iguais a 25,42% (67,0mg/L), 36,57% (103,0mg/L) e 46,78% (132,0mg/L), respectivamente. Observa-se também a contribuição positiva do aumento da concentração de íons  $Fe^{2+}$  na oxidação química da arsenopirita (ensaios controle) (Figura 5.7). Sendo assim, verifica-se um efeito químico mais expressivo do que biológico do acréscimo da concentração deste íon no sistema sobre a bio-oxidação da arsenopirita, uma vez que não houve influência da suplementação no crescimento microbiano.

Entretanto, conforme mostrado na Figura 5.6, a adição externa de ferro no sistema possibilitou melhor condição de oxidação do que a apresentada na ausência da suplementação do íon  $Fe^{2+}$ , em função do acréscimo na concentração de ferro total e, conseqüentemente, da concentração do agente oxidante.

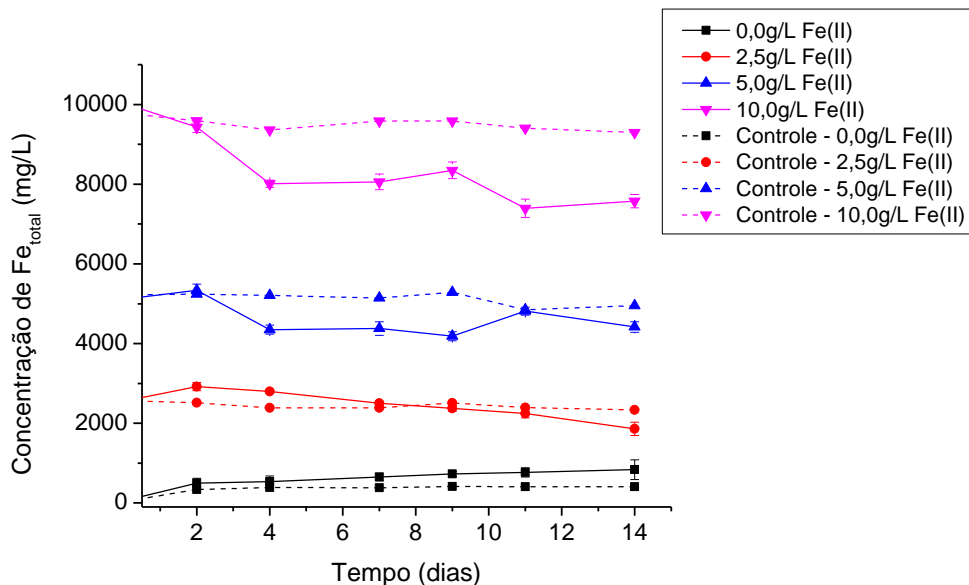


Figura 5.6. Variação da concentração total de ferro (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, pH 1,8, 47°C e em diferentes concentrações de  $Fe^{2+}$ , nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).

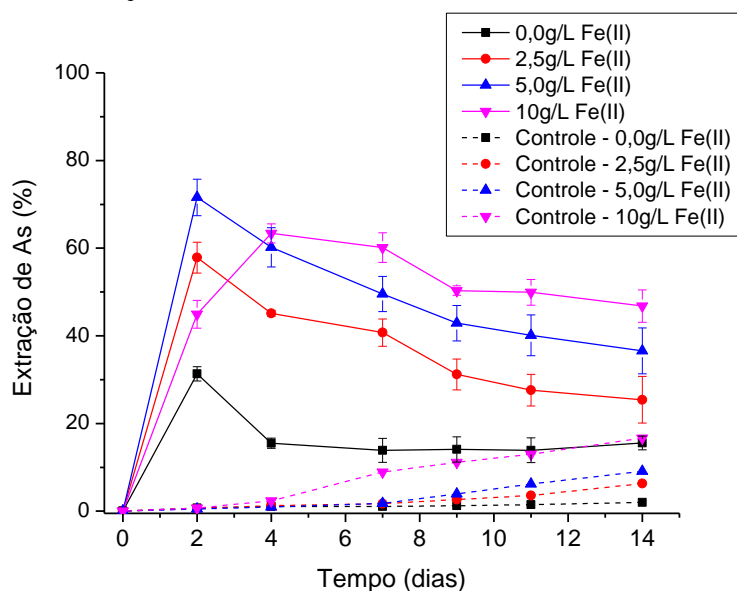


Figura 5.7. Variação da extração de As (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, pH 1,8, 47°C e em diferentes concentrações de  $Fe^{2+}$ , nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).

A influência da suplementação do  $\text{Fe}^{2+}$  no processo de oxidação da arsenopirita observada no presente estudo é condizente com os resultados de Tuovinen *et al.* (1994) sobre biolixiviação de arsenopirita. Segundo os autores, a suplementação com 6,7g/L de  $\text{Fe}^{2+}$  (na forma de sulfato ferroso) promoveu aumento na concentração de As dissolvido de 599mg/L para 899mg/L. Ainda, assim como no presente estudo, não foi observada mudança significativa na relação no Eh entre essas condições testadas. Resultados semelhantes também foram obtidos por Bevilaqua *et al.* (2002), em estudo de biolixiviação de calcopirita, com um aumento de aproximadamente 50% na dissolução de cobre como resultado da suplementação com 8,34g/L de  $\text{Fe}^{2+}$  (na forma de sulfato ferroso).

Conforme mostrado na Figura 5.7, o processo de bio-oxidação da arsenopirita foi acompanhado pelo sequestro de íons de arsênio da solução, possivelmente uma consequência da formação de precipitados contendo este elemento, ocasionando a queda nos valores de extração. É importante destacar que essa redução não implica em prejuízos ao processo de bio-oxidação, uma vez que é resultado da formação de precipitados durante o processo de oxidação. A ausência desse efeito negativo, em decorrência da formação destas fases secundárias, tais como jarosita contendo arsênio e arsenato férrico, foi sugerida por Cassity e Pesic (1999). Segundo os autores, em estudos de biolixiviação de arsenopirita e cobaltita, apesar de ter-se observado níveis de Fe e As dissolvidos praticamente nulos, devido à formação de precipitados, houve dissolução do cobalto, alcançando-se valores de extração iguais a 100% e 80% do metal, o que confirmou a biolixiviação dos sulfetos estudados.

Em síntese, diante dos resultados de extração de arsênio, foi possível inferir que a suplementação de  $\text{Fe}^{2+}$ , na forma de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , se faz necessária para uma eficiente oxidação do concentrado sulfetado. Além disso, a melhor condição de oxidação foi alcançada pelo uso de 10,0g/L de íons  $\text{Fe}^{2+}$ , uma vez que possibilitou valores de extração de arsênio maiores do que as demais condições por um período mais longo, como mostra a Figura 5.7.

A variação da extração de antimônio, utilizando-se diferentes concentrações iniciais de  $\text{Fe}^{2+}$  na condição de pH 1,8 é apresentada na Figura 5.8.

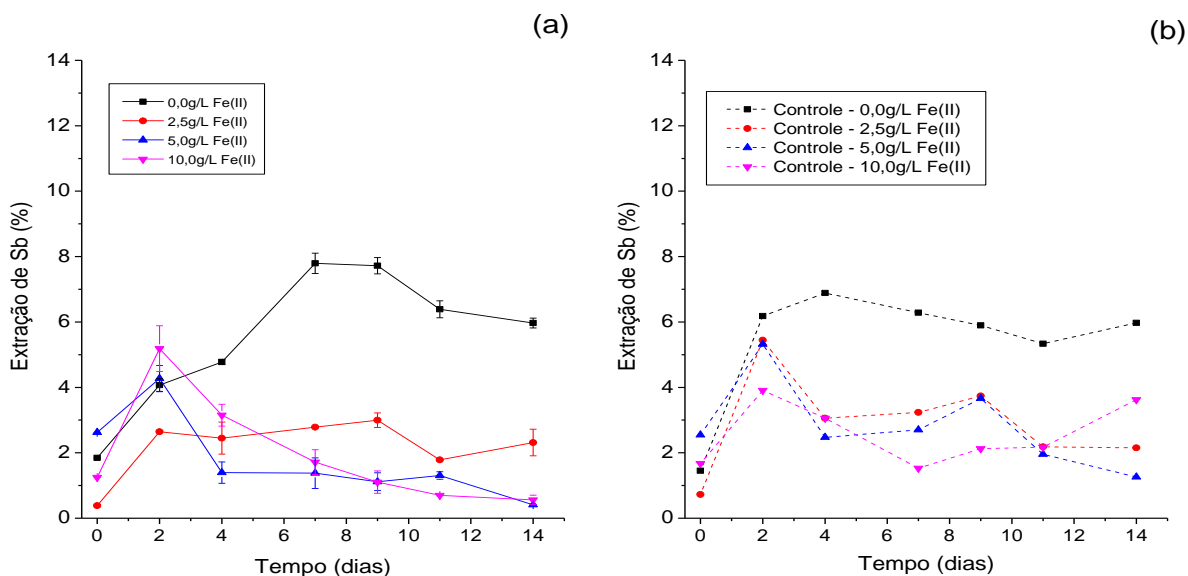


Figura 5.8. Variação da extração de antimônio com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, pH 1,8, 47°C e em diferentes concentrações de  $\text{Fe}^{2+}$  nos ensaios inoculados (a) e não inoculados (b).

Conforme apresentado na Figura 5.8, a oxidação microbiana dos sulfetos contendo antimônio foi caracterizada pela baixa solubilização deste elemento. Os valores de extração, ao final dos ensaios, conduzidos com 0,0g/L, 2,5g/L, 5,0g/L e 10,0g/L de  $\text{Fe}^{2+}$  foram iguais a 6,0% (28,00mg/L), 2,3% (11,00mg/L), 0,4% (1,95mg/L) e 0,6% (2,67mg/L), respectivamente. Além disso, nos ensaios conduzidos na presença de micro-organismos (Figura 5.8(a)), os valores de extração de antimônio não foram maiores em relação aos resultados obtidos nas condições abióticas. A literatura reporta a baixa solubilidade do antimônio em solução e a possibilidade de formação de óxidos insolúveis do elemento ( $(\text{SbO})_2\text{SO}_4$  e  $(\text{SbO}_2)_2\text{SO}_4$ ) durante os processos de biolixiviação/bio-oxidação (TORMA e GABRA, 1977; LUPTAKOVA *et al.*, 2008). De qualquer forma, há indícios, sugeridos pela Figura 5.8, que o aumento da concentração de íons  $\text{Fe}^{2+}$  inicial provocou a redução da solubilização deste elemento. Tal contribuição pode ter como causas:

- i) favorecimento da geração de precipitados contendo antimônio pelo sulfato proveniente do sulfato ferroso, gerando óxidos insolúveis ( $(\text{SbO})_2\text{SO}_4$  e  $(\text{SbO}_2)_2\text{SO}_4$ );
- ii) Arraste do elemento durante a precipitação de fases secundárias como jarosita e arsenato férrico.
- iii) contribuição do aumento da força iônica, em função do acréscimo na concentração de  $\text{Fe}^{2+}$ , na formação de precipitados.

Na literatura, não se encontram informações sobre o comportamento do antimônio solúvel durante processos de bio-oxidação conduzidos com a espécie *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* ou ainda, experimentos conduzidos em temperatura próxima à utilizada no presente estudo (47°C). Os resultados de extrações de antimônio obtidos em estudos como em Torma e Gabra (1977) e Luptakova *et al.* (2008), os quais utilizaram a espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans*, indicam distinção entre as concentrações de antimônio nos sistemas bióticos e abióticos, porém, assim como no presente estudo, em ambos trabalhos os valores de extração de antimônio foram significativamente baixos. Exemplificando, em Torma e Gabra (1977), foi constatada baixa concentração deste elemento em solução durante o processo de oxidação de estibinita sem inoculação microbiana, alcançando ao final do experimento 0,36% de extração de Sb (150mg/L de Sb em solução) contra 3,1% de extração de Sb em condições bióticas (1300mg/L de Sb em solução). Este estudo foi realizado com estibinita de elevada pureza (70,2% Sb; 26,8% S; 0,8% Pb e 1,2% Fe), em condições de pH 2,25, a 35°C. Luptakova *et al.* (2008) investigaram a biolixiviação de um mineral aurífero contendo, majoritariamente, estibinita, pirita e quartzo (21,9% Si, 4,94% Sb, 4,28% de Fe e 3,77% S) por *Acidithiobacillus ferrooxidans* em condições de pH 2,5 e 30°C. Durante os sete primeiros dias de ensaio, os autores constataram aumento gradual na extração de antimônio nos sistema biótico e no controle abiótico, alcançando valores iguais a 1,42% (70mg/L de Sb em solução) e 0,71% (35mg/L de Sb em solução), respectivamente. Contudo, no sistema biótico, foi observada redução da concentração de antimônio a partir do 7<sup>o</sup> dia de ensaio, alcançando 43mg/L (0,87% de extração de Sb) ao final do experimento.

### 5.3.2 *Influência do pH na bio-oxidação do concentrado*

A variação do Eh nas condições de pH testadas (1,50; 1,75 e 2,00) está apresentada na Figura 5.9. Os valores de Eh em todas as condições bióticas avaliadas foram superiores ( $\approx 550\text{mV}$ , no 2<sup>o</sup> dia) aos apresentados nos ensaios conduzidos na ausência de micro-organismos ( $\approx 370\text{mV}$ ).

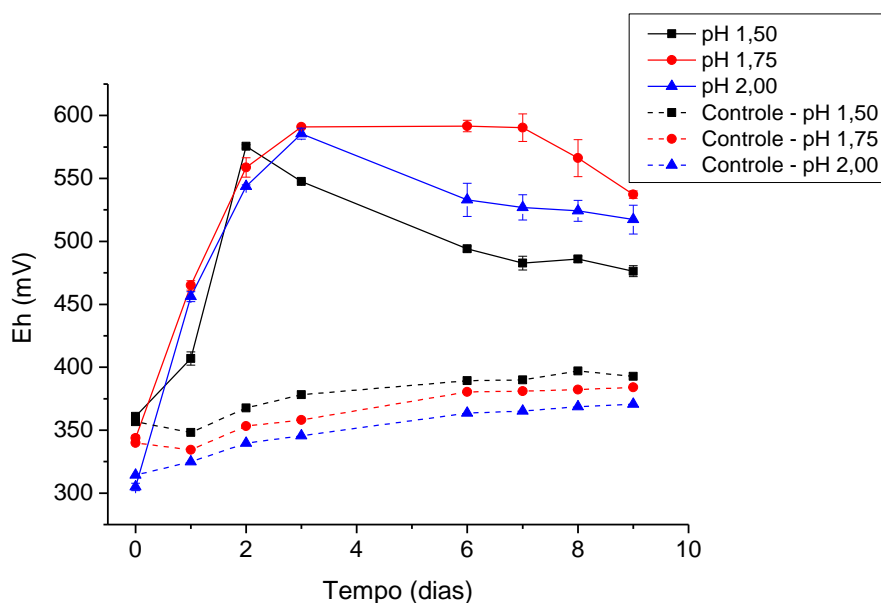


Figura 5.9. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, 2,0g/L de  $Fe^{2+}$ , 47°C e em diferentes valores de pH (1,50; 1,75 e 2,00), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).

Na Figura 5.10 são apresentados os resultados do perfil do crescimento bacteriano obtidos nos ensaios conduzidos em diferentes valores de pH. Verifica-se que em pH 1,5 a população bacteriana apresentou queda a partir do 3º dia de ensaio, alcançando a ordem de  $10^7$  célula/mL no 8º dia contra  $10^8$  célula/mL nas condições experimentais de pH 1,75 e 2,00. Diante disso, verifica-se que em pH 1,5 as condições não foram ideais para o desenvolvimento microbiano, o que concerne com os dados discutidos na literatura, a qual relata-se que a espécie *Sulfobacillus thermosulfidoxidans* apresenta crescimento ótimo na faixa de pH 1,7-1,8 (KARAVAIKO *et al.*, 2006). O resultado do potencial de oxi-redução (Figura 5.9) também aponta um efeito depreciador do pH 1,5 no crescimento microbiano, uma vez que apresentou-se inferior às demais condições testadas a partir do 3º dia de ensaio.

Na Figura 5.11, estão apresentados os resultados de extração de arsênio, obtidos nos ensaios conduzidos com valores de pH iguais a 1,50; 1,75 e 2,00. A dissolução química de arsênio (ensaio controle) foi inexpressiva e não foi observado influência do pH sobre a oxidação da arsenopirita. Por outro lado, a dissolução de arsênio mediada pelos micro-organismos apresentou resultados satisfatórios, sendo que as condições de pH 1,50; 1,75 e 2,00, alcançaram extrações finais iguais a 35,6%; 48,0% e 36,2%, respectivamente.

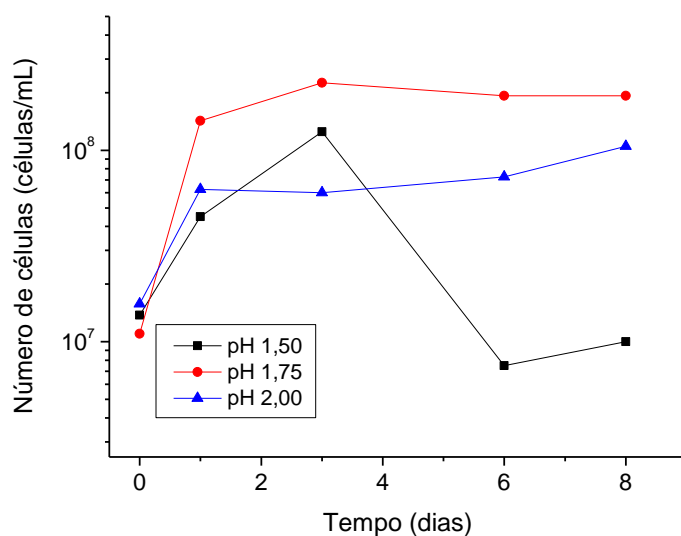


Figura 5.10. Perfil do crescimento bacteriano (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, 2,0g/L de  $Fe^{2+}$ , 47°C e em diferentes valores de pH.

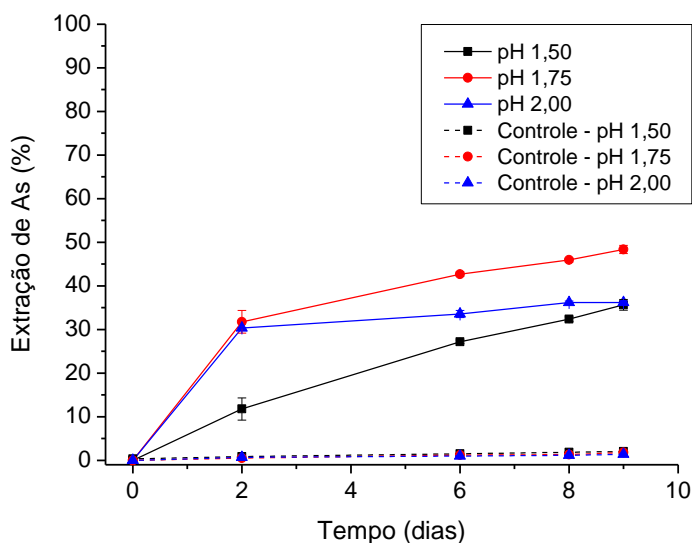


Figura 5.11. Variação da extração de As (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, 2,0g/L de  $Fe^{2+}$ , 47°C e em diferentes valores de pH (1,50; 1,75 e 2,00), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).

Nos ensaios conduzidos em pH 1,50, a baixa solubilização do metal pode ser atribuída à condição menos favorável para o desenvolvimento microbiano, conforme discutido anteriormente (Figura 5.10). Por outro lado, a distinção entre os valores de extração final de arsênio observada nas condições de pH 1,75 e 2,00 pode estar relacionada ao efeito do pH



sobre a solubilidade do elemento. Isto pois a literatura científica relata o efeito deste parâmetro na formação de precipitados contendo o elemento, tais como arsenato férrico e jarosita contendo arsênio (HENA O e GODOY, 2010; TUOVINEN *et al.*, 1994; JONES e HACKEL, 1999). Segundo RIVADENEIRA (2010), em temperaturas próximas a 50°C, a região de estabilidade do íon férrico se estende até valores de pH próximos a 1,8, ou seja, em condições acima deste valor ocorre formação destes precipitados. Os resultados da concentração de ferro ao longo do processo (Figura 5.12) corroboram a suposição de que em pH 2,0 a formação de precipitados férricos seja mais acentuada do que em pH 1,75, um vez que houve uma redução abrupta na concentração de ferro total.

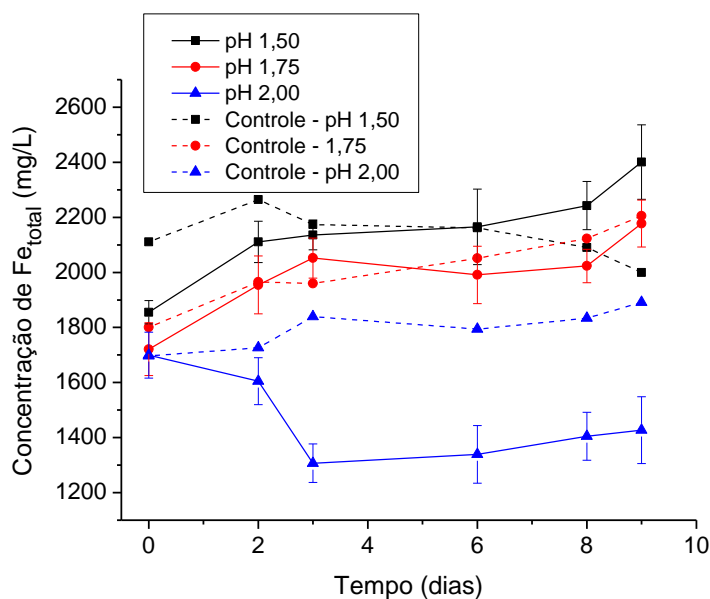


Figura 5.12. Variação da concentração total de ferro (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,50% de sólido, 47°C, 2,00g/L de Fe<sup>2+</sup> e diferentes valores de pH (1,50; 1,75 e 2,00), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).

Cassity e Pesic (1999) também constataram a influência do pH na formação de produtos sólidos contendo Fe e As durante a biolixiviação de um minério de arsenopirita (9,9% As; 18,6% Fe; 9,26% S<sub>total</sub>; 7,5% S<sub>sulfeto</sub> e 25,9% SiO<sub>2</sub>) por *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Nesse estudo, os autores verificaram que as concentrações de As e Fe dissolvidos foram praticamente nulas em condições de pH 2,5 e 3,0. Contudo, no ensaio conduzido em pH 1,0 os valores de Fe<sub>total</sub> e As dissolvidos mostraram-se substancialmente diferentes, sendo alcançadas extrações iguais a 62% (5.766mg/L de Fe<sub>total</sub>) e 35% (1.733mg/L de As), respectivamente. Em pH 2,0, as concentrações de Fe e As dissolvidos foram ligeiramente

maiores do que em pH 2,5 e significativamente menores quando comparadas aos ensaios em pH 1,0. Segundo os autores, a baixa concentração de Fe e As apresentada nos ensaios com pH acima de 1,0 estaria associada à formação de precipitados, tais como hidróxido férrico, jarosita e arsenatos férricos. Estudos realizados por Ubaldini *et al.* (1997) sobre a influência do pH (2,00; 2,25 e 2,50) na bio-oxidação de arsenopirita (1,47% As; 0,63% S e 88,5% SiO<sub>2</sub>) por *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans* também observaram diminuição nas concentrações totais de Fe e As solúveis com o aumento do pH. Os experimentos foram conduzidos com 10% de sólidos (m/v), sendo alcançados percentuais de extração de ferro iguais a 41% (pH 2,00), 35% (pH 2,25) e 28% (pH 2,50), e de arsênio solúvel foram iguais a 32% (pH 2,00), 25% (pH 2,25) e 22% (pH 2,50). Os autores apresentaram como causa desse resultado a redução na solubilidade das espécies Fe<sup>3+</sup>, As<sup>3+</sup> e As<sup>5+</sup> em condições de pH mais elevado (UBALDINI *et al.*, 1997).

Em síntese, a solubilização ótima de arsênio foi verificada em pH 1,75. Em pH 2,0, a redução na concentração do elemento em solução parece estar associada à formação de precipitados, a exemplo do arsenato férrico e da jarosita. Por outro lado, o processo conduzido em pH 1,5 desfavorece o crescimento microbiano, bem como a oxidação do concentrado sulfetado.

A variação da extração de antimônio obtida nos ensaios em diferentes valores de pH está apresentada na Figura 5.13. Assim como no estudo da influência da concentração de Fe<sup>2+</sup>, neste caso foi constatado baixa solubilização de antimônio. Os valores de extração do elemento, ao final do experimento, para os ensaios bióticos com pH 1,50; 1,75 e 2,00 foram iguais a 10,56%; 5,50% e 0,50%, respectivamente. Os resultados apontam o efeito químico na extração de antimônio, sendo que em condições de pH mais baixo a extração deste elemento é maior, o que pode ser resultado da coprecipitação do elemento junto com o ferro e arsênio.

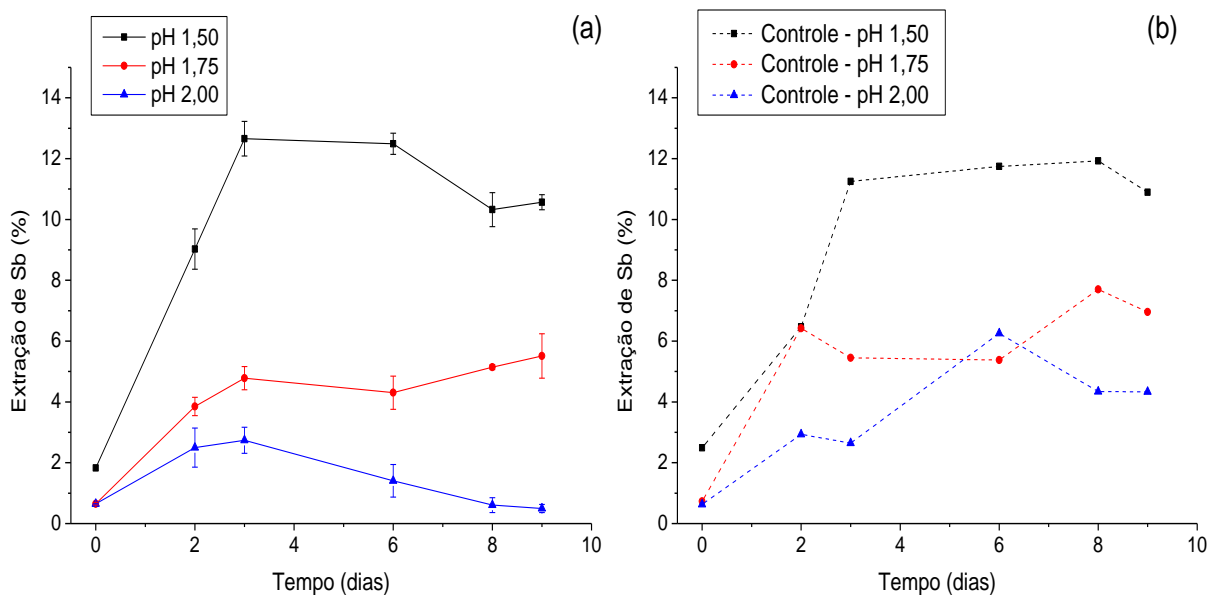


Figura 5.13. Variação da extração de antimônio (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, 47°C, 2,0g/L de  $Fe^{2+}$  e em diferentes valores de pH (1,50; 1,75 e 2,00), nos ensaios inoculados (a) e não inoculados (b).

Torma e Gabra (1977) realizaram um estudo em frascos agitados sobre oxidação de uma amostra de estibinita de elevada pureza (70,2% Sb). Os autores avaliaram o efeito do pH (1,50, 1,75, 2,00, 2,25, 2,50, 3,00 e 3,50) sobre a extração de antimônio durante a biolixiviação por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, a 35°C e com percentual de sólidos igual a 6% (m/v). Os resultados de extração de antimônio obtidos no 5º dia para as respectivas condições testadas foram próximas a 2,14% (900mg/L de Sb em solução), 3,10% (1300mg/L de Sb em solução), 2,91% (1225mg/L de Sb em solução), 2,54% 1070mg/L de Sb em solução), 1,68% (710mg/L de Sb em solução), 1,16% (490mg/L de Sb em solução) e 0,59% (250mg/L de Sb em solução). Diante desses resultados, os autores constataram que a maior eficiência na solubilização do elemento ocorreu em pH 1,75 (3,10% de extração de Sb). Os autores não apresentaram uma discussão sobre a influência do pH na dissolução de antimônio, como também não há informações suficientes para a compreensão do efeito deste parâmetro no processo de biolixiviação, tais como: evolução do crescimento microbiano, oxidação da matriz mineral e produtos formados. Considerando-se os resultados da evolução da dissolução de antimônio com o tempo apresentados pelos autores, observa-se que, para valores de pH maiores do que 1,50, há uma redução na extração de antimônio com o aumento desta variável, fato este que concerne com os resultados obtidos no presente estudo.

### 5.3.3 Influência do percentual de sólidos na bio-oxidação do concentrado

A análise do percentual de sólidos em estudos de bio-oxidação fornece informações relevantes sobre o processo. Segundo Hallberg *et al.* (1996), o efeito prejudicial aos micro-organismos de elementos tóxicos presentes nas amostras minerais na biolixiviação pode ser verificado através do estudo da influência da concentração de sólidos no processo de oxidação. Além disso, o uso de alta concentração de sólidos (normalmente superiores a 10%) em processos de biolixiviação, importante do ponto de vista industrial, pode promover a redução na velocidade de oxidação dos sulfetos (CLARK e NORRIS, 1996; KOMNITAS e POOLEY, 1990). Este comportamento tem como causas o efeito da limitação da transferência de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> da fase gasosa para a solução e o estresse causados durante a agitação em elevadas densidades de polpa (CLARK e NORRIS, 1996; ZHANG *et al.*, 2008).

Diante disso, foram também realizados ensaios a fim de avaliar o efeito desta variável sobre a bio-oxidação do concentrado sulfetado. Neste estudo, as condições experimentais aplicadas foram: 47°C, pH 1,8, concentração inicial de Fe<sup>2+</sup> igual a 5g/L e percentuais de sólido iguais a 1,50%, 2,25% e 3,00% (m/v).

A variação do potencial de oxi-redução para os percentuais de sólidos testados está apresentada na Figura 5.14. Os valores de Eh apresentaram aumento acentuado até o 2<sup>o</sup> dia, e comportamento similar ao longo do processo, para todas as condições bióticas. Estes resultados indicam a falta de influência negativa do aumento do percentual de sólidos até 3,0% na oxidação do íon ferroso, uma vez que a razão Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> não foi afetada pelo aumento desta variável. Por outro lado, o estudo realizado por Komnitas e Pooley (1990), o qual utilizou percentual de sólido elevado (5%-30%), constatou redução significativa nos valores máximos de Eh com o aumento da densidade de polpa (600mV- 5% m/v de sólidos; 500mV- 15% m/v de sólidos; 440mV- 30% m/v de sólidos) durante a biolixiviação de pirita e arsenopirita por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, a 35°C. Além disso, o efeito negativo do aumento desta variável foi também observado nos valores de extração de ferro e arsênio (5% m/v de sólidos: 86,2% de Fe e 87,5% de As; 15% m/v de sólidos: 50% de ferro e 80% de As; 30% m/v de sólidos: 20% de Fe e 50% de As).

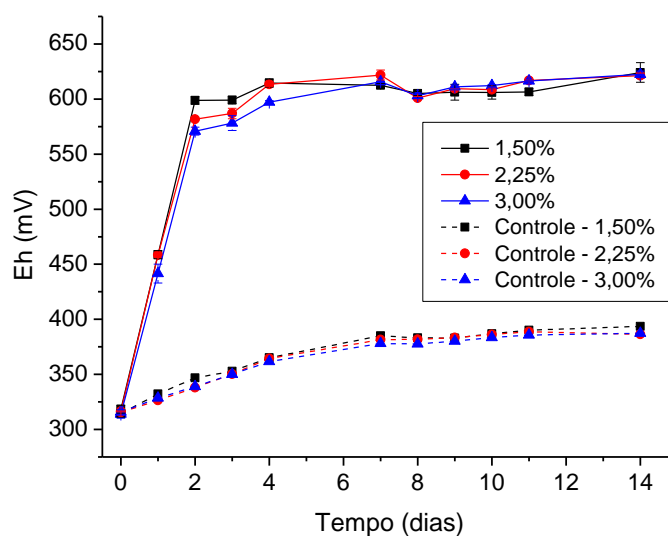


Figura 5.14. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, 47°C, 5,0g/L de  $Fe^{2+}$  e em diferentes percentuais de sólido (1,50%; 2,25% e 3,00%), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).

Ao analisar o perfil do crescimento bacteriano (Figura 5.15), nota-se que a concentração celular apresentou resultados similares em todas as condições experimentais, não sendo evidenciado um efeito negativo do aumento no percentual de sólidos sobre o crescimento microbiano. Os resultados do potencial de oxi-redução (Figura 5.14) reforçam tal constatação, uma vez que não houve distinção dos valores de Eh entre as variáveis testadas. A capacidade de adesão da espécie *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* à superfície de sulfetos foi relatada por Becker *et al.* (2011) e Tsaplina *et al.* (2013). Diante disso, a menor concentração microbiana observada ao final do experimento conduzido com 3,0% de sólido (ordem de  $10^7$  células/mL) em relação às demais condições (ordem de  $10^8$  células/mL) pode ter como causa a adesão de parte dos micro-organismos à superfície do sólido.

A Figura 5.16 mostra a variação da extração de arsênio para as diferentes densidades de polpa avaliadas. Os ensaios com 1,50%, 2,25% e 3,00% possibilitaram extrações finais de arsênio iguais a 46%, 37% e 32%, respectivamente. Tendo em vista a falta de evidências do efeito prejudicial do aumento da concentração de sólidos sobre a atividade microbiana, é possível inferir a necessidade de um tempo maior de reação a fim de aumentar os valores de extração de arsênio.

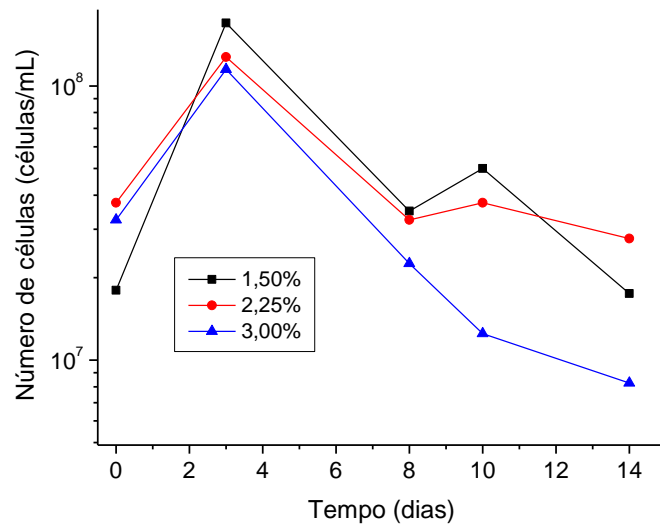


Figura 5.15. Perfil do crescimento bacteriano (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, 47°C, 5,0g/L de  $Fe^{2+}$  e em diferentes percentuais de sólido.

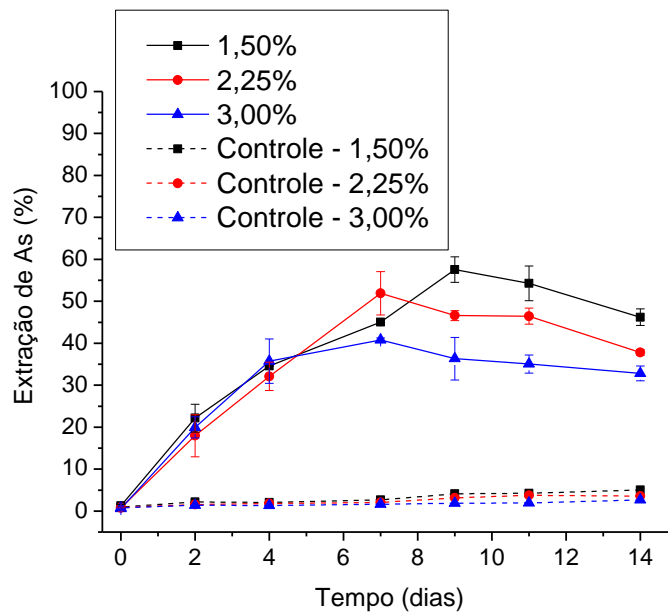


Figura 5.16. Variação da extração de arsênio (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais pH 1,8, 47°C, 5,0g/L de  $Fe^{2+}$  e em diferentes percentuais de sólido (1,50%; 2,25% e 3,00%), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – ensaios controle (linha tracejada).

A avaliação do efeito da concentração de elementos tóxicos aos micro-organismos é pertinente em estudos de bio-oxidação/biolixiviação. Na literatura, são relatadas concentrações de arsênio em solução iguais a 5900mg/L (TUOVINEN *et al.*, 1994) e 1.733mg/L (CASSITY e PESIC, 1999), durante a biolixiviação de arsenopirita, as quais são

significativamente maiores do que as apresentadas no presente estudo (230mg/L-3,0% sólido; 220mg/L-2,25% sólido e 162mg/L-1,5% sólido) (Figura 5.16). Em Tuovinen *et al* (1994), a bio-oxidação de arsenopirita foi conduzida com uma cultura mista de acidófilos termófilos moderados (*Acidithiobacillus caldus*-KU) (TUOVINEN *et al.*, 1994). Enquanto que, em Cassity e Pesic (1999) no processo de biolixiviação de arsenopirita (9,9% As; 18,6% Fe; 9,26% S<sub>total</sub>; 7,5% S<sub>sulfeto</sub> e 25,9% SiO<sub>2</sub>) utilizou-se a espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Em ambos os estudos, os efeitos deletérios do arsênio ao processo não são mencionados. Por outro lado, Hallberg *et al.* (1996) observaram que a espécie *Sulfolobus acidocaldarius* (BC) apresentou-se sensível aos efeitos tóxicos do arsênio durante a oxidação de um concentrado de arsenopirita. A toxicidade do arsênio foi investigada através da análise comparativa entre a biolixiviação da pirita e arsenopirita. Durante a oxidação do concentrado de pirita, os resultados mostraram que não houve diferenças significativas na taxa de oxidação específica, medida em termos de dissolução de ferro (mg.Fe.L<sup>-1</sup>mineral.h<sup>-1</sup>), nos ensaios conduzidos com 2%, 4% e 6% (m/v de sólidos). Contudo, para os ensaios com concentrado de arsenopirita, foi constatado redução de 50% no rendimento de oxidação de ferro com o aumento de 2% para 4% (m/v de sólidos) na porcentagem de sólidos e, para a condição com 6% (m/v) do concentrado, o rendimento foi somente de 25%, quando comparada à obtida com 2% (m/v) de sólidos. Quanto ao arsênio, as concentrações atingidas ao final do experimento (16 dias), para os percentuais de sólido de 2%, 4% e 6%, foram 1000mg/L (44% de extração de As), 1.700mg/L (37% de extração de As) e 1.940mg/L (28% de extração de As), respectivamente (HALLBERG *et al.*, 1996).

Quanto ao antimônio, aparentemente, este elemento não pode ser considerado como o responsável pela redução da eficiência de oxidação, uma vez que sua concentração foi baixa e inferior às medidas em condições abióticas (Figura 5.17). Cabe ressaltar que em todas as condições testadas nesta pesquisa, as concentrações de antimônio foram similares e reduzidas, o que indica baixa solubilização desse elemento nestas condições de biolixiviação. Assim como neste estudo, Luptakova *et al.* (2008) também relataram baixas concentrações do elemento em solução (70mg/L) durante a biolixiviação por *Acidithiobacillus ferrooxidans* de um mineral aurífero contendo, majoritariamente, estibinita, pirita e quartzo (21,93% Si, 4,94% Sb, 4,28% de Fe e 3,77% S). Além disso, não foi discutido o efeito tóxico dos elementos presentes na amostra sobre os micro-organismos.

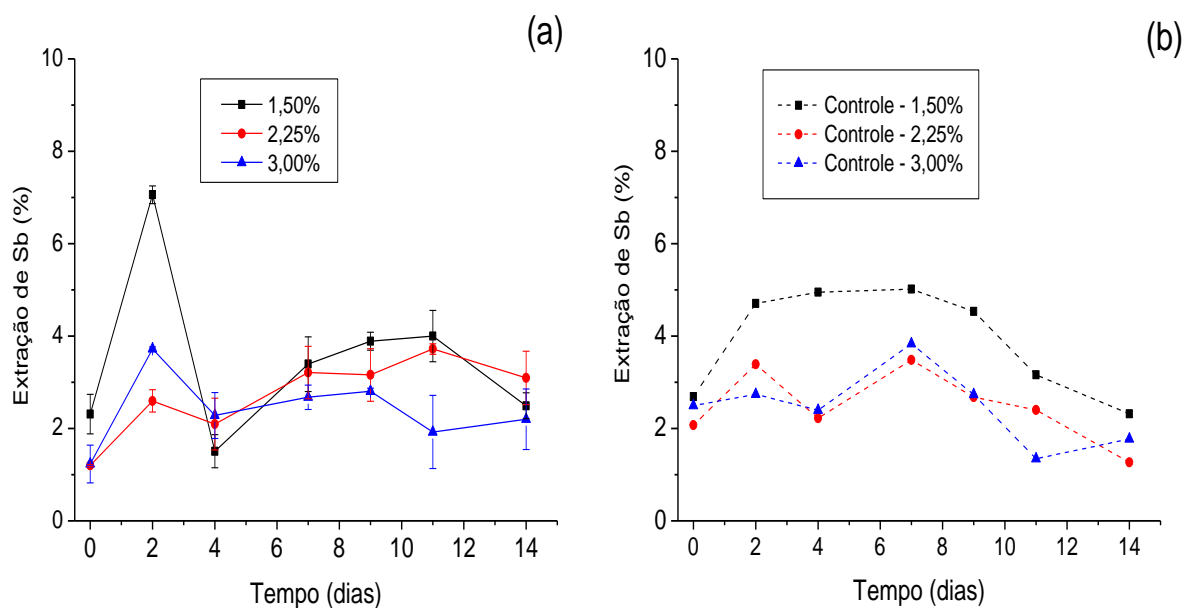


Figura 5.17. Evolução da extração de Sb (%) com o tempo para amostras do concentrado pirítico em condições de pH 1,8,47°C, adição de 5,0 g/L de  $Fe^{2+}$  e em diferentes percentuais de sólido (1,50%; 2,25% e 3,00%), na presença (a) e na ausência de micro-organismos (b).

Na Figura 5.18, são apresentados os resultados da variação da concentração total de ferro para os diferentes percentuais de sólidos avaliados. Observa-se que, nos ensaios controle, as concentrações foram superiores às exibidas nas condições bióticas em praticamente todo o período experimental. A formação de jarosita é uma das causas relatadas na literatura para o decaimento na concentração de ferro nos sistemas bióticos (MÁRQUEZ *et al.*, 2012). Nos ensaios conduzidos com micro-organismos, observou-se que a concentração do elemento ferro apresentou-se baixa no seio da solução, devido à formação deste composto (confirmada pela técnica de DRX – seção 5.3.4). Além disso, em função da concomitante dissolução de ferro (proveniente da oxidação dos sulfetos) e a precipitação deste elemento (decorrente da formação de fases secundárias), a evolução da concentração de  $Fe_{total}$  foi caracterizada por oscilações em seus níveis. Hallberg *et al.* (1996) também observaram comportamento similar da concentração de ferro solúvel durante a oxidação de pirita, utilizando tanto a espécie *Sulfolobus acidocaldarius* (BC) a 65°C como a *Acidithiobacillus caldus* (KU) a 45°C.



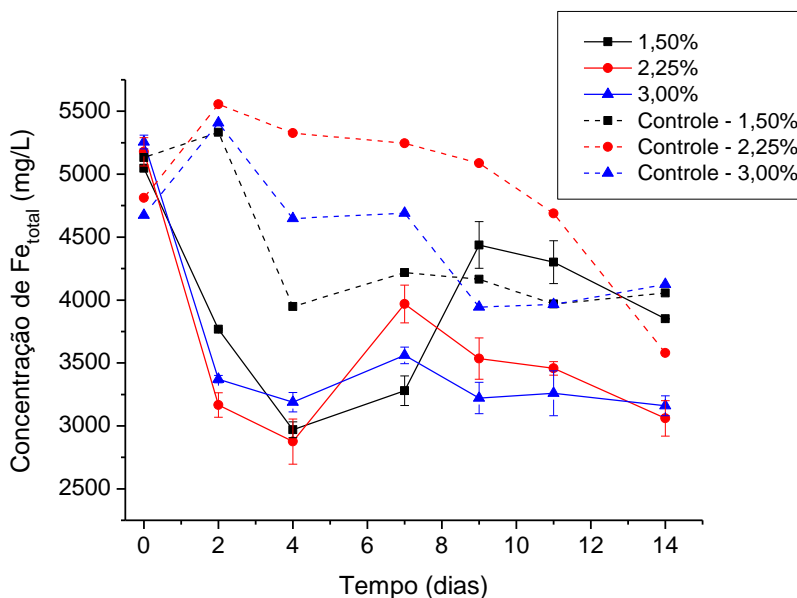


Figura 5.18. Evolução da concentração de  $Fe_{total}$  (mg/L) com o tempo para amostras do concentrado sulfetado em condições de pH 1,8, adição de 5,0g/L de  $Fe^{2+}$  e em diferentes percentuais de sólido (1,50%; 2,25% e 3,00%), na presença (linha cheia) e na ausência de micro-organismos – Ensaio controle (linha tracejada).

#### 5.3.4 Caracterização dos resíduos obtidos dos ensaios de bio-oxidação

Com o objetivo de confirmar a presença de fases secundárias geradas durante o processo de bio-oxidação e obter informações acerca do ataque oxidativo dos sulfetos presentes na amostra, foram realizadas análises de DRX e MEV/EDS dos resíduos dos ensaios de bio-oxidação. Além disso, essas análises buscaram confirmar as evidências observadas nos ensaios de oxidação bacteriana (seção 5.3.1-5.3.3), sendo essas:

- i) contribuição da concentração inicial de  $Fe^{2+}$  na formação de precipitados contendo ferro;
- ii) decaimento da concentração de ferro total proveniente da formação de precipitados contendo este elemento;
- iii) favorecimento da precipitação de ferro em pH 2,0;
- iv) redução na extração, medida a partir da concentração de arsênio;
- v) baixa solubilidade de antimônio em solução devido à formação de precipitados contendo este elemento.

Os difratogramas de raios-x dos resíduos da bio-oxidação gerados nos ensaios que avaliaram a influência da concentração inicial de  $Fe^{2+}$  na bio-oxidação do concentrado são apresentados

na Figura 5.19. Ao avaliar esses resultados observa-se que os sulfetos presentes na amostra original (Figura 5.1) não foram completamente oxidados, como indicam os picos de pirita/estibinita/gudmundita ( $2\theta=47^\circ$ ; em vermelho) e arsenopirita/pirita ( $2\theta=56^\circ$ ; em azul). Contudo, é evidente o efeito potenciador da oxidação do concentrado mediada pelos micro-organismos em relação à oxidação química através do oxigênio dissolvido em solução (Figura 5.19 (e)), na qual ainda são observados vários picos relativos aos sulfetos em  $28,5^\circ$  (P),  $33^\circ$  (P),  $37^\circ$  (P/A/E),  $41^\circ$  (P/A),  $47^\circ$  (P/E/G) e  $56,5^\circ$  (P/A). A avaliação individual do grau de oxidação dos sulfetos, principalmente arsenopirita, estibinita e gudmundita foi dificultada, uma vez que estes minerais apresentam picos em comum. Ainda, os sulfetos de antimônio compartilham posições dos picos de difração homólogas à alguns silicatos, os quais são inertes ao processo de bio-oxidação, não sendo possível avaliar a oxidação destes sulfetos nesse caso.

Os resultados de DRX também demonstram o papel positivo da concentração inicial de íons  $Fe^{2+}$  na oxidação dos sulfetos. Na condição experimental sem o uso de sulfato ferroso (Fig. 5.19 (a)) pode-se observar os picos localizados nas posições  $47^\circ$  (P/E/G; em vermelho) e  $56^\circ$  (P/A; em azul). Por outro lado, a adição de 10g/L de íons  $Fe^{2+}$  (Fig. 5.19 (d)) possibilitou uma melhor oxidação dos sulfetos, permanecendo apenas um pico ( $47^\circ$  - P/E/G). Estes resultados estão em concordância com as constatações feitas pelo monitoramento da bio-oxidação através da dissolução de arsênio, em que foi observado valores de extração de arsênio maiores com uso de 10,0g/L de íons  $Fe^{2+}$  do que as demais condições.

Foi também constatado influência da concentração de íons  $Fe^{2+}$  na formação de jarosita. Isto pois, sem a adição de  $FeSO_4 \cdot H_2O$  não foi evidenciada a presença de jarosita (Fig. 5.19 (a)). No entanto, nos experimentos suplementados com  $Fe^{2+}$ , observa-se a formação desta fase secundária. Além disso, tomando como referência os picos de quartzo<sup>1</sup> localizados nas posições  $26,56^\circ$  e  $51^\circ$ , verifica-se que há intensificação dos picos de jarosita ( $2\theta=28^\circ$  e  $50^\circ$ ; em verde) com o aumento da adição dos íons  $Fe^{2+}$ .

---

<sup>1</sup> O quartzo é inerte ao processo de bio-oxidação.

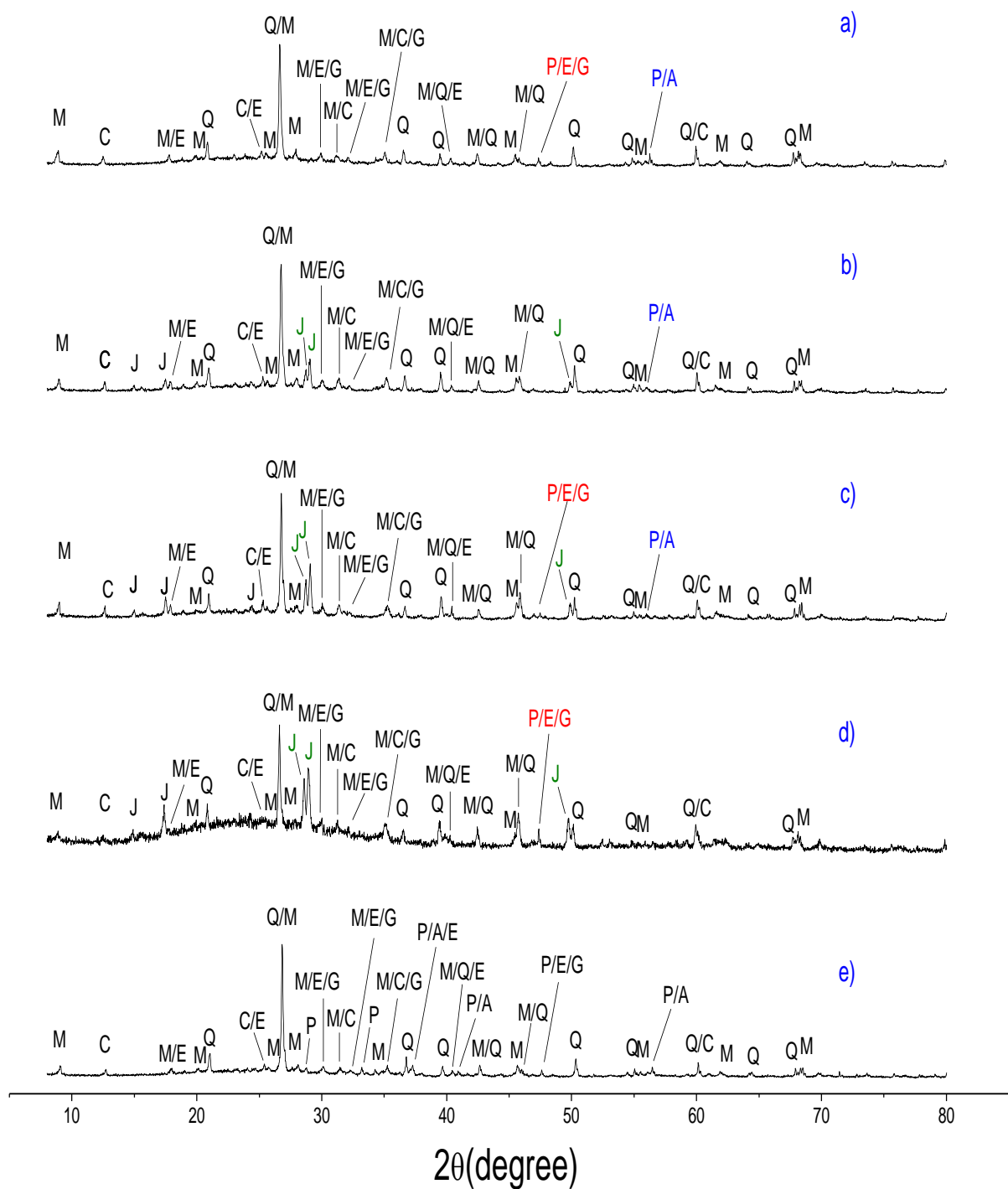


Figura 5.19 - Difração de raios - X (DRX) dos resíduos gerados no estudo da influência da concentração inicial de  $Fe^{2+}$  na bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, 47°C, 1,5% de sólidos (m/v) e 14 dias de ensaio. a) 0,0g/L  $Fe^{2+}$ ; b) 2,5g/L  $Fe^{2+}$ ; c) 5,0g/L  $Fe^{2+}$ ; d) 10,0g/L  $Fe^{2+}$  e) controle químico utilizando 5,0g/L  $Fe^{2+}$ . Símbolos: M, muscovita; C, clorita; Q, quartzo; P, pirita; A, arsenopirita; E, estibinita; G, gudmundita; J, jarosita.

Na Figura 5.20 são apresentados os difratogramas dos resíduos obtidos no estudo da influência do pH na bio-oxidação do concentrado. Nos resíduos dos ensaios conduzidos em pH 1,50 e 1,75, não foram detectados picos de jarosita ( $2\theta=28^\circ$  e  $50^\circ$ ). No entanto, em pH 2,0, verificou-se a formação de jarosita ( $2\theta=15-16^\circ$ ,  $17^\circ$ ,  $28^\circ$ ,  $50^\circ$  e  $55^\circ$ ), previamente sugerida em razão da diminuição da concentração de ferro total no sistema de bio-oxidação (Figura 5.12). O experimento conduzido em pH 1,5 mostrou-se menos eficiente quando comparado às demais condições, sendo observados mais picos relativos aos sulfetos do que em pH 1,75 e 2,00, os quais estão localizados em  $29^\circ$  (P),  $33^\circ$  (P),  $33,5^\circ$  (A),  $37^\circ$  (P/A/E),  $47^\circ$  (P/E/G),  $56^\circ$  (P/A). Estes resultados estão em acordo com a análise feita do sistema de bio-oxidação, que indicou condição desfavorável para o crescimento microbiano neste pH (Figura 5.10), resultando em baixa eficiência de oxidação da arsenopirita (Figura 5.11). Já para os ensaios realizados em pH 1,75 e 2,00, a técnica de DRX não permitiu inferir a melhor condição testada, uma vez que a proporção dos picos referentes aos sulfetos foi a mesma em ambos valores de pH. Nos resíduos referentes ao ensaio em pH 1,75 foram constatados picos de sulfetos em  $33^\circ$  (P),  $37^\circ$  (P/A/E),  $47^\circ$  (P/E/G),  $56^\circ$  (P/A). Já em pH 2,00 foram observados picos em  $33^\circ$  (P),  $37^\circ$  (P/A/E),  $41^\circ$  (P/A),  $56^\circ$  (P/A). Dessa forma, evidencia-se, mais uma vez, que a baixa solubilização do arsênio observada em pH 2,0 (Figura 5.11) não implica em prejuízos ao processo de oxidação, uma vez que nesta condição de pH podem ser formados precipitados contendo o elemento (HENAO e GODOY, 2010; TUOVINEN *et al.*, 1994; JONES e HACKEL, 1999).

Na Figura 5.21, são apresentados os resultados de difração de raios-x dos resíduos obtidos no estudo da influência do percentual de sólidos na bio-oxidação do concentrado. A presença de picos de jarosita nos sistemas contendo micro-organismos ( $2\theta=15^\circ$ ,  $17^\circ$ ,  $28^\circ$ ; em verde), elucida a diminuição da concentração de ferro total observada nos experimentos bióticos (Figura 5.18). Observa-se que, nos experimentos conduzidos com maior percentual de sólidos (3,0% (m/v)), ainda foram observados picos referentes aos sulfetos em  $41^\circ$  (P/A) e  $56^\circ$  (P/A). A presença destes picos residuais pode estar relacionada a necessidade de um tempo de reação mais longo devido o uso de concentração de sólidos mais elevada do que as demais condições. Tal conclusão complementa as constatações feitas sobre a necessidade de um tempo maior de reação a fim de aumentar o rendimento de extração de arsênio (Figura 5.16).

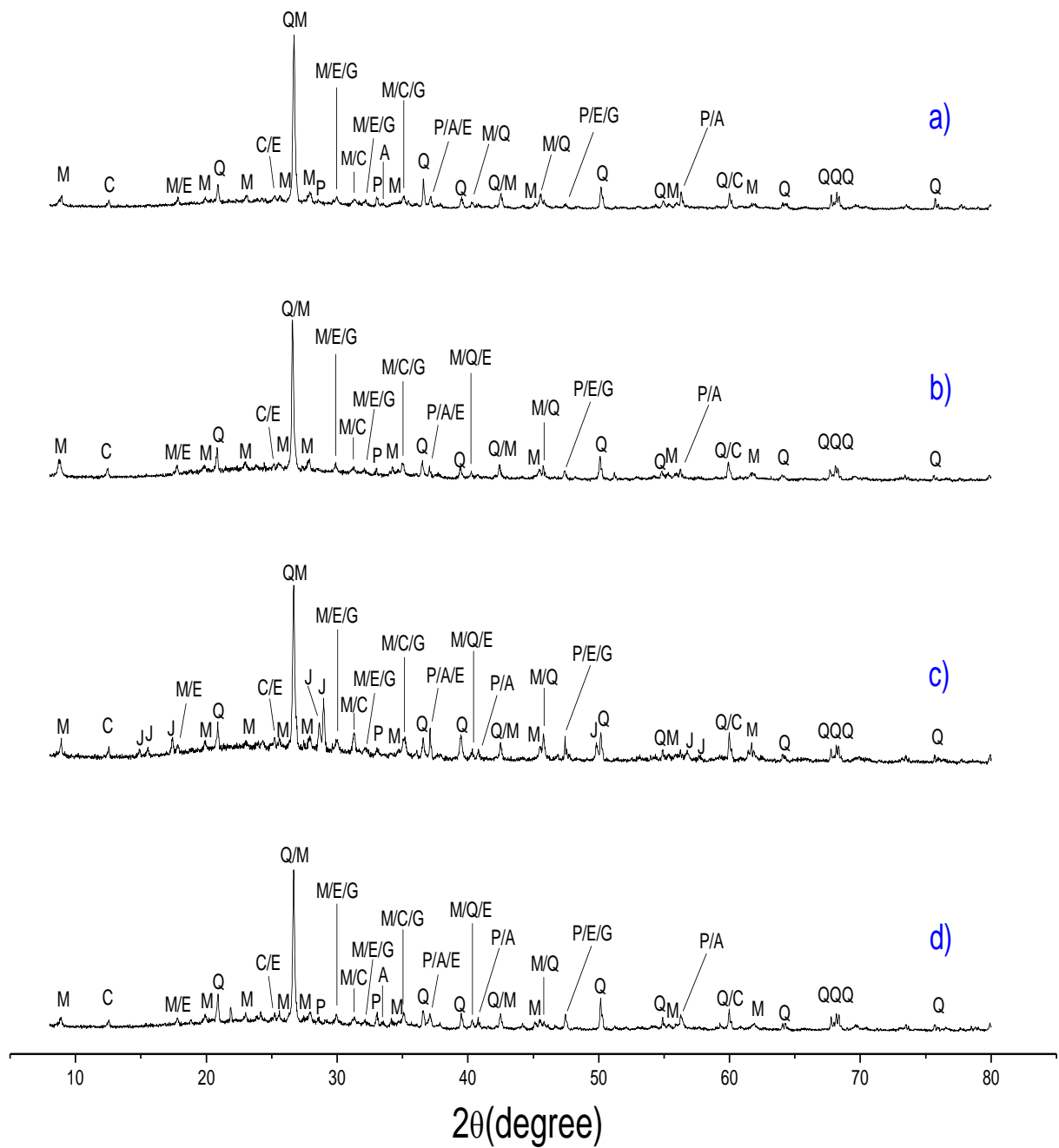


Figura 5.20. Difração de raios - X (DRX) dos resíduos gerados no estudo da influência do pH na bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido, 47°C e 9 dias de ensaio. a) pH 1,50 ; b) pH 1,75; c) 2,00; d) controle químico em pH 1,75. Símbolos: M, muscovita; C, clorita; Q, quartzo; P, pirita; A, arsenopirita; E, estibinita; G, gudmundita; J, jarosita.

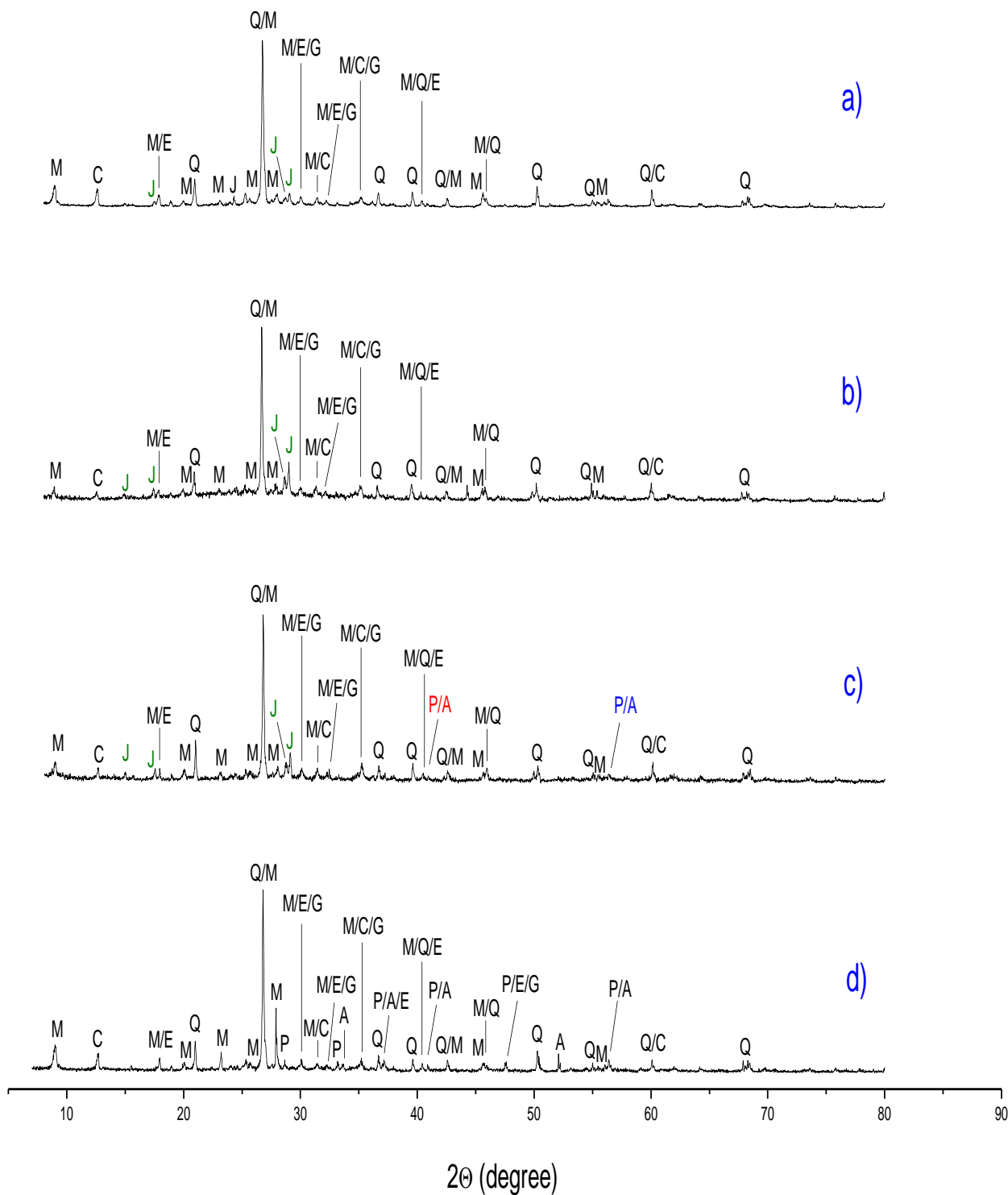
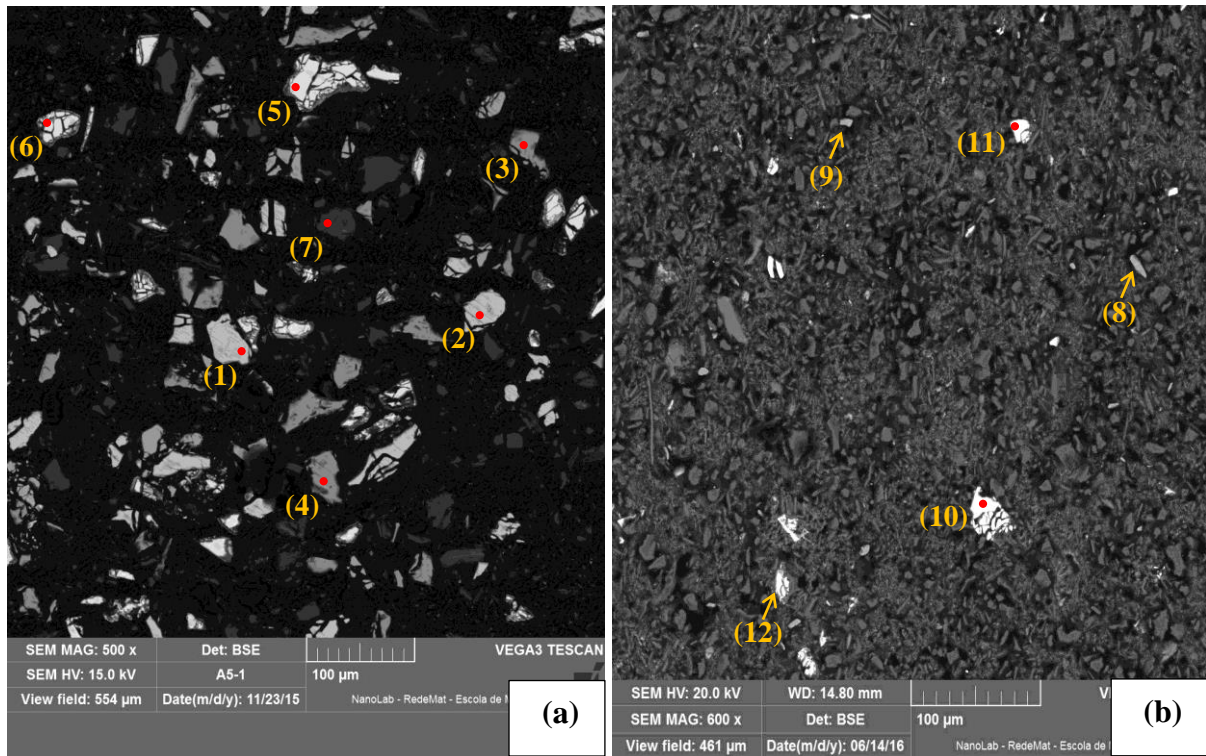


Figura 5.21. Difração de raios - X (DRX) dos resíduos gerados no estudo da influência do percentual de sólidos na bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, 47°C, 5,0g/L de  $\text{Fe}^{2+}$  e 14 dias de ensaio. a) 1,5% de sólidos; b) 2,25% de sólidos ; c) 3,0% de sólidos; d) controle químico com 2,25% de sólidos (m/v). Símbolos: M, muscovita; C, clorita; Q, quartzo; P, pirita; A, arsenopirita; E, estibinita; G, gudmundita; J, jarosita.

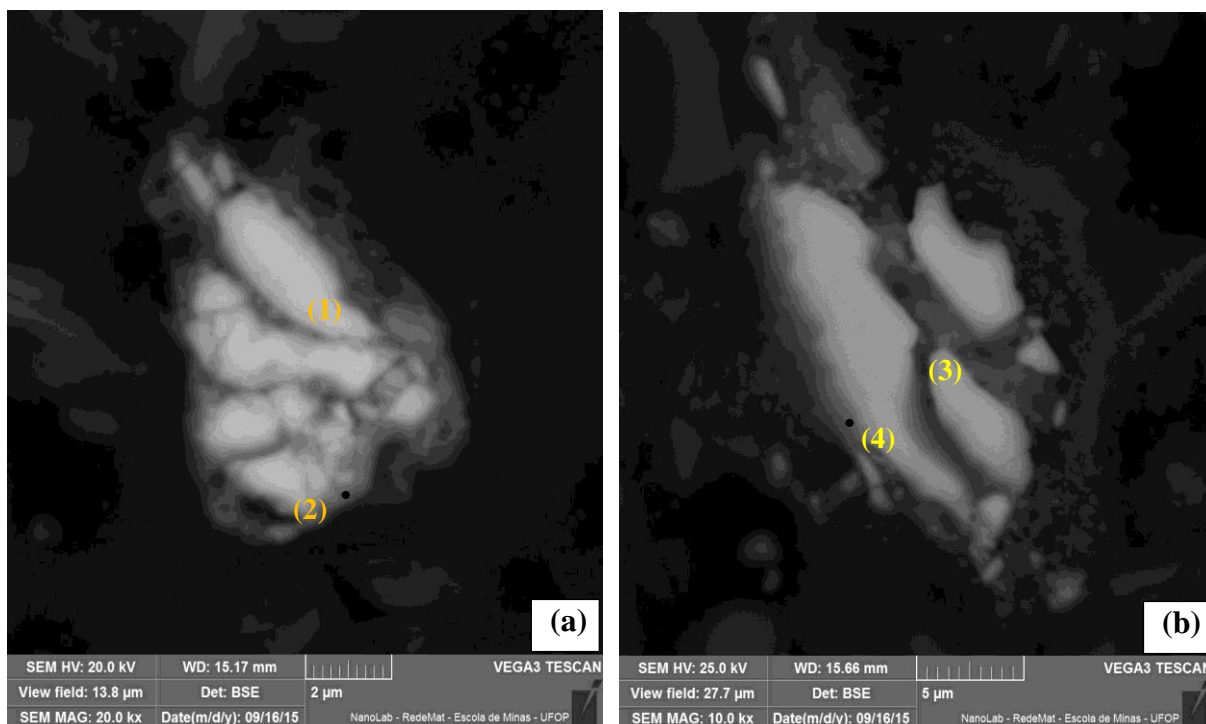
As análises de MEV/EDS também confirmam o efeito catalisador da espécie *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* na oxidação do concentrado sulfetado em relação à oxidação química. No ensaio de controle químico (Figura 5.22a) referente à avaliação da adição de 10g/L de  $Fe^{2+}$ , foi observado que o nível de oxidação foi significativamente baixo, sendo presenciados cristais de sulfetos (fases em tom claro). Porém, na amostra bio-oxidada, a frequência destas fases (também em tom claro) foi significativamente inferior (Figura 5.22-b). Além disso, neste resíduo, a presença de fases de pirita e, principalmente, arsenopirita não é recorrente. Por outro lado, os sulfetos de antimônio são pouco susceptíveis ao processo de bio-oxidação, uma vez que estes foram identificados com frequência e, na maioria dos casos, com morfologia similar aos encontrados no controle químico (Figura 5.22 – pontos 5, 6, 10 e 12). A Figura 5.23 mostra, com maior detalhamento, cristais de gudmundita encontrados nos resíduos do controle químico e condição biótica, respectivamente. Essa refratariedade observada nos sulfetos de antimônio pode estar relacionada ao efeito das interações galvânicas (ALBUQUERQUE Jr *et al.*, 2006). Estes resultados, aliado a baixa solubilidade do antimônio, a qual já está bem estabelecida na literatura, justifica a baixa concentração deste elemento em solução nos ensaios de bio-oxidação.



Análise química semi-quantitativa por EDS (em%-massa)					
Ponto	%	Ponto	%	Ponto	%
1	42,8% As 34,8% Fe 22,4% S	5	57,9% Sb 29,2% S 12,9% Fe	9	37,5% Fe 42,6% S 14,9% O
2	46,2% As 33,8% Fe 20,0% S	6	58,0% Sb 29,4% S 12,7% Fe	10	50,0% Sb 27,9% S 13,0% Fe 6,2% O
3	48,7% Fe 51,3% S	7	52,2 Si 45,8 O	11	50,4% Sb 24,3% S 13,2% Fe 10,1% O
4	46,6% Fe 53,4% S	8	39,2% Fe 43,2% S 10,7% O	12	57,7% Sb 24,3% S 10,9% O

Figura 5.22. Análise de EDS do resíduo de bio-oxidação obtido do ensaio de influência da adição de 10g/L de  $Fe^{2+}$  na bio-oxidação do concentrado sulfetado. (a) controle, evidenciando grãos de arsenopirita (1 e 2), pirita (3 e 4), gudmundita (5 e 6) e quartzo (7). (b) com micro-organismo, evidenciando grãos de pirita (8 e 9), gudmundita (10 e 11) e estibita (12). Condições experimentais: 1,5% de sólido, 47°C, pH 1,75 e 14 dias de ensaio.

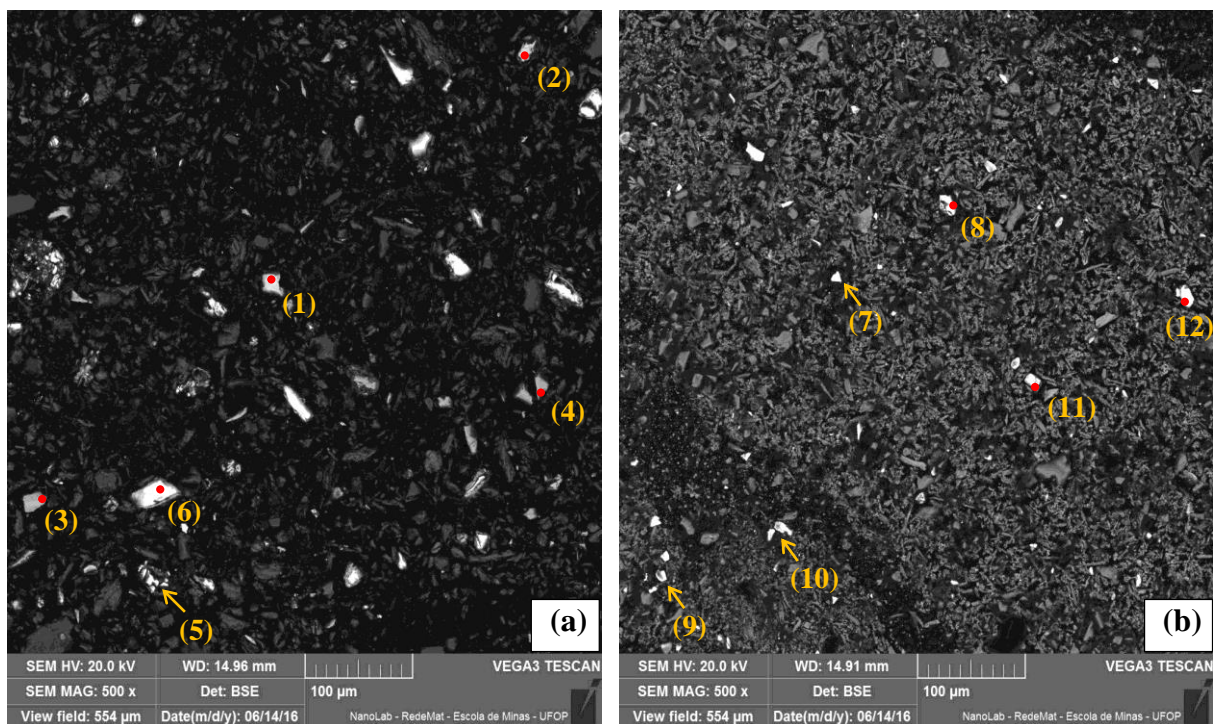




<b>Análise química semi-quantitativa por EDS</b>			
<b>(em%-massa)</b>			
Ponto	%	Ponto	%
1	53,1% Sb 26,6% S 11,9% Fe 7,9% O	3	51,2% Sb 25,4% S 13,7% Fe 6,0% O
2	48,6% Sb 23,2% S 11,7% Fe 13,1% O	4	52,0% Sb 28,7% S 12,7% Fe 5,7% O

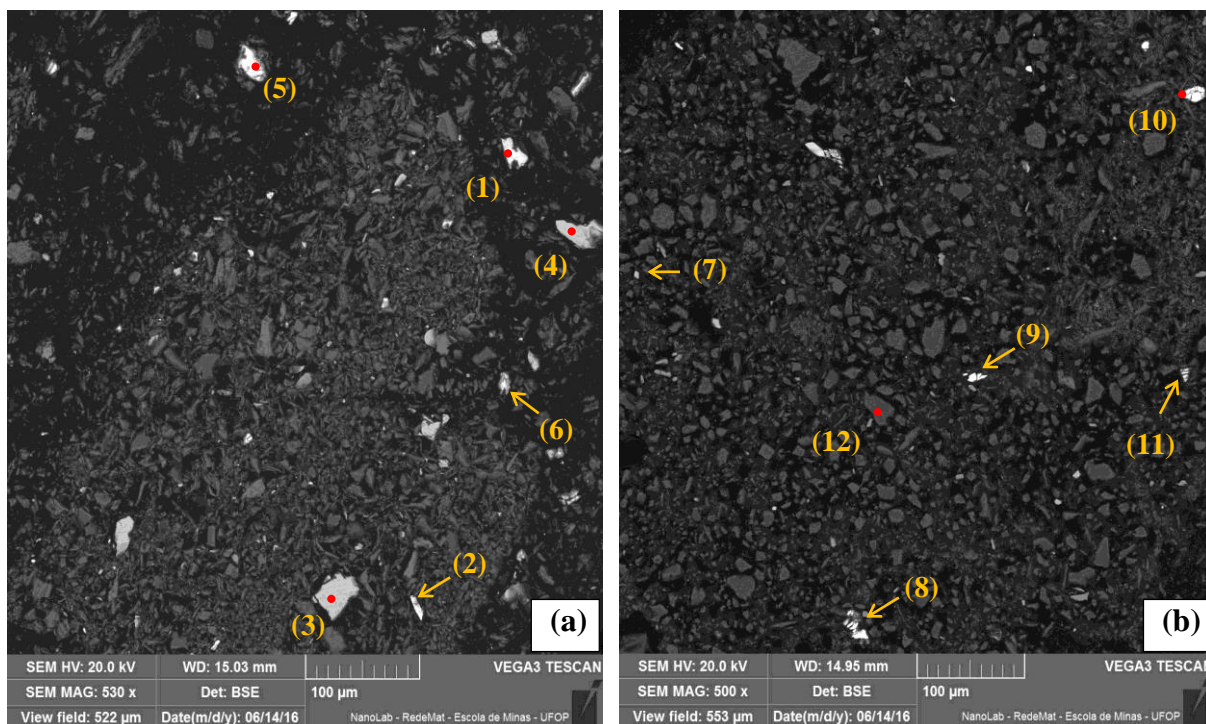
Figura 5.23. Análise de EDS do resíduo de bio-oxidação obtido do ensaio da influência da adição de 10g/L de  $Fe^{2+}$  na bio-oxidação do concentrado sulfetado, evidenciando um grão de gudmundita no controle químico (a) e no sistema com micro-organismo (b). Condições experimentais: 1,5% de sólido, 47°C, pH 1,8 e 14 dias de ensaio.

Constatações semelhantes também foram verificadas nos ensaios de avaliação da influência do pH e do percentual de sólidos na bio-oxidação do concentrado sulfetado. Nas Figura 5.24 e 5.25 são apresentados os resultados de MEV/EDS dos resíduos obtidos nos estudos do pH 1,75 e do percentual de sólidos igual a 2,25%, sendo as figuras (a) referentes ao ensaio de controle químico e (b) aos sistemas na presença dos micro-organismos.



Análise química semi-quantitativa por EDS (em%-massa)					
Ponto	%	Ponto	%	Ponto	%
1	37,9% As 33,2% Fe 20,1% S 8,6% O	5	70,3% Sb 26,7% S 3,0% O	9	69,3% Sb 25,0% S 3,4% O
2	40,2% As 31,6% Fe 19,9% S 7,1% O	6	55,4% Sb 27,8% S 12,6% Fe 4,2% O	10	69,9% Sb 24,8% S 3,3% O
3	46,3% Fe 53,7% S	7	43,3% Fe 49,2% S 6,8% O	11	50,5% Sb 24,6% S 12,8% Fe 10,2% O
4	44,1% Fe 51,1% S 4,1% O	8	45,8% Fe 48,9% S 5,0% O	12	54,2% Sb 27,6% S 12,3% Fe 5,6% O

Figura 5.24. Análise de EDS do resíduo de bio-oxidação obtido do ensaio de influência do pH 1,75 na bio-oxidação do concentrado. (a) sem micro-organismo, evidenciando grãos de arsenopirita (1 e 2), pirita (3 e 4), estibinita (5) e gudmundita (6). (b) com micro-organismo, evidenciando grãos de pirita (7 e 8), estibinita (9 e 10) e gudmundita (11 e 12). Condições experimentais: 1,5% de sólido, 47°C, pH 1,75 e 9 dias de ensaio.

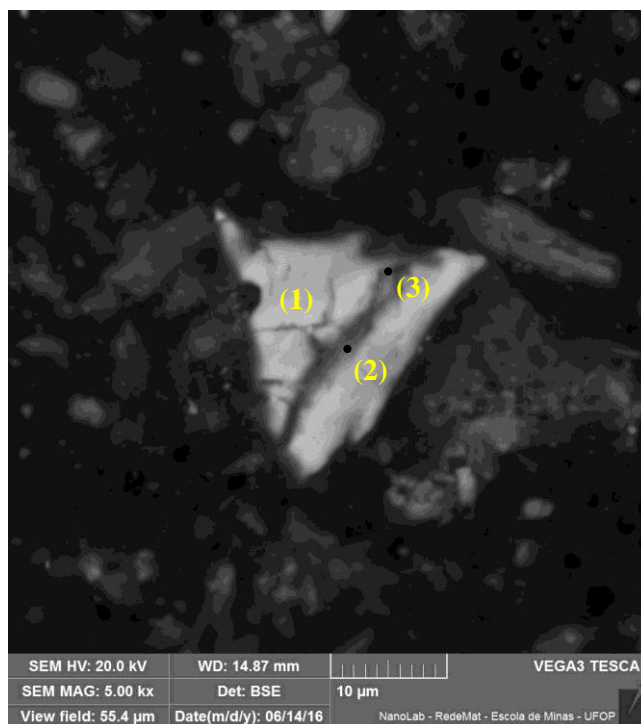


Análise química semi-quantitativa por EDS (em%-massa)					
Ponto	%	Ponto	%	Ponto	%
1	42,1% As 30,5% Fe 19,8% S 7,3% O	5	55,9% Sb 27,6% S 12,4% Fe 4,1% O	9	53,8% Sb 27,4% S 12,4% Fe 6,1% O
2	40,1% As 31,0% Fe 18,3% S 9,1% O	6	52,8% Sb 26,7% S 12,0% Fe 7,7% O	10	52,4% Sb 26,2% S 12,4% Fe 8,2% O
3	44,9% Fe 51,3% S 3,7% O	7	35,8% Fe 36,3% S 16,2% O	11	48,2% Sb 22,3% S 13,5% Fe 11,4% O
4	45,8% Fe 54,2% S	8	64,3% Sb 23,4% S 7,3% O	12	52,8% Si 46,2% O

Figura 5.25. Análise de EDS do resíduo de bio-oxidação obtido do ensaio de influência de 2,25% percentual de sólidos na bio-oxidação do concentrado. (a) sem micro-organismo, evidenciando grãos de arsenopirita (1 e 2), pirita (3 e 4), gudmundita (5 e 6). (b) com micro-organismo, evidenciando grãos de pirita (7), estibnita (8), gudmundita (9, 10 e 11) e quartzo (12). Condições experimentais: 22,5% de sólido, 47°C, pH 1,8 e 14 dias de ensaio.

A formação de óxidos insolúveis ((SbO)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e (SbO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) como consequência da bio-oxidação de sulfetos de antimônio é comumente relatada na literatura (TORMA e GABRA, 1977; LUPTAKOVA *et al.*, 2008), porém as técnicas de caracterização dos resíduos não identificaram a presença destes precipitados no presente estudo.

A identificação de jarosita nos resíduos da bio-oxidação através da técnica de MEV/EDS, principalmente na superfície dos grãos de pirita, já foi discutida na literatura (HENAO e GODOY, 2010; FANTAUZZI *et al.*, 2011). Porém, neste estudo, esta fase foi somente constatada pela técnica de DRX. Na Figura 5.26, é apresentado um grão de pirita parcialmente oxidado presente no resíduo obtido do ensaio que avaliou o efeito do pH 2,0 na bio-oxidação do concentrado.



Análise química semi-quantitativa por EDS (em%-massa)					
Ponto	%	Ponto	%	Ponto	%
1	50,9% S 44,6% Fe 4,2% O	2	41,7% S 36,6% Fe 16,0% O	3	46,8% S 46,2% Fe 4,5% O

Figura 5.26. Análise de EDS do resíduo de bio-oxidação obtido do ensaio da influência do pH 2,0 na bio-oxidação do concentrado sulfetado, evidenciando um grão de pirita parcialmente oxidado. Condições experimentais: 47°C, pH 2,0, 1,5% de sólido, 2,0g/L de Fe<sup>2+</sup> e 9 dias de ensaio.

É importante ressaltar que a proporção de fases minerais, como quartzo e aluminossilicatos, em relação aos sulfetos e às fases secundárias dificultou a identificação destas fases pelas técnicas de DRX e MEV/EDS. E, embora as análises de DRX e MEV/EDS não tenham evidenciado a formação de precipitados de arsênio, essa hipótese não pode ser rejeitada. Isso pois é relatado na literatura a presença de arsênio em fases secundárias, incluindo em jarosita (HENAO e GODOY, 2010; TUOVINEN *et al.*, 1994).



## 6. CONCLUSÕES

O efeito catalisador da espécie *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* na oxidação do concentrado sulfetado em relação à lixiviação química pelo oxigênio em solução foi evidenciado, tanto pela significativa dissolução de arsênio, como também pelas análises dos resíduos da bio-oxidação por meio das técnicas de DRX e MEV/EDS. Diante disso, os resultados sugerem ser promissoras futuras investigações, a fim de viabilizar o uso dessa espécie em processos industriais envolvendo temperatura mais elevada para a bio-oxidação de sulfetos.

O processo de bio-oxidação foi caracterizado pela precipitação de ferro, arsênio, antimônio e enxofre. O arsênio, dentre os constituintes dos sulfetos presentes na amostra, mostrou-se mais estável em solução, sendo possível utilizá-lo na análise da influência dos parâmetros testados na oxidação da arsenopirita. Por outro lado, a avaliação da oxidação da pirita, em termos da lixiviação de seus constituintes, foi difícil de ser acompanhada, pois as espécies solubilizadas (Fe e S) precipitam-se como jarosita, ou seja, os produtos da oxidação não são solúveis. Fato semelhante ocorre com a gudmundita e estibinita, pois o antimônio apresentou baixa solubilidade no sistema durante todo o período da bio-oxidação, não havendo diferença significativa entre os ensaios bióticos e os controles químicos. Apesar disso, foi evidenciada a influência do aumento na concentração inicial de íons  $Fe^{2+}$  e pH na redução da solubilização deste elemento.

Os experimentos que avaliaram a influência da concentração inicial de íons  $Fe^{2+}$  demonstraram que a adição deste íon se faz necessária para a eficiência da oxidação da arsenopirita, sendo que o uso de 10g/L promoveu um aumento de três vezes na extração de arsênio em relação à condição sem a adição externa de ferro. A técnica de DRX também aponta o papel positivo da concentração inicial de íons  $Fe^{2+}$  na oxidação dos sulfetos.

Foi constatado que a solubilização de arsênio em pH 1,75 é mais eficiente do que em pH 2,0 e 1,5. Em pH 2,0, a redução na concentração do elemento em solução parece estar associada à formação de precipitados, a exemplo, o arsenato férrico e jarosita, uma vez que a técnica de DRX constatou resultados similares de oxidação dos sulfetos aos obtidos em pH 1,75. Por outro lado, o processo conduzido em pH 1,5 desfavorece o crescimento microbiano, bem como a oxidação do concentrado sulfetado.

O estudo do percentual de sólidos evidenciou que os micro-organismos estavam adaptados às condições testadas, não sendo observados prejuízos ao crescimento microbiano com o aumento da concentração de sólidos.

Através das análises de MEV e EDS constatou-se que os sulfetos de antimônio apresentam baixa susceptibilidade ao processo de bio-oxidação. Essa característica refratária, aliada a pouca solubilidade de antimônio, já bem estabelecida na literatura, contribuíram para a baixa concentração deste elemento em solução nos ensaios de bio-oxidação.

Por fim, foi possível constatar a influência da concentração inicial de íons  $\text{Fe}^{2+}$  e do pH na precipitação de ferro, arsênio e antimônio durante a bio-oxidação dos sulfetos, ocasionando redução na concentração de ferro total, arsênio e antimônio em solução. Tal constatação aponta para a possibilidade de indução na geração dessas fases em processos industriais e, dessa forma, minimizar impactos ambientais, por reduzir significativamente a mobilidade dessas espécies na solução lixiviante.

## 7. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Determinar a concentração ótima de sulfato ferroso em processos de bio-oxidação em escala semi-piloto, como por exemplo em tanques agitados, para a recuperação de ouro a partir deste concentrado de flotação, seja por cianetação ou por reagentes alternativos.
- Avaliar a influência da presença de fases secundárias contendo arsênio e antimônio na etapa de recuperação de ouro, a fim de conciliar alto rendimento de extração do metal com redução na concentração destes elementos tóxicos na solução lixiviante.
- Avaliar a influência do tempo de reação e a reinoculação no processo de bio-oxidação deste concentrado.
- Estudar o consumo de ácido em sistemas de escala semi-piloto.
- Estudar a interação galvânica combinada de pirita, arsenopirita e estibinita.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE JR, C. R. F.; DUTRA, A. J. B.; MONTE, M. B. DE M. Estudo eletroquímico da interação galvânica entre pirita e arsenopirita. **Tecnologia em Metalurgia e Materiais**, v. 2, n. 4, p. 30–33, 2006.

ALMEIDA, C. M. **Estudo eletroquímico das interações entre sulfetos de ferro**, 1999. 193f. Tese (Doutorado em Ciências) Instituto de Química - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

BECKER, T.; GORHAM, N.; SHIERS, D. W.; WATLING, H. R. In situ imaging of *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* on pyrite under conditions of variable pH using tapping mode atomic force microscopy. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 4, p. 966–976, 2011.

BEVILAQUA, D.; LEITE, A. L. L. C.; GARCIA, O.; TUOVINEN, O. H. Oxidation of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 4, p. 587–592, 2002.

BRIERLEY, J. A.; BRIERLEY, C. L. Present and future commercial applications of biohydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 59, n. 2-3, p. 233–239, 2001.

BROOY, S. R. LA; LINGE, H. G.; WALKER, G. S. Review of gold extraction from ores. **Minerals Engineering**, v. 7, n. 10, p. 1213–1241, 1994.

BULAEV, A. G.; PIVOVAROVA, T. A.; KUZNETSOV, B. B.; KOLGANOVA, T. V.; KONDRAT'ÉVA, T. F. Rates of sulfide mineral oxidation by acidophilic chemolithotrophic microbial communities from various sources. **Microbiology**, v. 81, n. 4, p. 397–404, 2012.

BULAEV, A. G.; PIVOVAROVA, T. A.; MELAMUD, V. S.; TSAPLINA, I.A; ZHURAVLEVA, A.E; KONDRAT'ÉVA, T.F. Polymorphism of *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* strains dominating in processes of high-temperature oxidation of gold-arsenic concentrate. **Microbiology**, v. 80, n. 3, p. 326–334, 2011.

CASSITY, W. D.; PESIC, B. Interactions of *Thiobacillus ferrooxidans* with arsenite, arsenate and arsenopyrite William. In: R. Amils; A. Ballester (Eds.); **Biohydrometallurgy and the Environment toward the Mining of the 21st Century, Part I**. v. 9, p.521–532, 1999. Amsterdam: Elsevier.

CIFTCI, H.; AKCIL, A. Effect of biooxidation conditions on cyanide consumption and gold recovery from a refractory gold concentrate. **Hydrometallurgy**, v. 104, n. 2, p. 142–149, 2010.

CIMINELLI, V. S. T.; GOMES, Á. D. Princípios da cianetação. **Extração de ouro: princípios, tecnologia e meio ambiente**, v.1, n. iii, p. 51–86, 2002.

CLARK, D. A.; NORRIS, P. R. Oxidation of mineral sulphides by thermophilic microorganisms. **Minerals Engineering**, v. 9, n. 11, p. 1119–1125, 1996.

CRUNDWELL, F. K.; HOLMES, P.; FOWLER, T. How do bacteria interact with minerals? **Hydrometallurgy**, v. 71, n. 1-2, p. 75–81, 2003.

DOMIC, E. M. **Hidrometalurgia: Fundamentos, Procesos y Aplicaciones**. Santiago: Andros Impresores Ltda, 2001.

DUTRIZAC, J. E.; JAMBOR, J. L. The synthesis of crystalline scorodite,  $\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . **Hydrometallurgy**, v. 19, p. 377–384, 1988.

FANTAUZZI, M.; LICHERI, C.; ATZEI, D.; LOI, G.; ELSENER, B.; ROSSI, A. Arsenopyrite and pyrite bioleaching: Evidence from XPS, XRD and ICP techniques. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 401, p. 2237–2248, 2011.

FRANCISCO JR., W. E.; BEVILAQUA, D.; GARCIA JR, O. Estudo da dissolução oxidativa microbiológica de uma complexa amostra mineral contendo pirita ( $\text{FeS}_2$ ), pirrotita ( $\text{Fe}_{1-x}\text{S}$ ) e molibdenita ( $\text{MoS}_2$ ). **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1095–1099, 2007.

GARCIA JR, O. **Estudos da biolixiviação de minérios de urânio por *Thiobacillus ferrooxidans***, 1989. 261f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.

GRANATO, M. Metalurgia extrativa do ouro. **Tecnologia Mineral**, v. 37, 1986.

GRIGOR'EVA, N. V.; TSAPLINA, I. A.; PANYUSHKINA, A. E.; KONDRAT'EVA, T. F. Optimization of bioleaching and oxidation of gold-bearing pyrite-arsenopyrite ore concentrate in batch mode. **Microbiology**, v. 83, n. 5, p. 550–557, 2014.

HAGHSHENAS, D. F.; ALAMDARI, E. K.; TORKMAHALLEH, M. A.; BONAKDARPOUR, B.; NASERNEJAD, B. Adaptation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* to high grade sphalerite concentrate. **Minerals Engineering**, v. 22, n. 15, p. 1299–1306, 2009.

HE, Z.; YIN, Z.; WANG, X.; ZHONG, H.; SUN, W. Microbial community changes during the process of pyrite bioleaching. **Hydrometallurgy**, v. 125-126, n. 3, p. 81–89, 2012.

HENAO, D. M. O.; GODOY, M. A. M. Jarosite pseudomorph formation from arsenopyrite oxidation using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 104, n. 2, p. 162–168, 2010.

JONES, R. A.; KOVAL, S. F.; NESBITT, H. W. Surface alteration of arsenopyrite ( $\text{FeAsS}$ ) by *Thiobacillus ferrooxidans*. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 67, n. 5, p. 955–965, 2003.

KAKSONEN, A. H.; MUDUNURU, B. M.; HACKL, R. The role of microorganisms in gold processing and recovery—A review. **Hydrometallurgy**, v. 142, p. 70–83, 2014.

KARAVAİKO, G. I.; DUBININA, G. A.; KONDRAT'EVA, T. F. Lithotrophic microorganisms of the oxidative cycles of sulfur and iron. **Microbiology**, v. 75, n. 5, p. 512–545, 2006.

KOMNITSAS, C.; POOLEY, F. . Bacterial oxidation of an arsenical gold sulphide concentrate from olympias, Greece. **Minerals Engineering**, v. 3, n. 3/4, p. 295–306, 1990.

KUBISZ, J. Studies on synthetic alkali-hydronium jarosites: I. Synthesis of jarosite and natrojarosite. **Mineralogia Polonica**, v. 1, p. 47–57, 1970.

LUPTAKOVA, A.; MACINGOVA, E.; UBALDINI, S.; FORNARI, P.; ABBRUZZESE, C. Bioleaching of antimony minerals by bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Desulfovibrio desulfuricans*. **Environmental Chemistry & Tecnology**, v. 102, p. 409–411, 2008.

LYALIKOVA, N. N.; SHLAYN, L. B.; UNANOVA, O. G.; ANSINOVA, L. S. On the transformation products of compound antimony and lead sulphides under the action of the bacteria. **Izvestiya Akademii Nauk sssr Seriya Biologicheskaya**, v. 1, n. 4, p. 564–567, 1972.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M. **Microbiologia de Brock**. 10th ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004.

MÁRQUEZ, M. A.; OSPINA, J. D.; MORALES, A. L. New insights about the bacterial oxidation of arsenopyrite: A mineralogical scope. **Minerals Engineering**, v. 39, p. 248–254, 2012.

MÁRQUEZ, M.; GASPAR, J.; BESSLER, K. E.; MAGELA, G. Process mineralogy of bacterial oxidized gold ore in São Bento Mine (Brasil). **Hydrometallurgy**, v. 83, n. 1-4, p. 114–123, 2006.

MUÑOZ, J. A.; BALLESTER, A.; GONZÁLEZ, F.; BLÁZQUEZ, M. L. A study of the bioleaching of a Spanish uranium ore. Part II: Orbital shaker experiments. **Hydrometallurgy**, v. 38, n. 1, p. 59–78, 1995.

NAZARI, B.; JORJANI, E.; HANI, H.; MANAFI, Z.; RIAHI, A. Formation of jarosite and its effect on important ions for *Acidithiobacillus ferrooxidans* bacteria. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, v. 24, p. 1152–1160, 2014.

NORRIS, P. R.; CLARK, D. A.; OWEN, J. P.; WATERHOUSE, S. Characteristics of *Sulfobacillus acidophilus* sp. nov. and other moderately thermophilic mineral-sulphide-oxidizing bacteria. **Microbiology**, v. 142, p. 775–783, 2016.

OLIVEIRA, D. M. **Potencialidade do tensoativo biológico (Rhamnolipídio) comercial na biolixiviação**, 2009. 94f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

OLIVEIRA, D. M.; SÉRVULO, E. F. C.; SOBRAL, L. G. S.; PEIXOTO, G. H. C. **Biolixiviação: Utilização de Micro-organismos na Extração de Metais**. Rio de Janeiro: CETEM, 2010.

OLIVEIRA, S. M. B.; BLOT, A.; LIGUORIIMBERNON, R. A.; MAGAT, P. Jarosita e plumbojarosita nos gossans do distrito mineiro de Canoas (PR). **Revista Brasileira de Geociências**, v. 26, n. 1, p. 3–12, 1996.

PINA, P. S. **Estudo da biolixiviação e da lixiviação química de um concentrado sulfetado de zinco**, 2006. 83f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2006.

PINA, P. S.; OLIVEIRA, V. A.; CRUZ, F. L. S.; LEÃO, V. A. Kinetics of ferrous iron oxidation by *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 51, n. 3, p. 194–197, 2010.

RAWLINGS, D. E. (ED.). **Biomining: Theory, Microbes and Industrial Processes**. Rondebosch: Springer, 1997.

REITH, F.; ZAMMIT, C. M.; ROGERS, S. L.; MCPHAIL, D. C.; BRUGGER, J. Potential utilisation of micro-organisms in gold processing: a review. **Mineral Processing and Extractive Metallurgy**, v. 121, n. 4, p. 251–260, 2012.

RIVADENEIRA, J. Challenges in practicing the bioleaching process. In: L. G. S. SOBRAL; D. M. OLIVEIRA; C. E. G. SOUZA (Eds.); **Biohydrometallurgical process: a practical approach**. p.3–23, 2010. Rio de Janeiro: CETEM/MCT.

RODRIGUES, M. L. M.; LEÃO, V. A.; GOMES, O.; LAMBERT, F.; BASTIN, D.; GAYDARDZHIEV, S. Copper extraction from coarsely ground printed circuit boards using moderate thermophilic bacteria in a rotating-drum reactor. **Waste Management**, v. 41, p. 148–158, 2015.

RODRÍGUEZ, Y. New information on the sphalerite bioleaching mechanism at low and high temperature. **Hydrometallurgy**, v. 71, n. 1-2, p. 57–66, 2003.

ROHWERDER, T.; GEHRKE, T.; KINZLER, K.; SAND, W. Bioleaching review part A: **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 63, p. 239–248, 2003.

SAND, W.; GEHRKE, T. Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron(III) ions and acidophilic bacteria. **Research in Microbiology**, v. 157, p. 49–56, 2006.

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

SAND, W.; GERKE, T.; HALLMANN, R.; SCHIPPERS, A. Sulfur chemistry, biofilm, and the (in)direct attack - A critical evaluation of bacterial leaching. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 43, p. 961–966, 1995.

SCHIPPERS, A.; SAND, W. Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 1, p. 319–321, 1999.

SCOTT, K. M. Solid solution in, and classification of, gossan-derived members of the alunite-jarosite family, northwest Queensland, Australia. **American Mineralogist**, v. 72, p. 178–187, 1987.

SICUPIRA, L. C. **Biolixiviação de Sulfetos Secundários de Cobre por *Sulfobacillus thermosulfidooxidans***, 2011. 98f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

TORMA, A. E.; GABRA, G. G. Oxidation of stibnite by *Thiobacillus ferrooxidans*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 43, p. 1–6, 1977.

TRINDADE, R. B. E.; BARBOSA, O. **Extração de ouro: princípios, tecnologia e meio ambiente**. Rio de Janeiro: CETEM, 2002.

TSAPLINA, I. A.; SOROKIN, V. V.; ZHURAVLEVA, A. E.; MELAMUD, V.A.; BOGDANOVA, T.I.; KONDRAT' EVA, T.F. Oxidation of gold-antimony ores by a thermoacidophilic microbial consortium. **Microbiology**, v. 82, n. 6, p. 680–689, 2013.

UBALDINI, S.; VEGLIÓ, F.; TORO, L.; ABBRUZZESE, C. Biooxidation of arsenopyrite to improve gold cyanidation: study of some parameters and comparison with grinding. **International Journal of Mineral Processing**, v. 52, n. 1, p. 65–80, 1997.

URBANO, V. U.; GUERRERO, J.; SÁEZ, M. Biohidrometalurgia en la recuperación de valores metálicos. **Industrial Data**, v. 4, n. 2, p. 7–10, 2001.

VIERA, M.; POGLIANI, C.; DONATI, E. Recovery Of zinc, nickel, cobalt And other metals by bioleaching. In: E. R. Donati; W. Sand (Eds.); **Microbial Processing of Metal Sulfides**. p.103–119, 2007. Dordrecht: Springer.

VILCÁEZ, J.; SUTO, K.; INOUE, C. Bioleaching of chalcopyrite with thermophiles: Temperature–pH–ORP dependence. **International Journal of Mineral Processing**, v. 88, n. 1-2, p. 37–44, 2008.

WATLING, H. R.; PERROT, F. A.; SHIERS, D. W. Comparison of selected characteristics of *Sulfobacillus* species and review of their occurrence in acidic and bioleaching environments. **Hydrometallurgy**, v. 93, n. 1-2, p. 57–65, 2008.

ZHANG, L.; QIU, G. Z.; HU, Y. H.; SUN, X. J; LI, J. H; GU, G. H. Bioleaching of pyrite by *At. ferrooxidans* and *L. ferriphilum*. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China (English Edition)**, v. 18, n. 6, p. 1415–1420, 2008. The Nonferrous Metals Society of China. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1003-6326\(09\)60018-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1003-6326(09)60018-2)>.

YAMANE, L. R., ESPINOSA, D.C.R., TENÓRIO, J.A.S. Biolixiviação de cobre de sucata eletrônica. **REM: Revista Escola de Minas**, Ouro Preto, v. 64, n.3, p. 327-333, jul.-set, 2011.

YAMANE, L. R., ESPINOSA, D.C.R., TENÓRIO, J.A.S. Lixiviação bacteriana de sucata eletrônica: influência dos parâmetros de processo. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 50-56, jan.-mar. 2013

ZHANG, Y. S; QIN,W.Q.; WANG, J.; ZHEN, S.J.; YANG, J.W.; NAI, S.S e QIU, G.Z. Bioleaching of chalcopyrite by pure and mixed culture. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, v.18, n.6, p. 1491-1496, 2008.