



Universidade Federal de Ouro Preto
Programa de Pós-Graduação Engenharia Ambiental
Mestrado em Engenharia Ambiental

Liliane Coelho de Carvalho

"Bio-oxidação de um concentrado refratário de ouro por
Acidithiobacillus ferrooxidans"

Ouro Preto, MG
Novembro – 2016

Liliane Coelho de Carvalho

"Bio-oxidação de um concentrado refratário de ouro por
Acidithiobacillus ferrooxidans"

Área de Concentração: Tecnologias Ambientais.

Orientador: Prof. DSc. Versiane Albis Leão

Ouro Preto, MG

Novembro– 2016

C3311 Carvalho, Liliane Coelho de .
Bio-oxidação de um concentrado refratário de ouro por *Acidithiobacillus ferrooxidans* [manuscrito] / Liliane Coelho de Carvalho. - 2016.
77f.: il.: color; graf.; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Versiane Albis Leão.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Universidade Federal de Ouro Preto. Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental.
Área de Concentração: Tecnologias Ambientais.

1. Bio-oxidação. 2. *Acidithiobacillus ferrooxidans*. 3. rejeito sulfetado. 4. sulfetos de antimônio. I. Albis Leão, Versiane. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: 574.2 (047.3)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Ouro Preto
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental – PROAMB



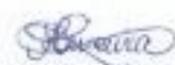
Bio-oxidação de um concentrado refratário de ouro por Acidithiobacillus ferrooxidans

Autora: Liliane Coelho de Carvalho

Dissertação defendida e aprovada, em 9 de novembro de 2016, pela banca examinadora constituída pelos professores:


Prof. Dr. Versiane Albis Leão - Orientador
Universidade Federal de Ouro Preto


Prof. Dr. Leonardo de Paiva Barbosa
Instituto Federal de Minas Gerais


Professora Dra. Mônica Cristina Teixeira
Universidade Federal de Ouro Preto

AGRADECIMENTOS

A Deus e minha família, sobretudo os meus pais, Francisca e José Paulo, pelo amor incondicional e confiança sempre depositada. A minha irmã Paula e meu sobrinho Itallo pelo carinho e companheirismo.

Ao Prof. Dr. Versiane Albis Leão pela orientação e confiança.

A minha amiga Suzimara que esteve presente em cada parte dessa dissertação. Eu tenho certeza que a conclusão desse trabalho não seria possível sem a sua imensa colaboração intelectual, sobretudo a sua amizade diária.

As amigas que o mestrado me deu que levarei para toda vida Brittany Meighan, Letícia Matos, Marina Bahia e Sheila Drumond.

Aos companheiros do laboratório de Bio&Hidrometalurgia em especial ao Flávio Luiz pelas valiosas contribuições para a realização dos ensaios e acima de tudo pela amizade e companheirismo. A Damaris Guimarães, Renata Pires, Andréia Resende, Giselle Cândido, Lucas Sanches, Felipe Avelino, Romeu Giardini, Ludmila Fagundes, Lucas Melgaço, Flávio Luciano, Angélica Martins, Flávia Donária, Isabel Cristina, Natália Barbosa, Guilherme Patto, Nayara Quites, Michael Rodrigues e Sérgio Chaves pelas dicas fabulosas, disponibilidade e paciência e, é claro, pelos momentos de descontração.

Ao Prof^o Victor de Alvarenga e aos seus alunos Tasso Machado e Matheus Simplício pela colaboração nas análises de DRX.

A todos do laboratório de Caracterização de Areias, em especial ao Ricardo Figueiredo e Leandro Carneiro pela amizade e colaboração.

A todos do laboratório NanoLab, em especial ao Ney Sampaio pela colaboração nas análises de MEV/EDS.

A todos do laboratório Geoquímica Ambiental, em especial ao técnico Celso pela colaboração nas análises de digestão de amostra e pela forma generosa com que transmitiu seu conhecimento.

A todos do laboratório de Processamento mineral, em especial ao técnico Luiz pela colaboração no peneiramento e quarteamento das amostras.

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

À Fundação Gorceix pela concessão da bolsa de mestrado.

A todos os amigos, velhos ou novos, de perto ou de longe, do passado ou do presente, muito obrigada.

RESUMO

O ouro pode ser encontrado encapsulado na matriz de sulfetos tais como pirita e arsenopirita. Isso faz com que o processo de cianetação apresente baixo rendimento, uma vez que o íon cianeto não consegue penetrar na estrutura maciça dos sulfetos. Dessa forma, é necessário oxidar os tais sulfetos antes da extração do metal pelo cianeto. Dentre as alternativas para o tratamento 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. Na presente dissertação, a bio-oxidação por *Acidithiobacillus ferrooxidans* foi aplicada inicialmente a um concentrado de flotação contendo sulfetos (10,58% Fe; 11,85% S; 1,88 % As e 3,16% Sb). Em seguida, foi conduzida a bio-oxidação do rejeito de flotação produzido a partir do mesmo minério que gerou o concentrado. Como o teor de ouro no rejeito é baixo (0,64g/t) a bio-oxidação é uma das tecnologias economicamente mais adequadas para reduzir tal refratariedade. Foram avaliados os efeitos da concentração inicial de 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 (m/v: 1,50%; 5,75% e 10,00%) na bio-oxidação do concentrado, medida a partir da dissolução do arsênio. Inicialmente, os ensaios de bio-oxidação foram realizados em *shaker* termostaticado, a 32°C e 150min⁻¹. O processo de bio-oxidação mediado por *At. ferrooxidans* foi mais eficiente quando comparada à lixiviação química pelo oxigênio em solução. Foi constatado que no ensaio que avaliou a influência da concentração inicial de Fe^{2+} , o uso de 2,5g/L de Fe^{2+} promoveu um aumento de oito vezes na extração de arsênio em relação à condição sem a adição externa de ferro. Diante destes resultados, foi possível inferir que a suplementação de Fe^{2+} , na forma de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, se faz necessária para a eficiente da oxidação da amostra. No estudo da influência do pH, a maior solubilização de arsênio foi constatada em pH 1,75. A redução nos valores de extração com o aumento da concentração de sólidos parece estar relacionada à necessidade de um tempo maior de reação, uma vez que não foram evidenciados prejuízos ao crescimento microbiano. Foram também realizadas análises do produto da bio-oxidação pelas técnicas de DRX e MEV/EDS de maneira a complementar o entendimento dos fenômenos relativos à oxidação do concentrado. Verificou-se que a estibinita é pouco susceptível a bio-oxidação, uma vez que a sua morfologia apresentou similaridade com cristais do mineral original, enquanto os grãos de pirita foram atacados. Após a determinação dos valores ótimos das variáveis estudadas, foram conduzidos ensaios em sistema de garrafas de 10L e os produtos sólidos dos ensaios com o concentrado e o rejeito de flotação foram cianetados. Os testes de cianetação foram também realizados com as amostras sem pre-tratamento e apenas 20% do ouro foram recuperados, confirmando a refratariedade das amostras em estudo. A bio-oxidação demonstrou ser eficiente, uma vez que os produtos sólidos da etapa de bio-oxidação atingiram 84% e 85% de extração de ouro no caso do rejeito e do concentrado de flotação, respectivamente. Estes resultados confirmaram o efeito catalítico dos micro-organismos na oxidação dos sulfetos em relação à lixiviação química. Além disso, verifica-se a relevância do estudo do ponto de vista ambiental ao possibilitar o desenvolvimento de uma alternativa para a recuperação contida nesse rejeitos.

Palavras-chave: Bio-oxidação; *Acidithiobacillus ferrooxidans*; rejeitos sulfetado; arsênio; antimônio; sulfetos de antimônio.

ABSTRACT

Gold particles can be found encapsulated in sulphides such as pyrite and arsenopyrite, a phenomenon known as refractoriness. This results in low metal recoveries during the cyanidation step because cyanide ions cannot penetrate the massive solid structure. Refractoriness is usually overcome by oxidizing the gold-bearing sulphides so that a new porous phase is formed and thus the cyanide ion can reach the gold particles during the subsequent cyanidation step. Bio-oxidation is one of the alternatives for the treatment of refractory gold ores and it is characterized by the use of micro-organisms capable of oxidising sulphide minerals. In the current work, the bio-oxidation with *Acidithiobacillus ferrooxidans* was firstly applied to a sulphide concentrate (10.58% Fe; 11.85% S; 1.88 % As e 3.16% Sb). After setting the optimal values for the bio-oxidation of the concentrate, the bioleaching of tailings produced in the same flotation process was carried out utilizing such values. As the gold content in the tailings was low bio-oxidation is one of the most potential technologies for a cost-effective cyanidation of this material. The effects of initial Fe^{2+} concentration: 0.0g/L; 2.5g/L, 5.0g/L and 10.0g/L; pH (1.50, 1.75 and 2.00) and pulp density (m/v): 1.5%; 5.75% and 10.0% in the bio-oxidation of the concentrate were determined. The tests were performed in a temperature-controlled shaker, at 32°C and 150min⁻¹. This bacterially-mediated process was more efficient than chemical leaching of the concentrate by dissolved oxygen. Fe^{2+} supplementation was required to increase sample oxidation as 2.5g/L of Fe^{2+} (added as $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) promoted an eight-fold increase in arsenic extraction as compared with the experiment without external ferrous ion. When the effect of pH was assessed the value of 1.75 resulted in the best outcome. The lower extraction observed for increased pulp density seemed to be related to the need for longer experiments because no detrimental effects on microbial growth were detected. In addition, analysis of the bio-oxidation products by XRD and SEM/EDS were also performed aiming at understanding further the phenomena related to the bio-oxidation of the concentrate. They revealed that antimony sulphide grains were not affected during bioleaching because their forms were very similar to that of the original mineral, whereas pyrite was heavily attacked. After defining the optimal values for the parameters, bio-oxidation experiments were carried out in 10-litre bottles with samples of both the concentrate and the flotation tailings. Then bio-oxidized solid product was subjected to cyanidation, also carried out with the as-received samples. Only 20% of the gold present in either the concentrate or the tailings were recovered confirming the refractoriness of the samples under study. The bio-oxidation – cyanidation route was more efficient as gold recovery attained 84% and 85% with the flotation tailings and the concentrate, respectively. The current investigation confirmed the catalytic effect of micro-organisms on sulphide oxidation. The environmental relevance is also worth citing because of the development of an alternative for gold recovering from mining tailings.

Key-words: bio-oxidation; *Acidithiobacillus ferrooxidans*; flotation tailings; arsenic; antimony; sulphides.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 6.1 - Difratoograma de Raios-X (DRX) da amostra inicial do concentrado a ser utilizada nos ensaios de bio-oxidação. Símbolos: M: muscovita; C: clorita; Q: quartzo; P: pirita; A: arsenopirita; E: estibinita; G: gudmundita. 33
- Figura 6.2. Imagens da amostra inicial do concentrado utilizada nos experimentos de bio-oxidação obtidas em MEV-EDS (A) e (B): (1) arsenopirita, (2) pirita, (3) gudmundita, (4) estibinita e (5) quartzo. 34
- Figura 6.3. Difratoograma de Raios-X (DRX) da amostra inicial do rejeito a ser utilizada nos ensaios de bio-oxidação. Símbolos: M, muscovita; C, clorita; Q, quartzo; P, pirita; A, arsenopirita; E estibinita; G gudmundita. 35
- Figura 6.4. Imagens da amostra inicial do rejeito utilizada nos experimentos de bio-oxidação obtidas em MEV-EDS (A) e (B): (1) quartzo, (2) silicato, (3) pirita, (4) silicato, (5) arsenopirita e (6) gudmundita. 36
- Figura 6.5. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v) em condições de pH 1,8, 32°C e em diferentes concentrações de Fe^{2+} , nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – Controle (linha tracejada). 39
- Figura 6.6. Perfil do crescimento bacteriana (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v) em condições de pH 1,8, 32°C e em diferentes concentrações de Fe^{2+} 40
- Figura 6.7. Variação da extração de As (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), pH 1,8, 32°C e em diferentes concentrações de Fe^{2+} , nos ensaios inoculado (linha cheia) e não inoculado – Controle (linha tracejada). 41
- Figura 6.8. Variação da concentração de Fe_{total} (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), pH 1,8, 32°C e em diferentes concentrações de Fe^{2+} , nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – Controle (linha tracejada). 42
- Figura 6.9. Variação da extração de Sb (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), pH 1,8, 32°C e em diferentes concentrações de Fe^{2+} , nos ensaios inoculado (a) e não inoculado – Controle (b). 44
- Figura 6.10. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v) em condições com adição de 2,5 g/L de Fe^{2+} , 32°C e em diferentes valores de pH (1,5; 1,75 e 2,0), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – Controle (linha tracejada). 46
- Figura 6.11. Perfil do crescimento bacteriana (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v) em condições de adição de 2,5g/L Fe^{2+} , 32°C e diferentes valores de pH. 47

Figura 6.12. Variação da extração de As (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), em condições com adição de 2,5 g/L de Fe^{2+} , 32°C e em diferentes valores de pH (1,5; 1,75 e 2,0), nos ensaios inoculado (linha cheia) e não inoculado – Controle (linha tracejada). 48

Figura 6.13. Variação da concentração de Fe_{total} (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), com adição de 2,5 g/L de Fe^{2+} e em diferentes valores de pH (1,5; 1,75 e 2,0), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – Controle (linha tracejada). 49

Figura 6.14. Variação da extração de Sb (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), adição de 2,5g/L de Fe^{2+} , 32°C e diferentes valores de pH (1,5; 1,75 e 2,0) pH 1,8, 32°C e em diferentes concentrações de Fe^{2+} , nos ensaios inoculado (a) e não inoculado – Controle (b). 50

Figura 6.15. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: em condições de pH 1,8, 32°C, adição de 2,5g/L de Fe^{2+} e em diferentes percentuais de sólido (1,5%; 5,75% e 10,0%), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – Controle (linha tracejada). 53

Figura 6.16. Perfil do crescimento bacteriana (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: em condições de pH 1,8, 32°C, adição de 2,5g/L de Fe^{2+} e em diferentes percentuais de sólido (1,5%; 5,75% e 10,0%). 54

Figura 6.17. Variação da extração de As (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), pH 1,8, 32°C, adição de 2,5,0 g/L de Fe^{2+} e em diferentes percentuais de sólido (1,5%; 5,75% e 10,0%), nos ensaios inoculado (linha cheia) e não inoculado – Controle (linha tracejada). 56

Figura 6.18. Variação da concentração de Fe_{total} (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, adição de 2,5g/L de Fe^{2+} e em diferentes percentuais de sólido (1,50%; 5,75% e 10,00%), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – Controle (linha tracejada). 57

Figura 6.19. Variação da concentração de Fe_{total} (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, adição de 2,5g/L de Fe^{2+} e em diferentes percentuais de sólido (1,50%; 5,75% e 10,00%), nos ensaios inoculados (a) e não inoculados – Controle (b). 58

Figura 6.20. Difração de raios - X a) produto da bio-oxidação sem adição de Fe^{2+} ; b) produto da bio-oxidação com 2,5g/L de Fe^{2+} ; c) produto da bio-oxidação com 5,0g/L de Fe^{2+} ; d) produto da bio-oxidação com 10,0g/L de Fe^{2+} ; produto da bio-oxidação controle (não-inoculado) na presença de 2,5g/L de Fe^{2+} . A: arsenopirita; C: clorita; E: estibinita; G: gudmundita; J: jarosita; M: muscovita; P: pirita; Q: quartzo. 62

Figura 6.21. Difração de raios - X a) resíduo da bio-oxidação com pH 1,5; b) resíduo da bio-oxidação com pH 1,75; c) resíduo da bio-oxidação com pH 2,0; d) resíduo da bio-

oxidação controle abiótico com pH 1,75. A: arsenopirita; C: clorita; E:estibinita; G, gudmundita; M: muscovita; P:pirita; Q: quartzo;..... 64

Figura 6.22. Difração de Raios – X. a) resíduo da bio-oxidação com percentual de 1,5% (m/v); b) resíduo da bio-oxidação com percentual de 5,75% (m/v) (m/v); c) resíduo da bio-oxidação com percentual de 10,0% (m/v); d) resíduo da bio-oxidação controle abiótico com percentual de 1,5% (m/v). A:arsenopirita; C: clorita; E: estibinita; G: gudmundita; M: muscovita; P:pirita; Q: quartzo..... 65

Figura 6.23. Microscopia eletrônica de varredura (MEV). a) produto da bio-oxidação sem micro-organismos e utilizando-se 10g/L de Fe(II); b); produto da bio-oxidação com micro-organismos, utilizando-se 2,5g/L de Fe(II) c) produto da bio-oxidação com micro-organismos utilizando-se 5g/L de Fe(II); d) produto da lixiviação com micro-organismos utilizando-se 10g/L de Fe(II). 68

Figura 6.24 Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. a) produto da lixiviação sem micro-organismos em pH 1,75 evidenciando um grão de pirita; b); produto da lixiviação sem micro-organismos em pH 1,75 evidenciando um grão de estibinita; c) produto da bio-oxidação em pH 1,75 evidenciando grão de pirita e gudmundita;..... 70

Figura 6.25. Imagens de mapas de distribuição dos elementos na superfície do produto da bio-oxidação obtidas por microscopia eletrônica de varredura. 71

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 5.1. Composição do meio de cultura utilizado para manutenção da bactéria <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> | 29 |
| Tabela 6.1. Avaliação semi quantitativa da amostra do concentrado por EDS (em%-massa). | 34 |
| Tabela 6.2. Avaliação semi-quantitativa da amostra do rejeito por EDS (em%-massa). | 36 |
| Tabela 6.3. Análise química semi-quantitativa dos produtos da bio-oxidação por EDS (em%-massa) | 69 |
| Tabela 6.4. Análise química semi-quantitativa dos produtos da bio-oxidação por EDS (em%-massa) | 70 |
| Tabela 6.5. Recuperação de ouro por cianetação direta e do produto da bio-oxidação. 73 | |
| Tabela 6.6. Valores finais de extração de arsênio e concentração de ferro..... | 73 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 13 |
| 2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA | 15 |
| 3. OBJETIVOS | 16 |
| 3.1. Objetivo geral | 16 |
| 3.2. Objetivos específicos | 16 |
| 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 17 |
| 4.1. Biomineração | 17 |
| 4.2. Micro-organismo estudado – <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> | 19 |
| 4.3. Fatores que afetam a bio-oxidação de sulfetos minerais | 22 |
| 5. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 28 |
| 5.1. Caracterização das amostras | 28 |
| 5.2. Micro-organismo | 29 |
| 5.3. Ensaio de bio-oxidação do concentrado em agitador orbital (<i>shaker</i>) | 30 |
| 5.4. Caracterização dos produtos de bio-oxidação..... | 31 |
| 5.5. Ensaio de bio-oxidação do concentrado e rejeito em sistema de garrafas agitadas | 31 |
| 5.6. Ensaio de cianetação | 32 |
| 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 33 |
| 6.1. Caracterização da amostra inicial | 33 |
| 6.1.1. Concentrado sulfetado da flotação | 33 |
| 6.1.2. Rejeito da flotação | 35 |
| 6.2. Ensaio de bio-oxidação do concentrado em agitador orbital (<i>shaker</i>) | 37 |
| 6.2.1. Influência da concentração inicial de Fe^{2+} | 37 |
| 6.2.2. Influência do pH | 46 |
| 6.2.3. Influência do percentual de sólidos | 52 |
| 6.3. Caracterização dos resíduos obtidos nos ensaios de bio-oxidação | 60 |
| 6.3.1. Difração de raio-X..... | 60 |
| 6.3.2. Microscopia Eletrônica de Varredura/EDS | 66 |
| 6.4. Extração do ouro | 71 |
| 7. CONCLUSÕES | 74 |
| 8. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS | 76 |
| 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 77 |

1. INTRODUÇÃO

Os processos bio-hidrometalúrgicos são uma alternativa econômica para produção de metais, especialmente a partir de minérios sulfetados de baixo teor e rejeitos provenientes de atividades mínero-metalúrgicas, pois exigem investimento de capital moderado e possuem baixo custo operacional (BRIERLEY e BRIERLEY, 1999; ROHWERDER et al., 2003; SYED, 2012). Podem também ser aplicados a minérios e concentrados refratários de ouro, competindo com outras tecnologias como a ustulação e a oxidação sob pressão (WATLING, 2006). Além disso, as técnicas bio-hidrometalúrgicas apresentam menor impacto ambiental, quando comparadas aos processos convencionais (pirometalúrgicos) de produção de metais a partir de sulfetos (GHAHN et al., 2012).

Segundo Ciminelli (2007), os minérios de ouro são considerados refratários quando apresentam uma dissolução do metal inferior a 80% em condições convencionais de cianetação. Esse inconveniente ocorre, principalmente, pela presença do metal em uma matriz impermeável de sulfetos, tais como, pirita, calcopirita, arsenopirita, pirrotita e esfalerita (GRANATO, 1986). Dessa forma, é necessário oxidar os sulfetos portadores de ouro antes da extração do metal pelo cianeto (CIMINELLI, 2007), ou seja, um pré-tratamento oxidativo é necessário para expor as partículas do metal precioso na etapa subsequente de cianetação (BADRI e ZAMANKHAN, 2013).

De um modo geral, os micro-organismos envolvidos nos processos bio-hidrometalúrgicos possuem a capacidade de sobreviver em ambientes adversos caracterizados por altas temperaturas, baixos valores de pH e elevadas concentrações de íons metálicos. Devido às similaridades fisiológicas e ambientais, esses micro-organismos são encontrados nos ambientes naturais onde há a oxidação de sulfetos minerais, coexistindo simultaneamente e cooperando neste processo, uma vez que utilizam compostos reduzidos de enxofre e Fe^{2+} como fontes de elétrons e energia (WATLING et al., 2012; BEVILAQUA et al., 2014). Entretanto, embora haja a participação de vários micro-organismos na dissolução dos sulfetos metálicos, a espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans* é considerada a mais importante e por tanto é a mais utilizada nos estudos de biomineração de sulfetos (BEVILAQUA et al., 2002).

Em processos de biomineração, a otimização de variáveis é necessária para aumentar oxidação biológica dos sulfetos e a recuperação de metais (TSAPLINA et al., 2012). Neste

contexto, os valores de pH e a temperatura, além do tipo de substrato para o crescimento microbiano têm influência importante na eficiência da lixiviação/oxidação biológica de compostos minerais. Além disso, a interferência de elementos tóxicos como o arsênio ao longo do processo podem ser responsáveis pela diminuição da atividade bacteriana (BORBA et al., 2004; MÁRQUEZ et al., 2012; OSPINA et al., 2012).

A presente dissertação tem como objetivo investigar a bio-oxidação de um concentrado e rejeito de flotação (com baixo teor de enxofre) por micro-organismos mesófilos, a fim de avaliar a influência da concentração inicial de Fe^{2+} , do pH e da densidade de polpa no crescimento microbiano e na dissolução do sulfeto. Visa também determinar a recuperação do ouro obtido durante a otimização das variáveis estudadas nos ensaios de bio-oxidação com o concentrado. Em seguida, será conduzida a bio-oxidação do rejeito de flotação utilizando os valores ótimos de concentração de Fe^{2+} , pH e densidade de polpa.

2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

É comum encontrar minérios de ouro onde o metal encontra-se encapsulado em minerais sulfetados, tais como pirita e arsenopirita, particularmente no estado de Minas Gerais (BORBA et al., 2004; MÁRQUEZ et al., 2006; SEIFELNASSR; ABOUZEID, 2013). Isso faz com que o processo de cianetação apresente baixo rendimento, uma vez que o íon cianeto não consegue penetrar na estrutura maciça dos sulfetos. Dessa forma, é necessário oxidar os sulfetos portadores de ouro antes da extração do metal pelo cianeto (CIMINELLI, 2007), ou seja, um pré-tratamento oxidativo é necessário para diminuir as propriedades refratárias do minério. Este pre-tratamento consiste na conversão dos sulfetos, em uma fase porosa, tornando o ouro acessível ao agente lixiviante (OFORI-SARPONG et al., 2013; FOMCHENKO e MURAVYOV, 2014; KAKSONEN e PERROT; et al., 2014). Entre as alternativas para a oxidação de minérios refratários de ouro, estão os processos bio-hidrometalúrgicos (RAWLINGS, 2002).

A bio-oxidação de minérios refratários de ouro é ambientalmente mais amigável do que os processos pirometalúrgicos, pois não há geração de dióxido de enxofre (GHAHN et al., 2012; BEVILAQUA et al., 2014). A bio-oxidação também permite o tratamento de fontes de baixo teor e rejeitos contendo minerais sulfetados, o que contribui para a redução de passivos ambientais, associados às atividades minero-metalúrgicas.

Além disso, a amostra estudada apresenta teores consideráveis de antimônio e arsênio. Os efeitos tóxicos deste metal e do arsênio sobre a atividade microbiana é pouco discutido (FILELLA et al., 2007, 2009; TSAPLINA et al., 2013). Dessa forma, o estudo dos aspectos fundamentais da bio-oxidação de minérios sulfetados com elevado teor de tais elementos se justifica. Na presente dissertação, a bio-oxidação por micro-organismos mesófilos será aplicada inicialmente a um concentrado de flotação contendo sulfetos portadores de ouro. Em seguida, será conduzida a bio-oxidação do rejeito de flotação produzido a partir do mesmo minério que gerou o concentrado. Como o teor de ouro no rejeito é baixo (0,64g/t) a bio-oxidação é uma das tecnologias de maior potencial para permitir uma oxidação eficiente deste material. A possibilidade de desenvolvimento de uma alternativa para a recuperação do ouro contido nesses rejeitos mostra a relevância do estudo do ponto de vista ambiental.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O objetivo da dissertação é estudar a bio-oxidação de materiais sulfetados (concentrado e rejeito de flotação) por *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

3.2. Objetivos específicos

- ✓ Realizar a caracterização química e mineralógica das amostras iniciais e dos rejeitos gerados nos ensaios de bio-oxidação;
- ✓ Avaliar o efeito de diferentes concentrações inicial de ferro ferroso na bio-oxidação das amostras;
- ✓ Avaliar o efeito de diferentes valores de pH na bio-oxidação das amostras;
- ✓ Investigar o efeito de diferentes densidades de polpa na bio-oxidação das amostras;
- ✓ Estudar a bio-oxidação de rejeitos de flotação com baixo teor de enxofre;
- ✓ Investigar a lixiviação do ouro por cianetação dos produtos sólidos da bio-oxidação das amostras do concentrado e do rejeito.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta revisão da literatura, foram enfatizados alguns conceitos que estão diretamente relacionados à bio-oxidação de minérios refratários de ouro, como por exemplo a bio-oxidação de sulfetos presentes nas amostras estudadas e os fatores que interferem neste processo, além das características da espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

4.1. Biomineração

Os minérios sulfetados constituem a principal fonte de metais não ferrosos como ouro, prata, cobre, chumbo, zinco, níquel e cobalto. O processamento de tais minérios por operações pirometalúrgicas está associado normalmente a elevados custos para a extração dos metais e produção de dióxido de enxofre (SO₂), responsável pelas chuvas ácidas, sendo necessária sua conversão em ácido sulfúrico. No entanto, a produção do ácido sulfúrico demanda a presença de um mercado consumidor, além de investimentos para seu armazenamento e transporte. Essa situação é agravada pelo progressivo esgotamento das reservas minerais com altos teores do metal de interesse. Dessa forma, a indústria tem concentrado esforços no sentido de reduzir custos e adequar-se às leis governamentais quanto à emissão de gases poluentes. Uma alternativa adequada é a utilização de processos bio-hidrometalúrgicos (RODRÍGUEZ et al., 2003; SYED, 2012).

A partir de 1960, desenvolveu-se a bio-hidrometalurgia, um ramo da metalurgia extrativa que consiste essencialmente na aplicação da biotecnologia na extração de metais. Dentro desse contexto, os processos de biolixiviação e bio-oxidação podem ser agrupados no termo geral “biomineração”. A biolixiviação é uma biotecnologia que consiste na utilização de micro-organismos capazes de promover a solubilização de cátions metálicos, tais como cobre, cobalto, níquel, zinco, urânio, a partir de minérios sulfetados. Para a extração de ouro e prata contidos em minérios refratários, os micro-organismos são aplicados apenas para oxidar a matriz sulfetada antes da etapa de cianetação. Neste caso, o termo bio-oxidação deve ser preferencialmente usado, porque não há dissolução dos metais nobres (ROHWERDER et al., 2003; BRIERLEY, 2008).

Diversos processos têm sido propostos para o tratamento de minérios refratários, sendo que os três principais são: ustulação, lixiviação sob pressão e bio-oxidação. Esses processos visam a

oxidação da matriz sulfetada (não porosa) e a escolha da tecnologia de processamento mais adequada depende de uma série complexa de parâmetros que incluem: (i) custos de capital e de operação, (ii) preço do ouro a longo prazo, (iii) dimensão e localização geográfica do projeto e (iv) logística (WATLING, 2006).

Embora a oxidação dos sulfetos seja lenta (GHAHN et al., 2012), o processo de bio-oxidação é considerado mais econômico para o tratamento de minérios refratários, especialmente os de baixo teor e rejeitos provenientes de atividades mineiras. Além disso, a técnica é geralmente mais ambientalmente amigável do que os processos químicos e pirometalúrgicos (DENG et al., 2000; GARCÍA SÁNCHEZ et al., 2001; GHAHN et al., 2012).

Ghahn et al., (2012) evidenciaram que a extração de metais como ouro e cobre por processo biológico emergiu como tecnologia alternativa, devido à depreciação dos custos destes metais, levando a busca de tecnologias mais econômicas. Os autores afirmaram que a tecnologia mostra-se atrativa devido: (i) à baixa exigência energética, quando comparada a um processo pirometalúrgico convencional; (ii) à economia de insumos utilizados em comparação aos processos hidrometalúrgicos convencionais (ácidos e agentes oxidantes) uma vez que, o próprio micro-organismo produz tais insumos a partir de substratos presentes no minério; (iii) à reduzida necessidade de mão de obra especializada na operação e a (iv) facilidade de processamento de minérios que dificilmente seriam beneficiados pelos métodos convencionais (GHAHN et al., 2012).

A bio-oxidação de minérios refratários de ouro é uma tecnologia bem desenvolvida. Várias patentes sobre o processo podem ser encontradas, além do desenvolvimento de biorreatores comerciais (BHAKTA e ARTHUR, 2002). Industrialmente, a primeira aplicação em grande escala ocorreu com o processo BIOX[®], desenvolvido pela Gencor e posteriormente aplicado na mina de São Bento Mineração (Brasil) para oxidação parcial de minérios refratários de ouro, com micro-organismos mesófilos, em tanques agitados. São exemplos de aplicação, além da operação da São Bento (já encerrada), Fairview (África do Sul); Harbor Lights e Wiluna (Austrália) e Ashanti (Gana). A mina de Youanmi (Austrália) utiliza bactérias termófilas moderadas, sendo o processo conhecido como processo BacTech[®] (BRIERLEY e BRIERLEY, 1999).

4.2. Micro-organismo estudado – *Acidithiobacillus ferrooxidans*

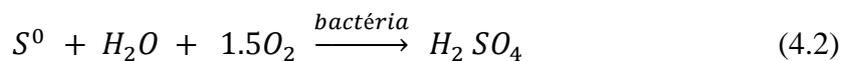
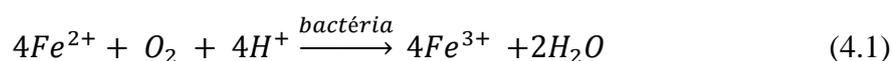
De um modo geral, os micro-organismos envolvidos nos processos bio-hidrometalúrgicos possuem a capacidade de sobreviver em ambientes adversos. Normalmente, íons Fe^{2+} e compostos reduzidos de enxofre são utilizados como fonte de elétrons. Esses micro-organismos podem ser classificados de acordo com a temperatura em que crescem e se desenvolvem, ou seja, (i) mesófilos (até $\sim 40^\circ\text{C}$), (ii) termófilos moderadas ($40\text{-}55^\circ\text{C}$) e (iii) termófilos extrema ($55\text{-}80^\circ\text{C}$) (BRIERLEY, 2008).

A maioria destes micro-organismos pertence ao domínio *Bacteria*, sendo que os principais gêneros conhecidos e estudados são *Acidithiobacillus*, *Leptospirillum* e *Sulfobacillus*. No entanto, micro-organismos pertencentes ao domínio Arqueia também são estudados. As bactérias pertencentes ao gênero *Acidithiobacillus*, a termófila moderada *Acidithiobacillus Calvus* e as mesófilas *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans*, são gram-negativas e acidófilas extremas. Por outro lado, as bactérias termófilas moderadas utilizadas em processos de biomineração são gram-positivas e pertencem aos gêneros *Acidimicrobium*, *Ferromicrobium* e *Sulfobacillus*. As arqueias pertencentes ao gênero *Sulfolobales*, são termófilas extremas, oxidantes de ferro²⁺ e enxofre, incluindo gêneros como *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Metallosphaera* e *Sulfurisphaera*. Por outro lado, arqueias mesófilas e acidófilas oxidantes de Fe^{2+} pertencem ao grupo *Thermoplasmatales*, sendo duas espécies, *Ferroplasma acidiphilum* e *Ferroplasma acidarmanus* relevantes para biomineração (ROHWERDER et al., 2003; KAKSONEN et al., 2014). Dentre as bactérias mesófilas, as autótrofas como *At. ferrooxidans*, *At. thiooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans* são as principais promotoras da lixiviação de metais enquanto as heterotróficas exercem a função de eliminar compostos orgânicos que poderiam inibir a ação das autótrofas (RODRÍGUEZ et al., 2001). Devido às similaridades fisiológicas e ambientais, essas bactérias são encontradas nos ambientes naturais de oxidação de sulfetos, coexistindo simultaneamente e cooperando no ataque a estes minerais sulfetados (WATLING et al., 2012).

Apesar da participação de outros micro-organismos na dissolução de sulfetos minerais, a espécie *At. ferrooxidans* é considerada a mais importante e, portanto é a mais utilizada nesses estudos. É uma espécie não patogênica com forma de bastonete, com dimensões médias de $0,5\mu\text{m}$ a $0,6\mu\text{m}$ de diâmetro por $1,0\mu\text{m}$ a $2,0\mu\text{m}$ de comprimento, ocorrendo sozinha ou em pares, raramente em cadeias pequenas. Os bastonetes são móveis, apresentam flagelo polar e

sua reprodução dá-se por divisão binária simples. A temperatura ótima para seu crescimento é por volta de 30°C, no entanto, foram isoladas linhagens com crescimento entre 2°C e 37°C. É um acidófilo estrito e o pH ótimo de crescimento situa-se na faixa de 1,8 a 2,5 (BEVILAQUA et al., 2002).

Este micro-organismo possui a capacidade de fixar o dióxido de carbono usando a oxidação de íons ferrosos e compostos inorgânicos reduzidos de enxofre presente em minérios sulfetados como doadores de elétrons, bem como apresenta a habilidade de crescer mesmo em elevadas concentrações de íons metálicos dissolvidos (BEVILAQUA et al., 2002; SEIFELNASSR e ABOUZEID, 2013). A reação de oxidação do íon Fe^{2+} pelo oxigênio e catalizada pela bactéria é descrita na Equação 4.1. Já a Equação 4.2 mostra a atuação dos micro-organismos na oxidação de enxofre elementar a ácido sulfúrico (GARCIA JUNIOR e BEVILAQUA, 2008).

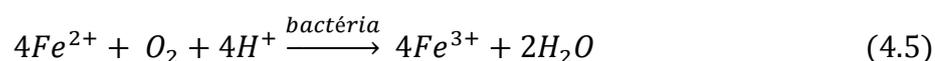
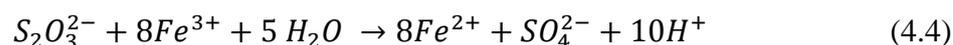
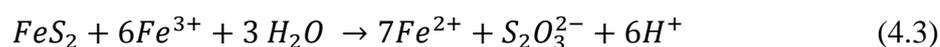


Como o *At. ferrooxidans* usa o oxigênio como o receptor final de elétrons, a concentração de oxigênio dissolvido desempenha uma função importante no processo de bio-oxidação/biolixiviação dos sulfetos (PAULINO et al., 2001; BEVILAQUA et al., 2002, 2014). Sua capacidade em acelerar a dissolução oxidativa de sulfetos já foi demonstrada para diferentes minerais como covelita (CuS), pirrotita ($Fe_{1-x}S$), pirita (FeS_2), galena (PbS) e esfalerita (ZnS), dentre outros (WATLING et al., 2012). Contudo, o papel dos micro-organismos na bio-hidrometalúrgia depende da forma como os sulfetos podem ser lixiviados, isto é, existem (i) sulfetos que são dissolvidos pela ação combinada do oxidante e dos prótons (H^+), como a calcopirita, pirrotita, esfarelita e (ii) sulfetos como a pirita, que são lixiviados exclusivamente pelo agente oxidante, sendo que o mais comum nos processos de biolixiviação é o íon férrico (CRUNDWELL, 2003; WATLING, 2006).

São supostos três mecanismos de biolixiviação/bio-oxidação de sulfetos. No mecanismo direto, os micro-organismos, aderidos obrigatoriamente à superfície do sulfeto mineral, realizam a dissolução oxidativa por meio de reações enzimáticas sem quaisquer exigências de íons férricos ou ferrosos, ou seja, o micro-organismo extrai os elétrons diretamente do

mineral, que são utilizados em várias reações bioquímicas e, são transferidos ao oxigênio (aceptor final de elétrons). Contudo, não há evidências de que o mecanismo direto ocorra na bio-lixiviação. Ainda, por outro lado, no mecanismo indireto, não há contato entre o mineral e o micro-organismo. Neste caso a bactéria localizada no seio da solução catalisa a regeneração dos íons férricos e/ou prótons consumidos na dissolução dos sulfetos, sendo que a produção de prótons se dá pela oxidação de compostos solúveis de enxofre, como tiosulfato, sulfito e bisulfito (SCHIPPERS e SAND, 1999). Entretanto, este mecanismo foi redefinida com a inclusão de um terceiro modelo: o mecanismo indireto de contato (CIFTCI e AKCIL, 2010; OLIVEIRA et al., 2010). Neste mecanismo, a Substância Polimérica Extracelular (EPS), de origem microbiana, permite a adesão micro-organismo/mineral, e nesta interface ocorre a dissolução do sulfeto, pelos íons Fe^{3+} produzidos pelo micro-organismo e adsorvido na mesma (CRUNDWELL, 2003; ROHWERDER et al., 2003; WATLING, 2006).

A bio-oxidação da pirita ocorre sem a formação de enxofre elementar, sendo o íon sulfeto oxidado inicialmente a tiosulfato e em seguida a sulfato (SAND *et al.*, 2001). A bio-oxidação ocorre de forma cooperativa, primeiramente ocorre a liberação de Fe^{2+} , e uma vez que há uma concentração suficiente do íon em solução, a bactéria começa a oxidá-lo a Fe^{3+} . Este último é então utilizado na oxidação química da pirita (RODRÍGUEZ et al., 2003). As Equações 4.3-4.5 descrevem o mecanismo de biolixiviação da pirita pelo ataque químico indireto de íons férricos através do mecanismo via tiosulfato (SAND *et al.*, 2001). Contudo, no caso de sulfetos minerais onde há a formação de enxofre elementar durante a bio-oxidação (como é o caso da arsenopirita) é importante que a ação microbiológica impeça a deposição deste sobre o sólido, pois o enxofre elementar pode formar uma barreira para a difusão do agente oxidante até a superfície do mineral, impedindo a reação de oxidação dos sólidos (OLIVEIRA et al., 2010).



Usualmente, a pirita tem pouco valor econômico, mas é frequentemente associada a minerais valiosos tais como esfarelita, calcopirita e galena, além de eventualmente ser portadora de metais preciosos como ouro, como já citado (WENK e BULAKH, 2004 apud CHANDRA e

GERSON, 2010). Segundo Tupikina *et al.*, (2006) e Chandra e Gerson (2010), a pirita é o mineral sulfetado mais amplamente distribuído na terra. Em seu estudo, Wange et al. (2007) constataram que a dissolução da pirita forma ácido sulfúrico e ferro férrico, que são essenciais para a biolixiviação; logo, o crescimento dos micro-organismos não é afetado pelos elementos que se solubilizam. Entretanto a arsenopirita merece mais atenção devido à toxicidade do arsênio, principalmente a sua forma reduzida (As^{3+}).

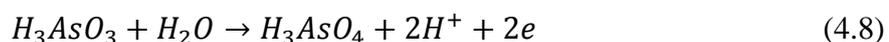
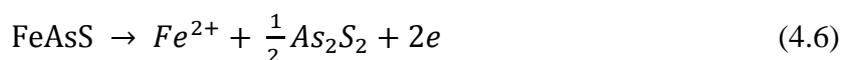
4.3. Fatores que afetam a bio-oxidação de sulfetos minerais

Independentemente do tipo de processo e da escala de trabalho, diversos fatores físicos, químicos e microbiológicos determinam a recuperação do ouro disseminado na matriz de minérios utilizando-se de processos biotecnológicos. A otimização das variáveis envolvidas é uma exigência para aumentar a eficiência da oxidação biológica dos sulfetos e a recuperação de metais nobres (TSAPLINA et al., 2012 e OLIVEIRA et al., 2010). Neste contexto, os valores de pH, temperatura, e a composição do meio tem papel importante na eficiência da lixiviação/oxidação biológica de compostos minerais, sendo estes, os parâmetros mais importantes para o crescimento e metabolismo energéticos dos micro-organismos (JOUBERT et al., 2007; KIM et al., 2008; TSAPLINA et al., 2012; NICOL et al., 2013; WATLING et al., 2014). Com isso, a definição dos valores ótimos de tais parâmetros proporciona elevada recuperação de ouro nos processos subsequentes. Segundo Deng e Liao (2002) e Hong et al. (2016), mais de 70% de oxidação da matriz mineral, pode aumentar o rendimento de recuperação do ouro até mais do que 90%.

A dissolução de sulfetos minerais, seja por processo químico ou por ação de micro-organismos, depende do tipo de minerais, ou seja, da sua composição química e da origem do minério. Neste sentido, na oxidação de sulfetos mistos, as interações eletroquímicas podem exercer efeitos significativos (WATLING, 2006), pois quando diferentes fases mineralógicas estão ligadas pode ocorrer um efeito galvânico durante a dissolução. Dessa forma, de acordo com as associações minerais existentes na amostra da qual se pretende extrair o metal de interesse, o sulfeto de menor potencial redutor irá sofrer dissolução enquanto o outro, de maior potencial estará catodicamente protegido (CRUZ et al., 2008). O efeito galvânico sobre a interação eletroquímica entre o par de minerais de pirita (FeS_2) e arsenopirita ($FeAsS$) foi estudado. Os resultados demonstraram que a arsenopirita é oxidada preferencialmente à pirita,

devido ao efeito galvânico, uma vez que seu potencial de redução é menor do que o da pirita, tornando-a menos nobre (CRUZ et al., 2008).

Estudos eletroquímicos sugeriram que a arsenopirita é primeiramente oxidada a As_2S_2 na região de potencial de 0,2-0,3 V. Com a elevação do potencial, para valores acima de 0,3 V, o As_2S_2 é oxidado a H_3AsO_3 que é em seguida oxidado a H_3AsO_4 em 0,8 V, conforme apresentado nas Esquações 4.6, a 4.8 (CRUZ et al., 2008; JIANG et al., 2008). De acordo Urbano et al. (2008), há também a oxidação do S^0 a SO_4^{2-} e a formação de $FeAsO_4 \cdot 2H_2O$.



A adaptação dos micro-organismos ao mineral é um procedimento necessário para aumentar a sua tolerância às elevadas concentrações de metais em solução. Em seu trabalho, Ospina et al. (2012) estudaram a bio-oxidação de arsenopirita utilizando *At. ferrooxidans* previamente adaptado ao mineral. Em uma série de ensaios sucessivos, a *At. ferrooxidans* foi cultivada em concentrações decrescentes de sulfato ferroso para massas crescentes de arsenopirita, visando conduzir a bio-oxidação do minério sem adição de Fe^{2+} . Uma vez que o Eh do meio atingia 500mV, uma amostra do inóculo era coletada e transferida para um erlenmeyer com uma quantidade menor de sulfato ferroso e maior do concentrado mineral, com controle do valor do pH em 2,0. Foi observado o mesmo comportamento em todos ensaios: (i) aumento inicial do pH; (ii) queda inicial e subsequente aumento progressivo nos valores de Eh; (iii) queda inicial e subsequente aumento progressivo da concentração de arsênio em solução. De acordo com Shahverdi et al. (2001), esse comportamento é característico da bio-oxidação de arsenopirita e reflete indiretamente as fases típicas de crescimento e adaptação microbiana. Os resultados deste estudo sugeriram que apensar do crescimento microbiano ser afetado pela presença do arsênio, as adaptações sucessivas aumentaram a tolerância do *At. ferrooxidans* ao metal. Vale ressaltar a importância em adotar o uso combinado de parâmetros para monitorar a adaptação dos micro-organismos aos íons metálicos, tais como: (i) número de células (ii) razão Fe^{3+}/Fe^{2+} e (iii) percentual de dissolução de elementos, como ferro, e arsênio (ZHANG et al., 2008; MÁRQUEZ et al., 2012; OSPINA et al., 2012). Nesse sentido, Hong et al. (2016) estudaram a bio-oxidação de um concentrado sulfetado com altas concentrações de arsênio,

aproximadamente 14%, utilizando as bactérias *At. ferrooxidans* e *At. thiooxidans*. Após adaptações sucessivas das bactérias à amostra foi possível obter percentuais de bio-oxidação superiores a 70%. A cultura mista adaptada alcançou um percentual máximo de 77% de extração de arsênio.

O antimônio detectado na amostra de concentrado sulfetado estudada é um metaloide que apresenta química e toxicidade semelhante ao arsênio (CRAW et al., 2004; FILELLA et al., 2007, 2009). Um dos principais fatores a ser considerado no processo de bio-oxidação da arsenopirita, gudmundita e estibinita são as altas concentrações de arsênio e antimônio dissolvidos, em grande parte responsáveis pela diminuição da atividade bacteriana como discutido a seguir (BORBA et al., 2004; MÁRQUEZ et al., 2012; OSPINA et al., 2012).

Tsaplina et al., (2013) investigaram o efeito da concentração de antimônio na bio-oxidação de um minério sulfetado contendo ouro, utilizando cultura mista de micro-organismos composta por *Sulfobacillus spp*, *Leptospirillum spp* e *Ferroplasma spp*. Para tanto, ensaios foram conduzidos utilizando diferentes proporções dos seguintes sulfetos: antimônio (0,84% a 29,95%), ferro (0,47% a 2,5%), arsênio (0,01% a 0,4%). Primeiramente, o consórcio microbiano foi adaptado a cada uma das amostras do minério sintético. Observou-se que as células microbianas foram capazes de crescer e oxidar as amostras com baixos e altos teores de antimônio e o maior percentual de oxidação do ferro (86,2%), foi alcançado com o minério com baixo teor de sulfeto de antimônio (2,89%). Já os minérios com altos teores de sulfeto de antimônio (21,85% e 29,95%) alcançaram percentuais de lixiviação de ferro mais baixas, 34,5% e 30,9%, respectivamente. Os autores reportaram que o antimônio interferiu no crescimento microbiano, contudo, não impediu que o percentual de bio-oxidação alcançasse bons resultados. Em outro estudo, envolvendo a biolixiviação de estibinita (Sb_2S_3), Torma e Gabra (1977) constaram que a tolerância do *At. ferrooxidans* ao antimônio era influenciada pela adaptação prévia ao minério portador do elemento. Quanto maior o período de adaptação da bactéria ao minério, maior foi o rendimento de biolixiviação alcançada. A concentração de antimônio dissolvido nos controles estéreis foi de 5-7 vezes menor do que nos correspondentes sistemas inoculados, que atingiu 1400mg/L em pH 1,75, a 35°C. De qualquer forma, o número de estudos sobre o efeito do antimônio na oxidação de sulfetos é limitado, e verifica-se a portanda importância de se investigar a mais detalhadamente atuação do antimônio na bio-oxidação de sulfetos.

Além da influência de elementos tóxicos liberados, a partir da dissolução de sulfetos minerais, na adaptação de *At. ferrooxidans* ao minério, o pH também exerce influência significativa na taxa de crescimento bacteriano, porque afeta os grupos ionizáveis presente em enzimas localizadas no citoplasma e periplasma celular (GOMEZ e CANTERO, 2005).

A manutenção do pH em um valor fixo durante a bio-oxidação/biolixiviação faz-se necessário devido ao aumento inicial observado nesta variável em decorrência de fatores como: (i) a presença de carbonatos e silicatos na ganga mineral (ARROYAVE et al., 2013); (ii) consumo de prótons, principalmente durante a dissolução de sulfetos como calcopirita, esfalerita e galena (NOVO et al., 2000; PAULINO et al., 2001); e (iii) a oxidação de Fe^{2+} presente na solução (BEVILAQUA et al., 2002; GHASSA et al., 2014). Por outro lado, outra reação que contribui para a diminuição do pH no ensaio é a oxidação da pirita, já que são produzidos quantidades significativas de ácido sulfúrico (BRYAN et al., 2015), como citado nas Equações 4.3-4.5.

De acordo com Oliveira e Souza (2010), o pH e a temperatura possuem influência significativa na dissolução de sulfetos minerais. Isso porque afetam a cinética de oxidação dos sulfetos e precipitação de íons férricos, os quais são comumente detectados em estudos de biolixiviação/bio-oxidação, seja pela adição do elemento por fonte suplementar, ou devido a dissolução dos sulfetos em estudo (RIVADENEIRA, 2010, FRANCISCO JR et al., 2007). Neste sentido, há estudos que objetivam encontrar a faixa ótima do pH e temperatura para bio-oxidação por *At. ferrooxidans* visando a mínima formação de precipitados férricos.

Daoud e Karamanev (2006) estudaram a influência do pH e temperatura sobre a formação de jarosita durante a oxidação do íon ferroso por *At. ferrooxidans*. Os experimentos foram conduzidos em erlenmeyers contendo 100mL de meio nutriente 9K, 20mL de inoculo de *At. ferrooxidans*, que continha uma média de 10^8 células/mL, sob agitação de 260min^{-1} . Na primeira etapa dos experimentos, o efeito do pH sobre a bio-oxidação foi estudado na faixa de 1,0-3,0 a 22°C . Em um segundo momento, após a obtenção da faixa de pH ideal, as temperaturas de 25°C , 30°C , 35°C e 40°C foram estudadas. Os autores concluíram que o pH é o principal parâmetro que afeta a formação de jarosita. Os menores rendimentos de formação desse composto foram determinadas para pH de 1,6 a 1,7, à 35°C . A fórmula geral da jarosita, é $\text{MFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$, onde M pode ser de K^+ , Na^+ , NH_4^+ , Ag^+ ou H_3O^+ (ASTA et al., 2009), sendo que a formação deste precipitado ocorre em baixos valores de pH, na presença de altas

concentrações de Fe^{3+} e sulfato. Jiang et al. (2008), determinaram que a condição ótima dos parâmetros estudados para a bio-oxidação da arsenopirita por *At. ferrooxidans* ocorre em pH de 1,8-2,0, partículas de dimensões inferiores a 0,074 mm, temperatura na faixa 25°C-30°C. Em síntese, esses resultados demonstram o papel fundamental do pH e da temperatura na oxidação dos sulfetos e na precipitação de íons férricos e, fornecem suporte teórico e tecnológico da bio-oxidação de arsenopirita para pré-tratamento de minérios refratários de ouro.

Como consequência da oxidação mineral, fases secundárias podem ser formadas sobre a superfície das partículas sólidas. Como exemplos destas fases já foram identificados: jarosita (ZHANG et al., 2008; ASTA et al., 2009; SUN et al., 2012; TSAPLINA et al., 2013; KAKSONEN; PERROT; et al., 2014), oxi-hidróxidos de ferro (FeOOH) (TSAPLINA et al., 2013) ou arsenato de ferro, no caso da arsenopirita (BORBA et al., 2004). Jiang e Lawson (2006) encontraram maior quantidade de jarosita formada em pH 2,2, em experimentos conduzidos em valores de pH variando de 1,8 a 2,2. Esse resultado já era esperado, pois, a elevação do pH catalisa a formação dos precipitados de ferro (OLIVEIRA e SOUZA, 2010). A formação de jarosita também foi estudada por Nazari et al. (2014), a partir de um minério composto majoritariamente por pirita utilizando a *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Neste estudo, foi mostrado que a concentração de sulfato ferroso adicionada como suplemento exerceu influência na formação de precipitados férricos. A partir das análises de DRX e MEV-EDS foi observado que a máxima formação de precipitado férrico ocorreu a uma condição com a máxima concentração de sulfato ferroso estudada (50g/L), enquanto que a condição com a menor concentração do suplemento (10g/L) foi a que teve a menor formação de precipitados, como esperado.

O trabalho de Márquez et al. (2012) teve como objetivo identificar as fases minerais formadas durante a oxidação bacteriana da arsenopirita. A caracterização inicial por DRX indicou a predominância da arsenopirita (cerca de 97%), além de quartzo, e vestígios de pirita e muscovita na amostra. Os experimentos foram conduzidos em bancada utilizando *At. ferrooxidans*, crescido em meio T&K. O pH foi ajustado para 1,8, a temperatura foi mantida em 30°C e a agitação em 180min^{-1} , em *shaker*. Os resíduos sólidos gerados após diferentes tempos de ensaio (2 a 720h) foram caracterizados por espectroscopia Raman. A análise dos resíduos obtidos nas primeiras horas (0 - 32horas) de bio-oxidação revelaram a formação de As_2S_3 e jarosita. Já os sólidos gerados em ensaios de 5 dias, 15 dias e 30 dias continham

jarosita, enxofre elementar e As_2O_3 . Verificou-se que o principal produto sólido da bio-oxidação da arsenopirita era a jarosita (TSAPLINA et al., 2012; NAZARI et al., 2014).

Consórcios de micro-organismos têm sido muitas vezes usados para investigar a oxidação de pirita e arsenopirita e foi observada maior oxidação em comparação com isolados (MCGUIRE et al., 2001; AKCIL et al., 2007; JIANG et al., 2008). No entanto, Liu et al. (2011) estudaram a lixiviação de pirita (composta por 44,15% de ferro e 51,05% de enxofre) por culturas puras de *Acidithiobacillus ferrooxidans* e mista (contendo *At. ferrooxidans* e *At. thiooxidans*). Todos os experimentos de biolixiviação foram conduzidos em erlenmeyers contendo 150 mL de meio nutriente 9K e polpa com 3% de sólidos (p/v). A temperatura foi mantida em 30°C e a agitação de 160min^{-1} , em *shaker*. O pH inicial foi ajustado para 1,8, juntamente com o potencial redox, foi monitorado ao longo dos ensaios. Após 30 dias de experimentos de lixiviação biológica, os resultados revelaram extrações iguais, ou seja, aproximadamente 44% e 46% de Fe, para as culturas pura e mista, respectivamente. Contudo, na fase inicial do ensaio (7 dias) a cultura mista mostrou uma maior eficiência sobre o rendimento de lixiviação da pirita quando comparada com a cultura pura, 17% e 4% de lixiviação, respectivamente. Os valores do pH em todos os ensaios, com exceção dos controle, estavam abaixo de 1,0, comprovando a geração de ácido durante a oxidação da pirita. De acordo com os autores, o potencial redox das soluções com a cultura pura estabilizou-se dentro de uma faixa de 550mV a 600mV após 18 dias. Por outro lado, nos ensaios com a cultura mista, esse patamar foi alcançado em 10 dias. Em todos os ensaios de biolixiviação, a concentração de Fe^{2+} diminuiu com tempo, enquanto, a concentração de Fe^{3+} aumentou gradualmente. Ao final dos experimentos, aproximadamente 99,8% do ferro solúvel presente estava na forma de Fe^{3+} , que é característico de lixiviação de pirita por *At. ferrooxidans* (YAHYA e JOHNSON, 2002). Para a amostra inicial, a difatometria de raio-X revelou picos associados à pirita e ao quartzo, mas após 30 dias de biolixiviação, picos de jarosita emergiram. Assim, os autores concluíram que mesmo em pH inferior a 1,0, desde que o potencial redox seja alto, a jarosita era produzida.

Morin (1990, apud OSPINA et al., 2012) observaram que o crescimento de *At. ferrooxidans* é inibido em concentrações iguais a 500mg/L de As^{3+} e 40g/L de As^{5+} . Nesse sentido, a precipitação de fases secundárias durante a oxidação da arsenopirita é de grande relevância ambiental, porque elas são absorventes de As(V) em ambientes altamente ácidos, representando, assim, uma opção para mitigar as concentrações deste metal tóxico em drenagem ácida de mina (ASTA et al., 2009).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

A abordagem adotada no presente estudo foi otimizar os parâmetros que afetam a bio-oxidação de uma amostra de concentrado sulfetado (contendo majoritariamente pirita e arsenopirita), portador de ouro, por *At. ferrooxidans*. Após a determinação desses valores ótimos, foram conduzidos ensaios com amostras de rejeito de flotação que apresentavam baixos teores de enxofre. Ao final, ensaios de cianetação determinaram os rendimentos da extração de ouro.

5.1. Caracterização das amostras

Para a realização dos ensaios de bio-oxidação, foram utilizados um concentrado e um rejeito de flotação com granulometria 100% inferior a 37 μ m (<400# Tyler). Inicialmente, as amostras foram homogeneizadas e quarteadas, de acordo com o método de pilhas cônicas, e em seguida estocadas.

Inicialmente foi realizada uma análise química quantitativa por espectrometria de fluorescência de raios-X (XRF) (Shimadzu, Ray Ny-EDX 720). E, para a quantificação dos elementos químicos presente na amostra do concentrado e do rejeito da flotação, com exceção do arsênio e enxofre, foi realizado uma fusão à 1000°C por 15 minutos, em cadinho de platina, com tetraborato de sódio (Na₂B₄O₇·10H₂O), (Synth, 99,7% de pureza) e carbonato de sódio (Na₂CO₃), (Synth, 99,0% de pureza) na relação 1:2, seguida de digestão a quente utilizando-se os ácido clorídrico, nítrico e fluorídrico. O percentual de arsênio nas amostras foi determinado separadamente através da realização de digestão parcial, utilizando água régia (1:3 HNO₃:HCl), por 2 horas, à 80°C, o que evita a volatilização do elemento. Já os teores de enxofre nas amostras foi determinado por detecção de infravermelho, em um equipamento LECO, modelo SC632.

Após a digestão da fase sólida, os teores dos elementos presentes nas amostras foram determinados por espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado em um ICP-OES, marca Varian modelo 725-ES.

A caracterização das amostras iniciais também foram realizadas por Microscopia eletrônica de varredura acoplada ao sistema de espectroscopia por energia dispersa (MEV/EDS) (Tescan,

modelo Vega 3). A preparação das amostras para observação no MEV/EDS envolveu o embutimento 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, e em seguida observados no MEV.

Os difratogramas de Raios-X foram obtidos em um equipamento *PanAnalytical*, modelo *Empirean*). Os espectros de Raios-X (DRX) foram obtidos utilizando um monocromador de grafite, filtro de níquel, na faixa de varredura (2θ) de 8° a 80° e passo de $0,02^\circ/2\theta$ por minuto, radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=0,15406\text{nm}$), a 40kV e 20mA. A análise dos picos foi feita através de comparações com os padrões do banco de dados (fichas do JCPDS – *Joint Committee on Powder Diffraction Standards*) com a utilização do *software* “*X'PertHighScore*”, versão 1.10.

5.2. Micro-organismo

A cultura da espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans*, utilizada neste estudo foi mantida em um *shaker* (*New BrunswickScientific*) a 32°C , sob agitação de 150min^{-1} e orbita de 5cm. A confirmação da natureza da cepa foi feita em trabalho anterior (AZEVEDO, 2008). Para manutenção da cultura de *At. ferrooxidans* e também obtenção de inóculo para os experimentos de bio-oxidação, foi utilizado o meio Norris adaptado. A composição do referido meio, incluindo os sais minerais e fonte de energia, descritos na Tabela 5.1, foram ambientalizadas em pH 1,8.

Tabela 5.1. Composição do meio de cultura utilizado para manutenção da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

| Composição do meio de cultura | |
|---|--------------------|
| Solução de sais | |
| Reagente | Concentração (g/L) |
| $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ | 0,4 |
| KHPO_4 | 0,4 |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,8 |
| Fonte de energia | |
| Reagente | Concentração (g/L) |
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 248 |

Fonte: próprio autor.

5.3. Ensaios de bio-oxidação do concentrado em agitador orbital (*shaker*)

De acordo com Horta (2008); Luptakona et al. (2008); Fantauzzi et al. (2011); Bevilaqua et al. (2014); Hong et al. (2016), previamente aos ensaios de bio-oxidação faz-se necessário à adaptação da cepa de *At. ferrooxidans* à amostra. Os erlenmeyers inoculados foram mantidos durante a fase de adaptação, em shaker (*New Brunswick Scientific*), a 32°C, sob agitação de 150min⁻¹ e órbita de 5cm durante cada fase de adaptação (15 dias). A adaptação da bactéria ao meio foi monitorada pelo Eh através de um Ehmetro (Digimed DM20), e eletrodo de platina Ag/AgCl (Digimed), com solução de prata saturada com cloreto de prata e por contagem das células, utilizando um microscópio óptico (Leica) com o auxílio de uma câmara de Neubauer. A fase de adaptação da *At. ferrooxidans* ao concentrado sulfetado e ao rejeito de flotação foi realizada utilizando-se valores crescentes da densidade de polpa até 10% sólidos (m/v).

Posteriormente à adaptação dos micro-organismos ao concentrado sulfetado, os experimentos de bio-oxidação foram conduzidos, em bancada, utilizando-se erlenmeyers de 250mL, contendo um volume total de 150mL de solução. Para inoculação, as culturas mantidas em Fe²⁺ foram filtradas em membranas de celulose (Millipore-0,22µm). Especificamente, para cada ensaio foram filtrados 100mL do inóculo na membrana e a população bacteriana no meio foi determinada. Nestes experimentos foram avaliados os seguintes parâmetros de processo: (i) concentração inicial de Fe²⁺ (0g/L, 2,5g/L, 5,0g/L e 10g/L), (ii) pH da suspensão (1,5; 1,75; 2,0) e (iii) percentual de sólidos (1,5%; 5,75%; 10,0%). A concentração inicial bacteriana foi de 10⁷ células/mL. Os experimentos foram conduzidos em duplicata, assim como também foi realizado um controle não inoculado para cada um dos ensaios inoculados. Os ensaios não inoculados foram conduzidos na presença de 2% m/v de timol (C₁₀H₁₄O) marca Neon como fungicida.

O pH foi mantido em 1,8 nos experimentos em que os parâmetros (i) concentração inicial de Fe²⁺ e (ii) densidade da polpa foram avaliados. A concentração de 2,5g/L de Fe²⁺ foi adicionada nos experimentos em que os parâmetros (i) pH da suspensão e (ii) densidade da polpa foram avaliados. No estudo do efeito do pH e da concentração inicial de Fe²⁺, foi usada a densidade de polpa de 1,5% (m/v). Durante os experimentos, a perda por evaporação foi compensada pela adição de água destilada. Para tal, os frascos eram pesados no início do experimento e tinham sua massa corrigida durante os ensaios.

O ajuste do pH do meio foi realizado diariamente utilizando soluções 1mol/L de H₂SO₄ e 6mol/L de NaOH. Para a medição do mesmo foi utilizado um pHmetro (Digimed), composto de eletrodo de membrana de vidro e calibrado com tampões pH 4,0 e 7,0. O potencial de oxirredução da solução também foi monitorado diariamente por meio de um Ehmetro (Digimed), e eletrodo de platina com solução de prata saturada com cloreto de prata. Todas as medidas de Eh referem-se ao par Ag/AgCl (297mV em relação ao eletrodo de hidrogênio).

As amostragens foram realizadas periodicamente retirando uma alíquota de 2 mL da solução para determinação das concentrações de arsênio, ferro e antimônio conduzidas por espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Para a determinação da concentração bacteriana foi utilizado um microscópio óptico (Leica) com o auxílio de uma câmara de Neubauer.

5.4. Caracterização dos produtos de bio-oxidação

Ao final dos experimentos os produtos sólidos foram filtrados, secos, pesados e submetidos a análise por MEV-EDS (Tescan, modelo Vega 3) e DRX (PanAnalytical, modelo Empirean), 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 realizadas durante a caracterização da amostra inicial (sessão 5.1).

5.5. Ensaios de bio-oxidação do concentrado e rejeito em sistema de garrafas agitadas

Após a definição dos valores ótimos das variáveis estudadas, concentração de Fe²⁺ adicionado, pH e percentual de sólidos, com a amostra do concentrado sulfetado foram conduzidos ensaios de bio-oxidação com amostras de rejeitos de flotação com baixo teor de enxofre. Nessa etapa, os experimentos de bio-oxidação foram conduzidos, utilizando-se garrafas de 10L, sob esteira giratória (50min⁻¹), a 32°C, contendo um volume total de 2000mL de solução. Para a inoculação, foi adicionado 10% (v/v) do inóculo da *A. ferrooxidans* já adaptado em 10% (m/v) das amostras de rejeito e concentrado. A concentração inicial bacteriana foi de 10⁶ células/mL.

5.6. Ensaios de cianetação

Após a obtenção dos valores ótimos para as variáveis estudadas, foram realizadas ensaios de bio-oxidação com as amostras do rejeito e do concentrado de flotação. Os produtos destes ensaios, bem como as amostras originais, ou seja, que não sofreram bio-oxidação, foram submetidos à lixiviação por cianeto para a extração de ouro. As amostras do produto obtido nos ensaios de bio-oxidação foram coletadas, filtradas, lavadas com água destilada para remoção de elementos solúveis, secas em estufa, a 50°C por 48 horas e pesadas. A lixiviação na presença de excesso de cianeto (3362mg/L CN_{Total} , na forma de NaCN) foi conduzidos em erlenmayer de 1000mL, com o volume de 300mL com 33% (m/v) de sólidos, dotada de sistema de aeração, em um agitador orbital, sob a velocidade de 175 min^{-1} , durante 72 horas, com correção do nível de solução no sistema. O pH da polpa foi mantido entre pH 10,5-11,0, pela adição de NaOH 10N. Após 24 horas de ensaio, houve a adição de NaCN para manter a concentração de cianeto livre acima de 100mg/L. As concentração de ouro presente no sólido foi determinado pela técnica de “fire assay” e em solução, em equipamento de absorção atômica.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

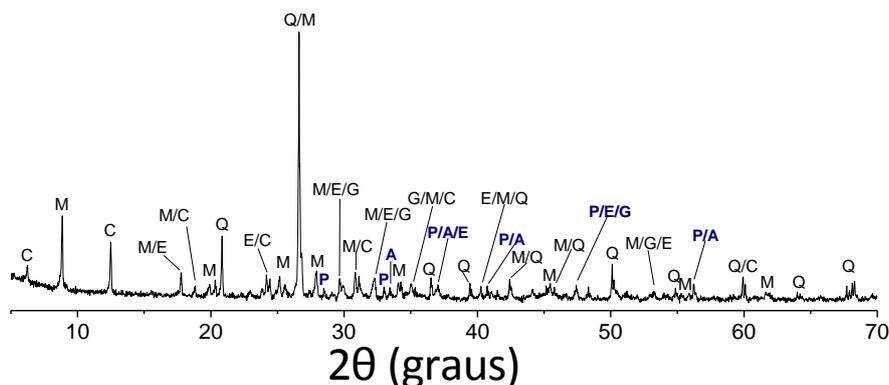
6.1. Caracterização da amostra inicial

As amostras do concentrado sulfetado de flotação e do seu respectivo rejeito foram caracterizadas através das técnicas de difração de Raios-X (DRX), microscopia eletrônica de varredura acoplada ao sistema de espectroscopia por energia dispersa (MEV-EDS) e LECO (análise de enxofre). Além disso, devido a necessidade em determinar a evolução da solubilidade dos elementos que foram monitorados durante os ensaios de bio-oxidação, as amostras foram submetidas à digestão, seguida da determinação dos teores dos principais elementos através espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES).

6.1.1. Concentrado sulfetado da flotação

A análise de DRX permitiu identificar picos de arsenopirita (FeAsS), pirita (FeS_2), gudmundita (FeSbS) e estibinita (Sb_2S_3), além de silicatos como quartzo (SiO_2), muscovita ($\text{KAl}_2\text{Si}_3\text{AlO}_{10}(\text{OH},\text{F})_2$) e clorita ($(\text{Mg},\text{Al},\text{Fe})_{12}(\text{Si},\text{Al})_8\text{O}_{20}(\text{OH})_{16}$) na amostra (Figura 6.1). Os picos foram identificados nos difratogramas com os seguintes símbolos: A: arsenopirita; C: clorita; E:estibinita; G: gudmundita; M: muscovita; P:pirita; Q: quartzo.

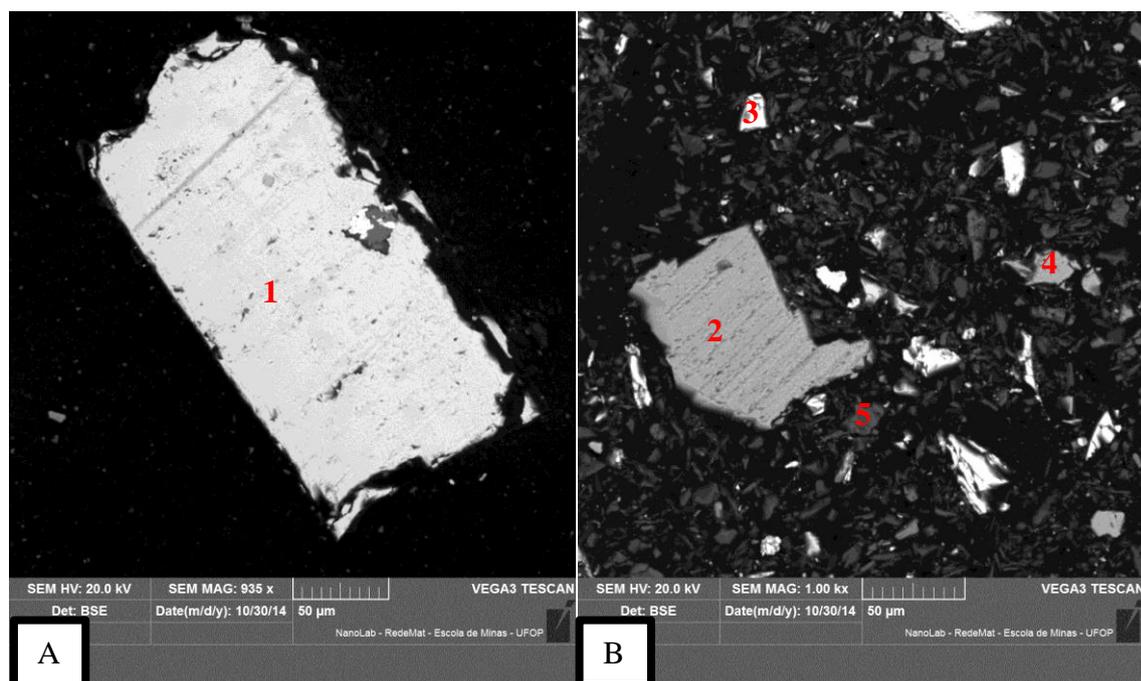
Figura 6.1 - Difratograma de Raios-X (DRX) da amostra inicial do concentrado a ser utilizada nos ensaios de bio-oxidação. Símbolos: M: muscovita; C: clorita; Q: quartzo; P: pirita; A: arsenopirita; E: estibinita; G: gudmundita.



Fonte: Próprio autor.

Os resultados das análises microscópicas pontuais conduzidas em MEV-EDS corroboram com as do DRX, pois foram identificados pirita (FeS_2), arsenopirita (FeAsS), estibinita (Sb_2S_3), gudmundita (FeSbS), silicatos e quartzo na amostra do concentrado sulfetado. Estes resultados podem ser observados na Figura 6.2 (a e b) e na Tabela 6.1.

Figura 6.2. Imagens da amostra inicial do concentrado utilizada nos experimentos de bio-oxidação obtidas em MEV-EDS (A) e (B): (1) arsenopirita, (2) pirita, (3) gudmundita, (4) estibinita e (5) quartzo.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 6.1. Avaliação semi quantitativa da amostra do concentrado por EDS (em%-massa).

| Ponto | Massa (%) | | | | | |
|-------|-----------|----|----|----|----|----|
| | Fe | S | As | Sb | Si | O |
| 1 | 34 | 22 | 44 | - | - | - |
| 2 | 46 | 54 | - | - | - | - |
| 3 | 13 | 29 | - | 58 | - | - |
| 4 | - | 55 | - | 45 | - | - |
| 5 | - | - | - | - | 64 | 32 |

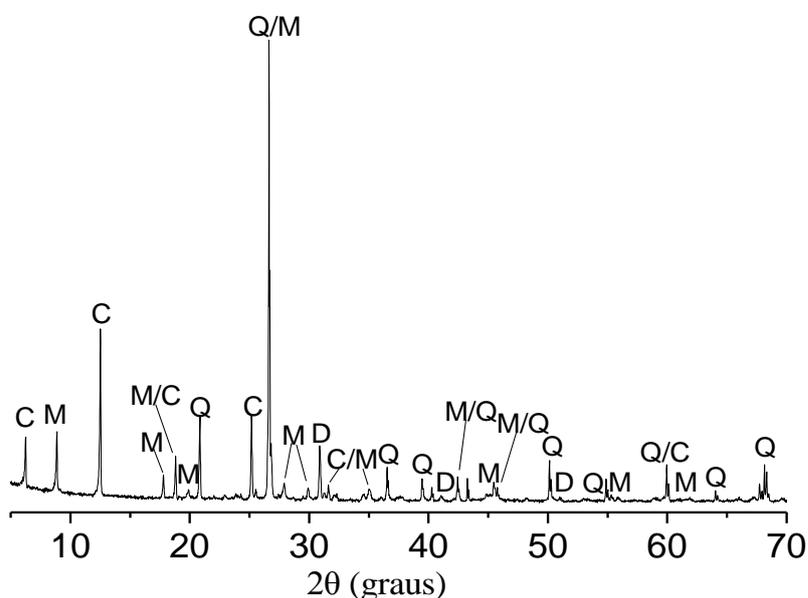
Fonte: Próprio autor.

A análise semi-quantitativa por fluorescência de raios-x identificou como elementos majoritários do concentrado o silício, ferro, alumínio e enxofre, além de antimônio, potássio e arsênio em teores mais reduzidos. De acordo com a análise química por (ICP-OES), os teores dos elementos relevantes para este estudo foram: Fe ($10,58\pm 0,16\%$), As ($1,88\pm 0,04\%$) e Sb ($3,16\pm 0,65\%$). Já o teor de enxofre foi determinado através do equipamento LECO onde foi obtido o valor de $11,80\pm 0,31\%$.

6.1.2. Rejeito da flotação

Conforme apresentado na Figura 6.3, pela análise de DRX não foram identificados picos de sulfetos. Foram observados apenas picos de silicatos e quartzo, como fases majoritárias do rejeito.

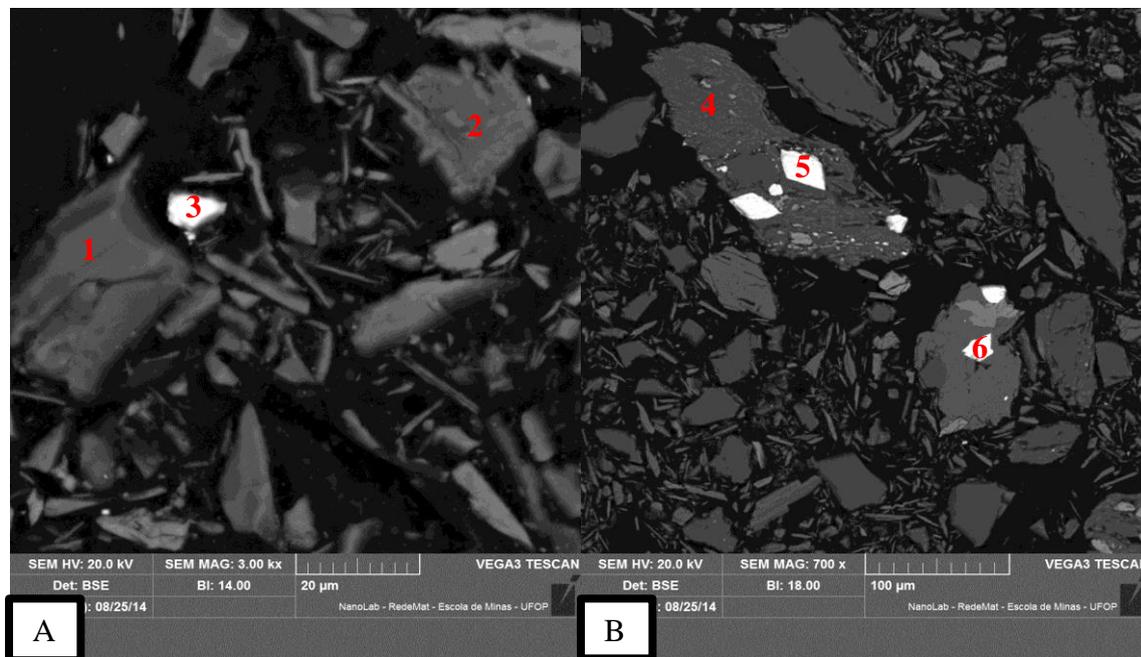
Figura 6.3. Difratoograma de Raios-X (DRX) da amostra inicial do rejeito a ser utilizada nos ensaios de bio-oxidação. Símbolos: M: muscovita; C: clorita; D: dolomita; Q: quartzo.



Fonte: Próprio autor.

Por outro lado, a análise de MEV-EDS do rejeito de flotação permitiu identificar silicatos e quartzo, seguidas por sulfetos, como pirita, arsenopirita e gudmundita (Figura 6.4), enquanto a tabela 6.2 apresenta as proporções mássicas dos principais elementos presentes na amostra.

Figura 6.4. Imagens da amostra inicial do rejeito utilizada nos experimentos de bio-oxidação obtidas em MEV-EDS (A) e (B): (1) quartzo, (2) silicato, (3) pirita, (4) silicato, (5) arsenopirita e (6) gudmundita.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 6.2. Avaliação semi-quantitativa da amostra do rejeito por EDS (em%-massa).

| Ponto | Massa (%) | | | | | | |
|-------|-----------|----|----|----|----|----|----|
| | Fe | S | As | Sb | Si | O | Al |
| 1 | - | - | - | - | 55 | 45 | - |
| 2 | - | - | - | - | 26 | 43 | 22 |
| 3 | 58 | 42 | - | - | - | - | - |
| 4 | - | - | - | - | 22 | 48 | 21 |
| 5 | 35 | 22 | 43 | - | - | - | - |
| 6 | 11 | 26 | - | 51 | - | - | - |

Fonte: Próprio autor.

A análise semi-quantitativa por fluorescência de raios-x identificou como elementos majoritários do rejeito silício, alumínio, ferro, além de enxofre, antimônio, potássio e arsênio em teores mais reduzidos. De acordo com a análise química por (ICP-OES), os teores dos elementos relevantes para este estudo foram: Fe ($3,98 \pm 0,02\%$) e As ($0,03 \pm 0,01\%$). O teor de enxofre foi determinado através do equipamento LECO onde foi obtido o valor de $<1\%$.

6.2. Ensaios de bio-oxidação do concentrado em agitador orbital (*shaker*)

A estratégia adotada na presente dissertação foi determinar os valores ótimos para a bio-oxidação do concentrado sulfetado e depois aplicar esses valores na bio-oxidação do rejeito de flotação. Neste último, o teor de enxofre é muito pequeno o que tornou muito difícil sua utilização direta nos ensaios de bio-oxidação.

Após repiques consecutivos em percentuais crescentes do concentrado na polpa, foi alcançado para 10,0% (m/v) de sólidos, uma população microbiana da ordem de 10^8 células/mL e valores de Eh em cerca de 550mV em, aproximadamente, 7 dias de experimento, o que permitiu considerar que a etapa de adaptação foi concluída. Em geral, o percentual de sólidos utilizado em ensaios de biolixiviação/bio-oxidação em bancada de minérios sulfetados, utilizando a espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans* variam entre 1 e 8% (HORTA, 2008; ZHANG et al., 2008; LIU et al., 2011), entretanto, percentuais de sólidos mais elevados (10-20% (DENG e LIAO, 2002; JIANG et al., 2008) podem ser observados em experimentos conduzidos em escala semi-piloto, como por exemplo em tanques agitados.

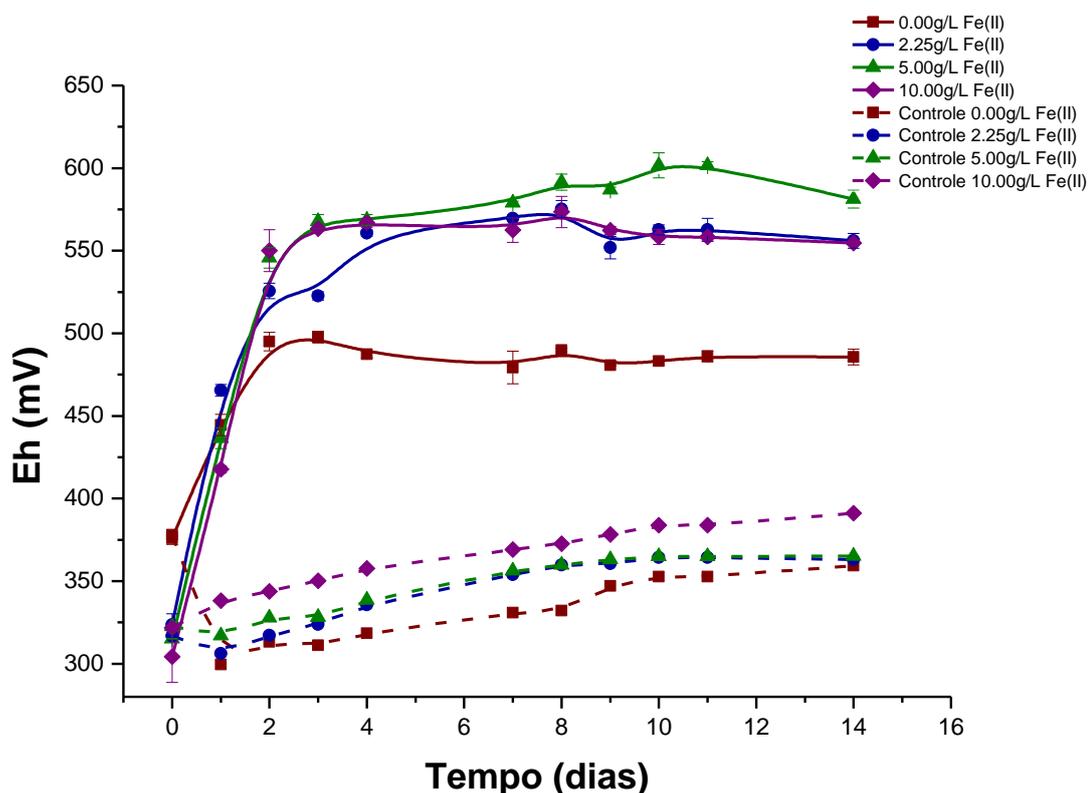
Os experimentos de bio-oxidação do concentrado sulfetado foram conduzidos em frascos agitados, utilizando células bacterianas da espécie *At. ferrooxidans*, e foi investigada a influência dos seguintes parâmetros: (i) concentração inicial de Fe^{2+} , (ii) pH e (iii) percentual de sólidos na polpa. Durante os ensaios, a oxidação da amostra foi acompanhada a partir da concentração de arsênio em solução, ou seja, evolução da dissolução deste elemento com o tempo. A escolha desse elemento foi devida ao fato de que os outros elementos presentes constituintes da pirita e arsenpirita (Fe e S) se precipitam durante o ensaio de bio-oxidação (MÁRQUEZ et al., 2012; NAZARI et al., 2014) A seguir, o efeito de cada um desses parâmetros na bio-oxidação do concentrado é discutido

6.2.1. Influência da concentração inicial de Fe^{2+}

Nesta etapa, foram realizados ensaios para verificar o efeito da concentração inicial de Fe^{2+} na bio-oxidação do concentrado sulfetado. Nestes ensaios, as condições utilizadas foram: pH igual a 1,8, densidade de polpa igual 1,5% e concentração inicial de Fe^{2+} iguais a 0g/L, 2,5g/L, 5,0g/L e 10g/L.

A Figura 6.5 mostra a evolução dos valores de Eh obtidos nas diferentes concentrações iniciais de Fe^{2+} . As condições bióticas testadas apresentaram valores de Eh expressivamente superiores aos observados nos experimentos não inoculados (controle), evidenciando o efeito catalisador da *At. ferrooxidans* na oxidação do íon ferroso. A evolução do Eh com o tempo nos sistemas inoculados apresentou aumento acentuado até o segundo dia de ensaio, sugerindo que a atividade microbiana de oxidação do íon ferroso iniciou-se rapidamente. A partir do segundo dia, para todas as condições inoculadas, o Eh manteve-se constante até o final do experimento, alcançando valores de aproximadamente 480mV para a condição sem adição de Fe^{2+} e 550mV nas demais condições. Os resultados de Eh obtidos nos sistemas inoculados na presença de Fe^{2+} (550mV), conduzidos com a espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans*, encontram-se próximos aos descritos por Zhang et al. (2008) (525mV), em estudo de biolixiviação de pirita e Bevilaqua et al. (2002) (600mV), em estudo de biolixiviação de calcopirita. Por outro lado, os resultados conduzidos sem a suplementação de Fe^{2+} não estão em acordo com os encontrados por Bevilaqua et al. (2002). Estes autores verificaram valores de Eh semelhantes para as condições suplementadas e não suplementadas (600mV), porém, ao analisar a lixiviação do cobre a adição do íon Fe^{2+} mostrou-se eficaz, uma vez que a adição de 30mM de Fe^{2+} dobrou a extração do metal. Os ensaios suplementados e não suplementados atingiram 50% e 25% de extração de cobre, respectivamente.

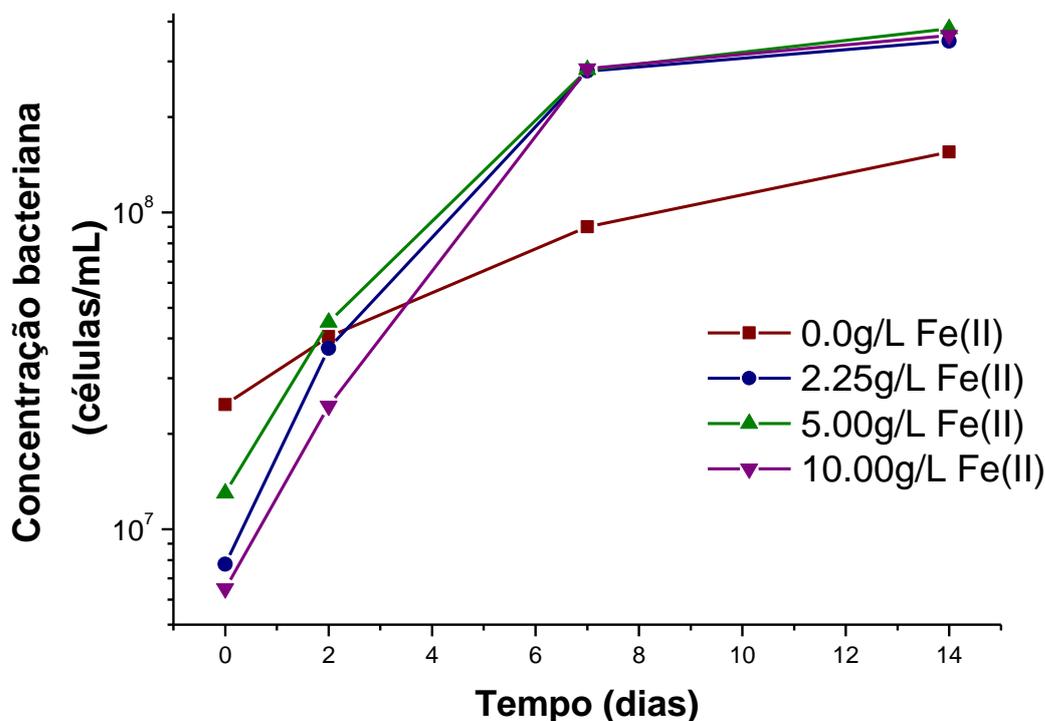
Figura 6.5. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v) de pH 1,8, 32°C e em diferentes concentrações de Fe^{2+} , nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – controle (linha tracejada).



Fonte: Próprio autor.

Ao analisar a evolução da população bacteriana com o tempo de ensaio, verifica-se o comportamento semelhante para todas as condições suplementadas com Fe^{2+} . As bactérias permaneceram na fase de adaptação ao meio durante os dois primeiros dias e, logo após esse período, o número de células de micro-organismos teve um aumento acentuado e em seguida a população estacionou. Já na condição onde não foi adicionado Fe^{2+} não houve um crescimento exponencial da população como nas demais, conforme apresentado na Figura 6.6.

Figura 6.6. Perfil do crescimento bacteriana (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v) em condições de pH 1,8, 32°C e em diferentes concentrações de Fe^{2+} .

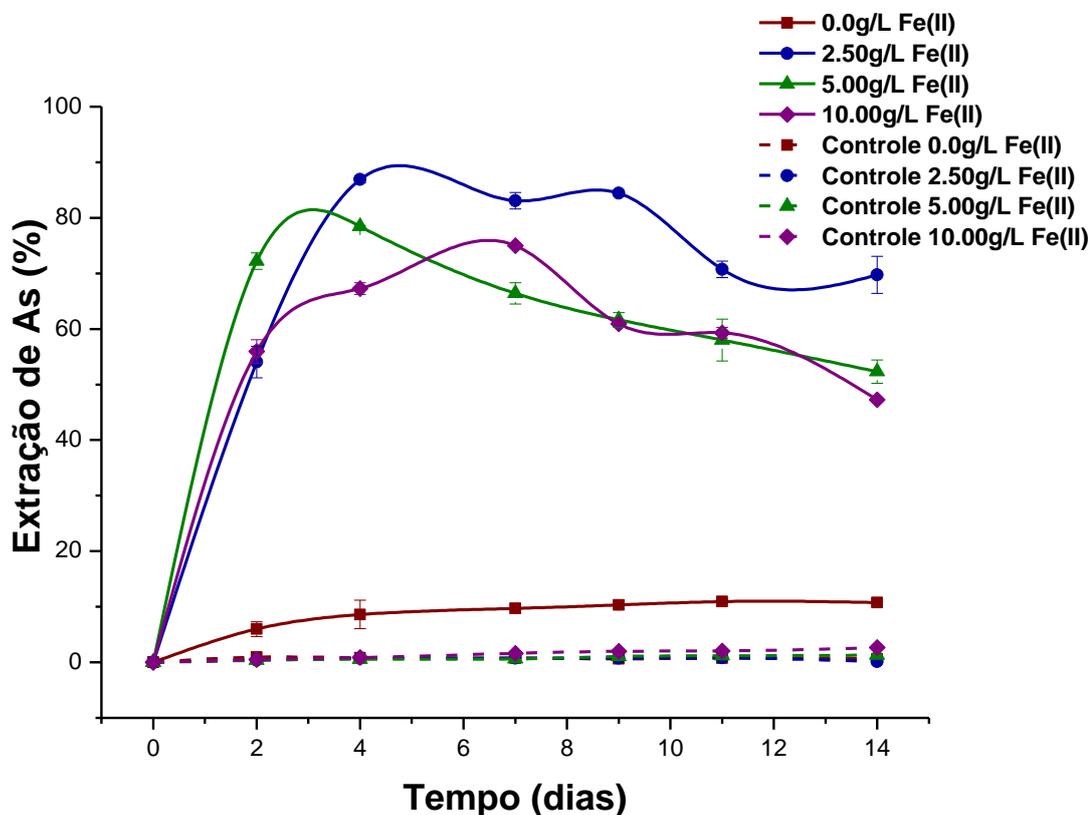


Fonte: Próprio autor.

Pela observação das Figuras 6.5. e 6.6, verifica-se uma relação entre a população bacteriana e os valores de Eh. A menor população bacteriana (condição sem a suplementação com Fe^{2+}) resultou em valores de Eh inferiores, quando comparados às condições onde a concentração bacteriana foi mais elevada. Nas condições suplementadas com Fe^{2+} o crescimento bacteriano fez o Eh aumentar nos dois primeiros dias, ou seja, o substrato (Fe^{2+}) estava sendo usado para permitir o aumento da população. Já as condição sem adição de Fe^{2+} apresentou crescimento bacteriano menos expressivo e conseqüentemente os menores valores do potencial redox. Estes resultados indicam a atividade oxidativa dos micro-organismos no meio.

A Figura 6.7 mostra a evolução do percentual de extração de arsênio em diferentes concentrações iniciais de Fe^{2+} .

Figura 6.7. Variação da extração de arsênio (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), pH 1,8, 32°C e em diferentes concentrações de Fe^{2+} , nos ensaios inoculado (linha cheia) e não inoculado – Controle (linha tracejada).



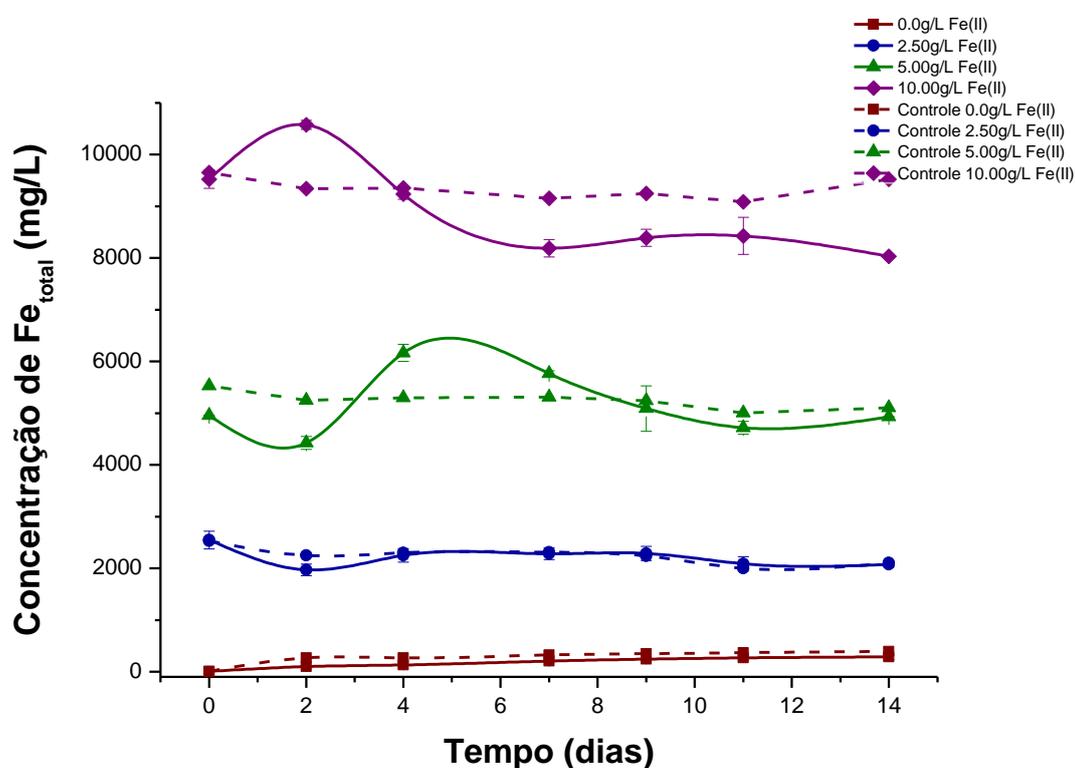
Fonte: Próprio autor.

De acordo com a Figura 6.7, por volta do 4º dia a extração máxima de arsênio atingiu 10,9%, 86,9%, 78,6%, e 67,3% para as concentrações iniciais de Fe^{2+} de 0g/L, 2,5g/L, 5g/L e 10g/L, respectivamente. Estes resultados indicam que o ferro ferroso exerce influência significativa na oxidação dos sulfetos, evidenciando a necessidade da suplementação deste substrato para melhorar a atividade microbiana e consequente oxidação da amostra. Verifica-se que na ausência de Fe^{2+} , a partir do 2º dia, a extração do arsênio manteve-se constante até o final do experimento, com valores próximos ao das condições abióticas. Já nos ensaios realizados com 5g/L e 10g/L Fe^{2+} adicionadas inicialmente, a extração do arsênio foi menos expressiva do que na condição com 2,5g/L. Tal extração diminuiu com o tempo do experimento, sendo mais expressiva nos ensaios com as maiores concentrações de Fe^{2+} inicial. Isto sugere a formação de precipitados contendo arsênio e, possivelmente íons férricos, o que resultou na diminuição

da concentração de arsênio em solução. Logo, a remoção do arsênio em solução durante o ensaio não reduz a eficiência da bio-oxidação do concentrado com o tempo.

Os valores da concentração de ferro ao longo do processo corroboram com os resultados da extração do arsênio e com a suposição de formação de precipitados férricos, conforme apresentado na Figura 6.8.

Figura 6.8. Variação da concentração de Fe_{total} (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), pH 1,8, 32°C e em diferentes concentrações de Fe^{2+} , nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – controle (linha tracejada).



Fonte: próprio autor.

Na Figura 6.8, a concentração de Fe_{total} diminui com o tempo de experimento e observa-se uma relação entre o aumento da concentração de Fe^{2+} adicionada com a diminuição da concentração de ferro solúvel. Na pesquisa conduzida por Nie et al. (2014), foi constatado que a eficiência da lixiviação é aumentada gradualmente com o aumento da concentração inicial de Fe^{2+} (0g/L, 3g/L, 6g/L e 9g/L), mas diminuiu à medida que a concentração aumentou para 12g/L e 15g/L. No presente estudo, a hipótese da diminuição do conteúdo dos íons férricos em

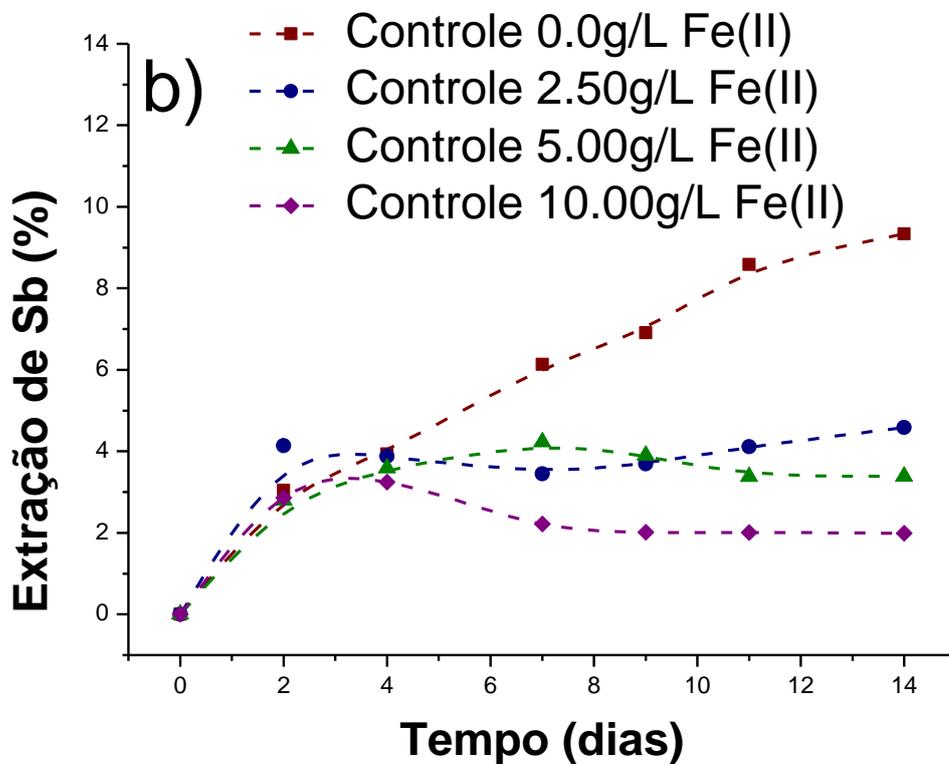
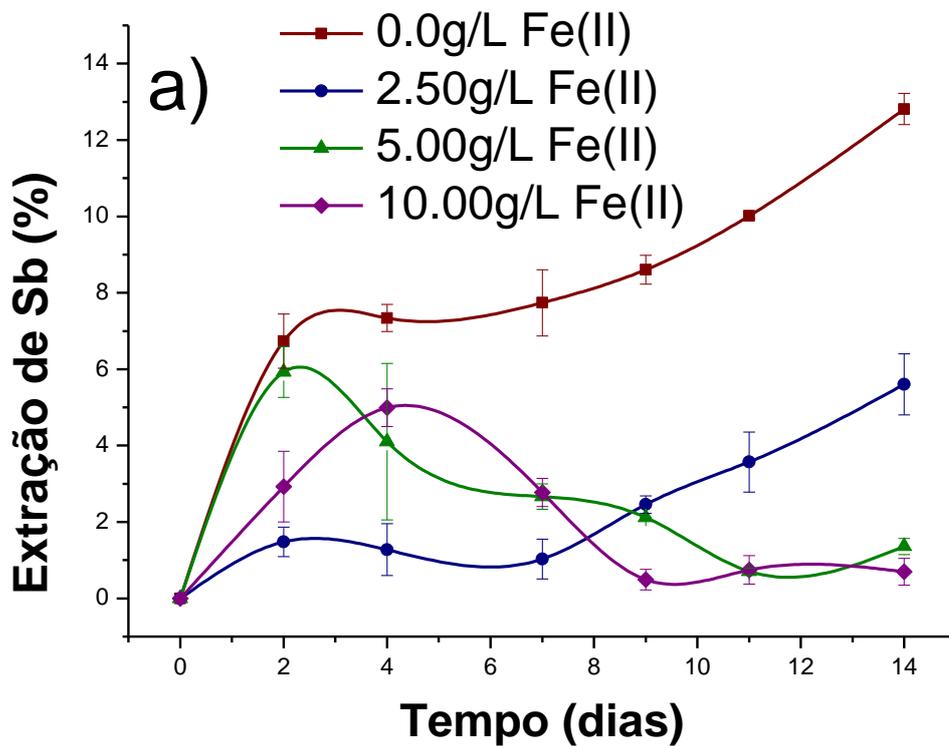
solução devido à formação de precipitados, foi confirmada pela análise de DRX (sessão 6.2.1). De qualquer forma, a concentração de 2,5g/L de Fe^{2+} foi selecionada para os ensaios seguintes onde os efeitos do pH e da densidade da polpa na bio-oxidação do concentrado sulfetado foram analisados.

As Figuras 6.9 ((a) e (b)) trazem a evolução do percentual de extração de antimônio para diferentes concentrações iniciais de Fe^{2+} . Os resultados dos ensaios inoculados (Figura 6.8(a)) revelaram que a extração de antimônio atingiu, ao final do processo, 12,8%, 5,6%, 1,4% e 0,7% para as concentrações iniciais de Fe^{2+} iguais a 0g/L, 2,5g/L, 5g/L e 10g/L, respectivamente. Neste sentido, o papel dos micro-organismos na lixiviação do antimônio não foi evidenciado, uma vez que as extrações deste elemento não foram expressivas em relação às condições não inoculados (Figura 6.8(b)). Os valores de extração, ao final dos ensaios não inoculados, conduzidos com 0,0g/L, 2,5g/L, 5,0g/L e 10,0g/L de Fe^{2+} foram iguais a 9,3%, 4,6%, 3,4% e 2,0%, respectivamente. Torma e Gabra (1977), em seus estudos sobre bio-oxidação de 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 por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, verificaram a baixa extração de antimônio tanto para os ensaios inoculados (3,1%) como para os ensaios não inoculados (0,36%). 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 sistemas inoculados e não inoculados, alcançando valores iguais a 1,42% e 0,71%, respectivamente. Contudo, no sistema inoculado, foi observada redução da concentração de antimônio a partir do 7º dia de ensaio, alcançando 0,87% de extração de Sb ao final do experimento (35º dia). Além disso, no presente estudo, foi possível indicar uma relação entre o aumento da concentração de Fe^{2+} inicial e o favorecimento da geração de precipitados contendo antimônio, tanto para as condições inoculadas como para as não inoculadas. Ao revisar a literatura, verificou-se uma escassez de estudos sobre a solubilidade do antimônio em soluções sulfúricas e o favorecimento da formação de precipitados em altas concentrações de ferro ferroso. Em seus estudos, Torma e Gabra (1977) e Luptakova et al. (2008), fizeram uma breve discussão sobre a baixa solubilidade deste metal em solução e a possibilidade de formação de óxidos insolúveis de antimônio ($(\text{SbO})_2\text{SO}_4$ e $(\text{SbO}_2)_2\text{SO}_4$), mas não há relatos conclusivos pelos autores em condições de bio-oxidação sobre tal relação e a

possível formação de precipitados de ferro contendo antimônio. No entanto, no presente estudo, os resultados inferem a baixa solubilidade do antimônio.

Não há indícios que o as concentrações de antimônio solúvel alcançadas neste estudo interferiram no crescimento da população bacteriana. Uma vez que mesmo com a concentração máxima atingida neste estudo (60mg/L), na condição sem adição de ferro(II), a população bacteriana manteve-se em 10^8 células/mL. O mesmo foi indicado com Torma e Gabra (1977), para quem a concentração de 1300mg/L não inibiu o crescimento da *At. ferrooxidans*.

Figura 6.9. Variação da extração de antimônio (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), pH 1,8, 32°C e em diferentes concentrações de Fe^{2+} , nos ensaios inoculado (a) e não inoculado – controle (b).



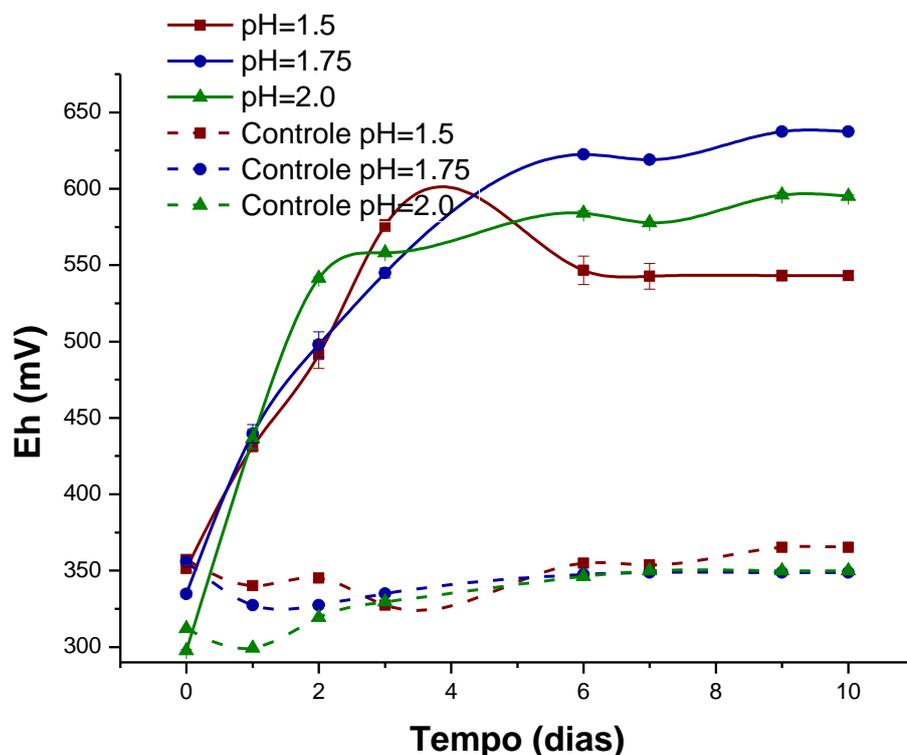
Fonte: Próprio autor.

Concluindo, a partir dos resultados de extração de arsênio, adição de Fe^{2+} , na forma de sulfato ferroso apresentou uma concentração ótima, em 2,5g/L. A baixa dissolução do elemento na condição “sem adição de ferro ferroso” indicam a necessidade da adição deste substrato durante a bio-oxidação do concentrado sulfetado por *At.ferrooxidans*. Já as baixas concentrações de arsênio para 5g/L e 10g/L Fe^{2+} , parecem estar ligadas, basicamente, à precipitação da jarosita.

6.2.2. Influência do pH

Foram também realizados ensaios para verificar o efeito do pH na bio-oxidação do concentrado sulfetado. Nestes ensaios, as condições utilizadas foram: concentração inicial de Fe^{2+} igual a 2,5g/L, pH controlado nos valores: 1,5, 1,75 e 2,0, porcentagem de sólidos de 1,5% (m/v). A Figura 6.10 mostra a evolução do Eh nas condições de pH testadas.

Figura 6.10. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v) em condições com adição de 2,5 g/L de Fe^{2+} , 32°C e em diferentes valores de pH (1,5; 1,75 e 2,0), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – Controle (linha tracejada).

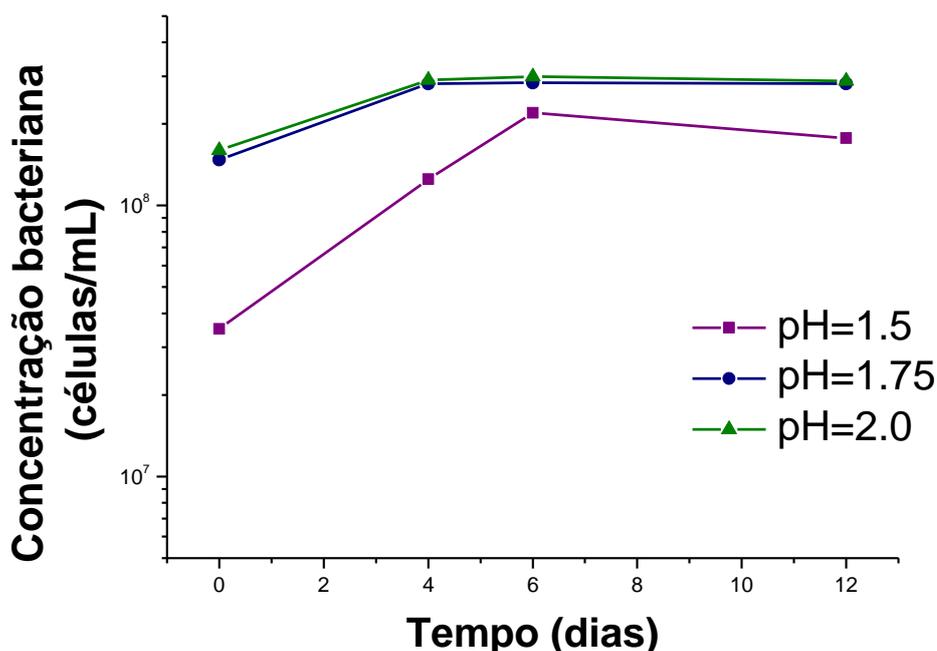


Fonte: Próprio autor.

Como esperado, os experimentos inoculados apresentaram valores de Eh superiores àqueles não inoculados. A evolução do Eh com o tempo nos sistemas inoculados apresentou estabilidade a partir do sexto dia e manteve-se constante até o fim do experimento, alcançando valores finais entre 540mV a 640mV, com o maior valor para pH 1,75. Já os sistemas não inoculados apresentaram Eh praticamente constante durante todo o experimento, alcançando valores finais de aproximadamente 350mV, indicando a ausência de atividade microbiana.

A Figura 6.11 apresenta a influência do pH na população bacteriana. Observa-se que o crescimento bacteriano é desfavorecido em pH 1,5, quando comparado com as demais condições, com valores acima de 10^8 células/mL. De acordo com Kim et al. (2008), em pH 1,5 a atividade bacteriana da espécie *At. ferrooxidans* é inibida. Em pH 1,75 e 2,00 a população bacteriana apresentou comportamento similar. Os resultados da concentração bacteriana corroboram com os valores de Eh, uma vez que em pH 1,5, observam-se os menores valores (ensaios inoculados), tanto para o Eh quanto para a concentração bacteriana. Em pH 1,75 e 2,0, os valores de Eh e concentração bacteriana foram semelhantes.

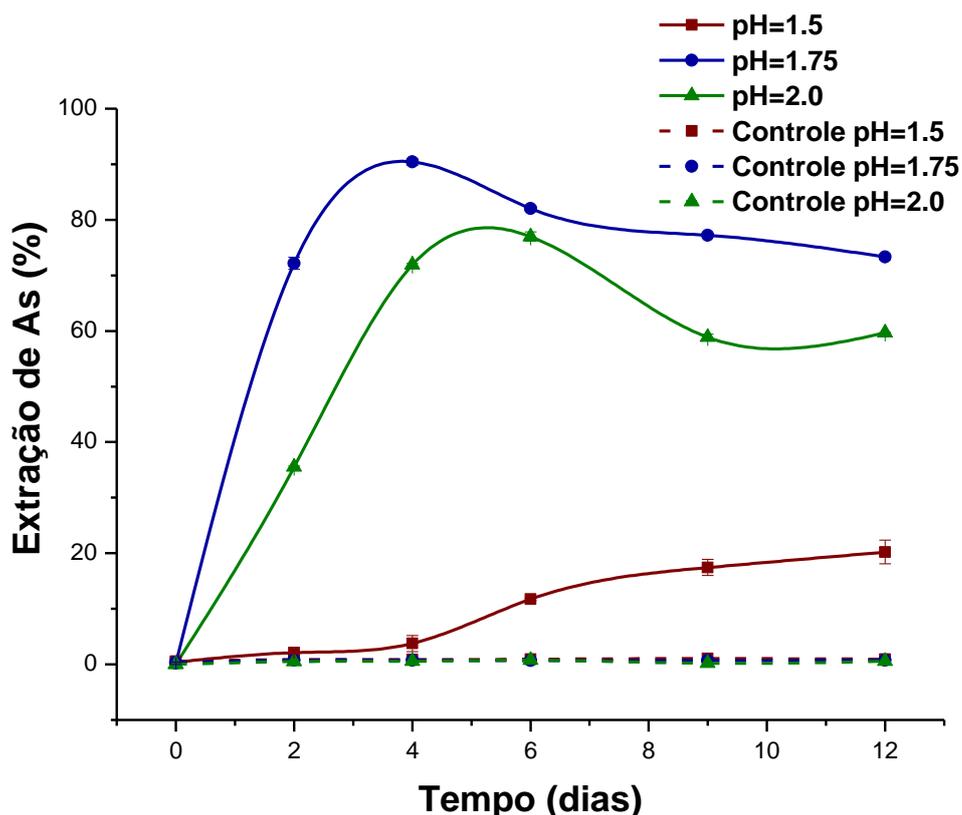
Figura 6.11. Perfil do crescimento bacteriana (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v) em condições de adição de $2,5\text{g/L Fe}^{2+}$, 32°C e diferentes valores de pH.



Fonte: Próprio autor.

A evolução da lixiviação de arsênio em função do tempo em vários valores de pH é exibido na Figura 6.12.

Figura 6.12. Variação da extração de arsênio (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), em condições com adição de 2,5 g/L de Fe^{2+} , 32°C e em diferentes valores de pH (1,5; 1,75 e 2,0), nos ensaios inoculado (linha cheia) e não inoculado – Controle (linha tracejada).



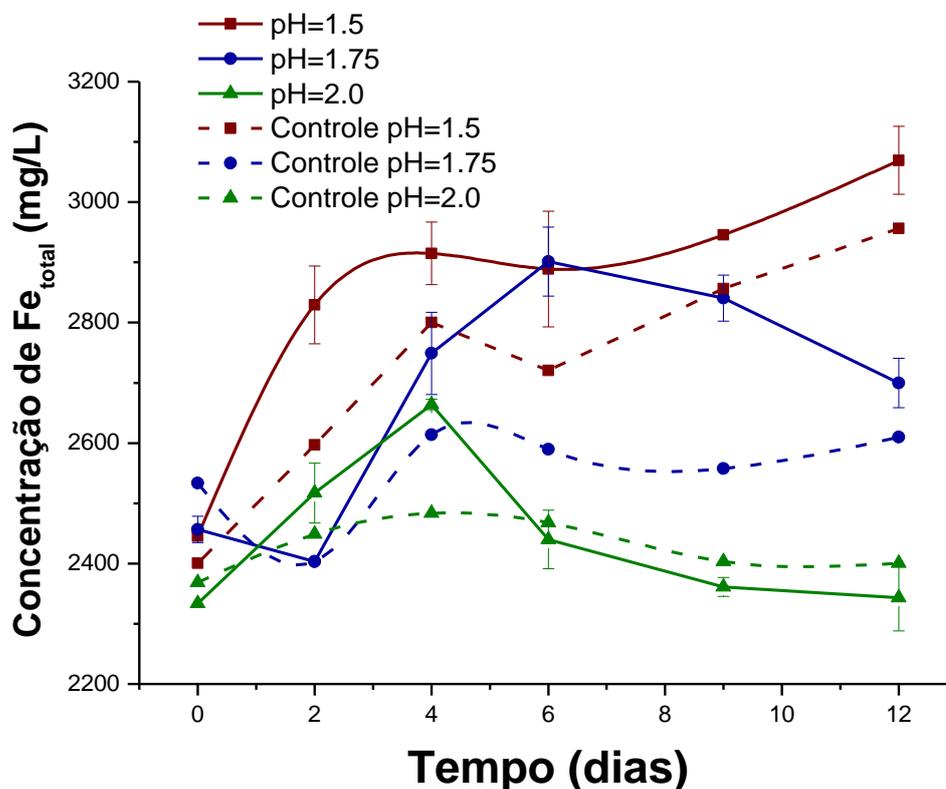
Fonte: Próprio autor.

A influência do pH na oxidação biológica do concentrado foi constatada tanto na cinética de dissolução, quanto na precipitação de arsênio (Figura 6.12). A redução na solubilização do arsênio e ferro (Figura 6.13) a partir dos dias 4 e 6 nas condições testadas com os valores de pH 1,75 e 2,00, respectivamente, na presença de micro-organismo, pode estar associada à formação de precipitados contendo o metal, tais como arsenato férrico e jarosita contendo arsênio, conforme relatado por Nazari et al. (2014) e Tuovinen et al. (1994). O ensaio conduzido em pH 1,75 apresentou os melhores resultados durante todo o experimento, alcançando 90% no quarto dia, o que é condizente com os valores de Eh medidos (Figura 6.10). Nos ensaios conduzidos em pH 1,50, a baixa solubilização do metal pode ser atribuída

à condição desfavorável para o crescimento microbiano, conforme a Figura 6.11. O mesmo foi relatado por Jiang et al., (2008), ao estudar o efeito do pH na oxidação da arsenopirita onde a oxidação atinge o seu máximo em 80%, em pH 1,8. Quando o pH testado foi de 1,5 e 3,0, a oxidação ficou em cerca de 10%. Verificou-se que quando o pH era de 1,5 o Eh permanece baixo durante todo o processo de biolixiviação, indicando uma dificuldade para a sobrevivência bacteriana. E quando o pH era de 3,0, embora as bactérias estivessem vivas, os autores relataram a formação de jarosita. Além disso, em pH 1,8, o Eh da solução era maior e o Fe^{3+} dificilmente depositado, o que favorecem a oxidação de As(III) a As(V) e consequentemente, a oxidação da arsenopirita (JIANG et al., 2008).

As concentrações de ferro total em função do tempo em vários valores de pH são mostrados na Figura 6.13.

Figura 6.13. Variação da concentração de Fe_{total} (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), com adição de 2,5 g/L de Fe^{2+} e em diferentes valores de pH (1,5; 1,75 e 2,0), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – Controle (linha tracejada).

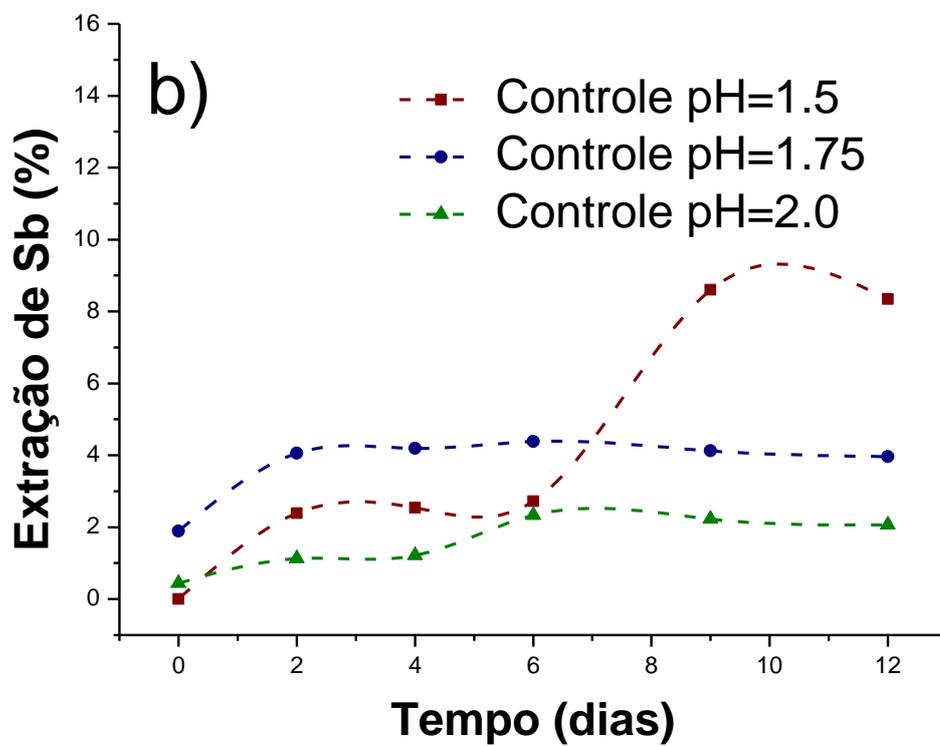
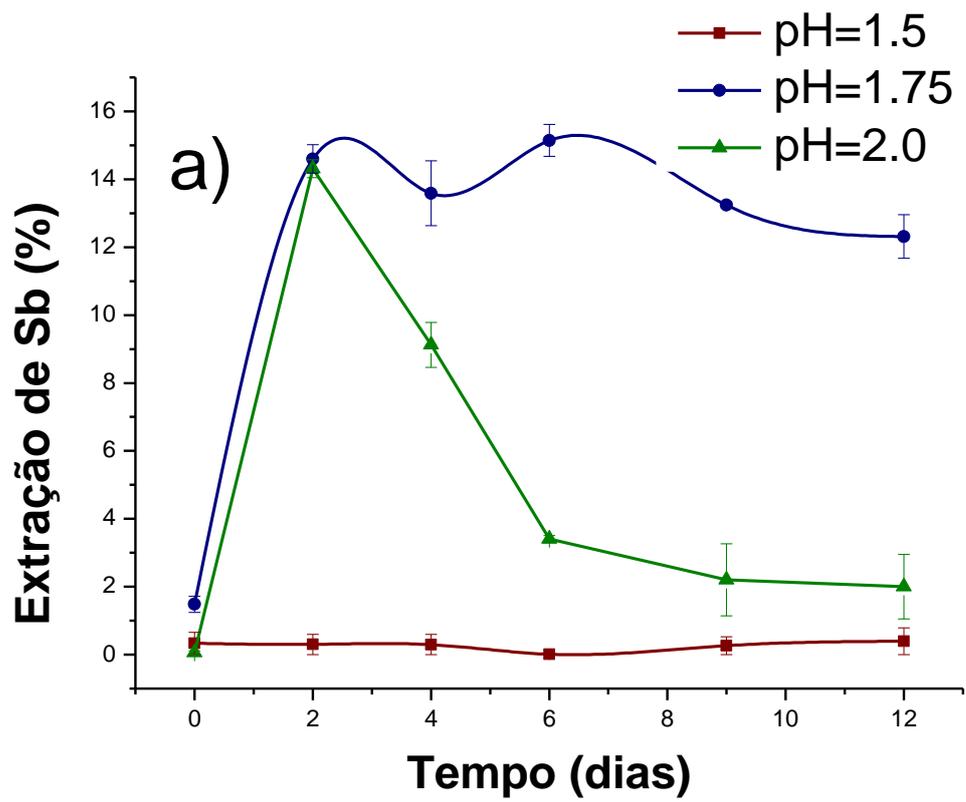


Fonte: próprio autor.

Os resultados de concentração de ferro corroboram com as extração de arsênio (Figura 6.12), uma vez que, em pH 1,75 e pH 2,0, houve uma redução da concentração de ferro em solução, embora em pH 1,5, não tenha havido a diminuição da concentração do metal. Tais resultados confirmam que quanto maior o valor do pH mais favorável é a formação de precipitados férricos contendo arsênio, conforme observado por Cassity e Pesic (1999) em estudos de biolixiviação de arsenopirita e cobaltita. Segundo os autores as concentrações de ferro e arsênio dissolvidos foram praticamente nulos devido a formação de precipitados.

A evolução da extração de antimônio, para diferentes valores de pH, está apresentada nas Figuras 6.14 ((a) e (b)). As extrações finais de antimônio para os ensaios na presença do micro-organismo em pH 1,5, 1,75 e 2,0 foram iguais a 0,4%, 12,3% e 2,0%, respectivamente. Apesar das condições inoculados com valores de pH 1,75 e 2,0 apresentarem valores de extrações maiores do que as do ensaio não inoculado, os valores de extração de Sb não foram expressivos. Logo, verifica-se que, assim como no ensaio da influência da concentração de Fe^{2+} , não foi possível confirmar a atuação dos micro-organismos na lixiviação de antimônio. As baixas concentrações indicam uma baixa solubilidade do elemento em sistemas ácidos de bio-oxidação. Entretanto, observa-se que a maior extração de antimônio, em pH 1,75, coincide com a de arsênio, indicando que o mineral foi bio-oxidado. Na condição de pH 2, a extração atingiu o seu máximo no segundo dia de ensaio, aproximadamente, 14% e ao final do experimento, a mesma caiu para 2,0%, evidenciando a possível formação de precipitados contendo antimônio, que está de acordo com a variação da concentração de ferro em solução (Figura 6.13). Além disso, verifica-se que os valores de pH tem efeitos diferente nos sistemas inoculados e não inoculados, uma vez que na condição inoculado com pH de 1,5 a extração foi de aproximadamente 0%, já na condição não inoculada com o mesmo valor de pH, atingiu-se a maior extração dos sistemas não inoculado, 9%. Nos sistemas inoculados, isto pode estar relacionado com o pH desfavorável para o crescimento bacteriano conforme já apresentado na Figura 6.11.

Figura 6.14. Variação da extração de antimônio (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), adição de 2,5g/L de Fe^{2+} , 32°C e diferentes valores de pH (1,5; 1,75 e 2,0), nos ensaios inoculado (a) e não inoculado – controle (b).



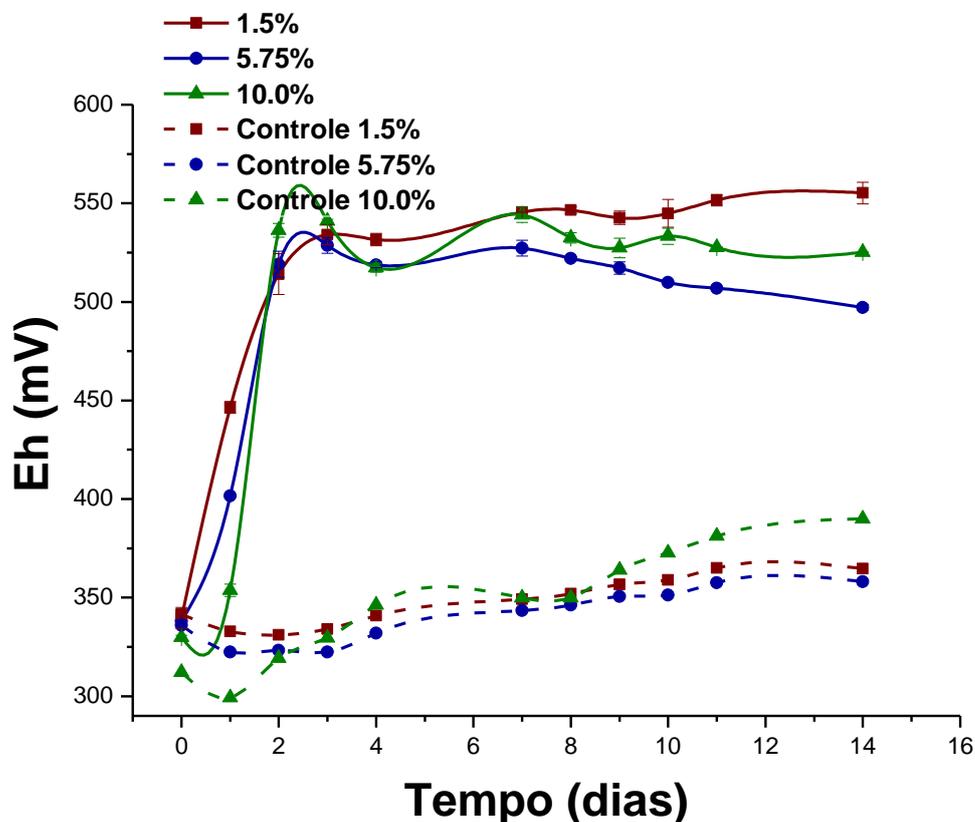
Além disso, ao relacionar a população bacteriana (Figura 6.11) com as concentrações de antimônio solúvel, verifica-se que este elemento não inibiu o crescimento bacteriano. Uma vez que na condição em pH 1,75 que resultou na máxima concentração de antimônio, aproximadamente 69mg/L, houve um crescimento exponencial da população de *At. ferrooxidans*, com concentração celular da ordem de 10^8 células/mL.

Em síntese, a variável pH apresenta um valor ótimo para a oxidação do concentrado sulfetado, em torno de 1,75. A condição de pH 2 apresentou-se satisfatória, mas devido a formação de precipitados os valores de extração de arsênio podem ter sido subvalorizados. Por outro lado, a condição de pH de 1,5 desfavorece o crescimento do microrganismo e, por conseguinte a dissolução do sulfeto.

6.2.3. Influência do percentual de sólidos

Foram também realizados ensaios para verificar o efeito da densidade de polpa sobre a oxidação do concentrado sulfetado. Nestes ensaios, as condições utilizadas foram: concentração de Fe^{2+} igual a 2,5g/L, pH igual a 1,8 e densidades de polpa iguais a 1,5%, 5,75% e 10% (m/V), sendo que os valores de Eh obtidos para as três diferentes densidades de polpa são apresentados na Figura 6.15.

Figura 6.15. Variação do Eh com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, 32°C, adição de 2,5g/L de Fe^{2+} e em diferentes percentuais de sólido (1,5%; 5,75% e 10,0%), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – controle (linha tracejada).

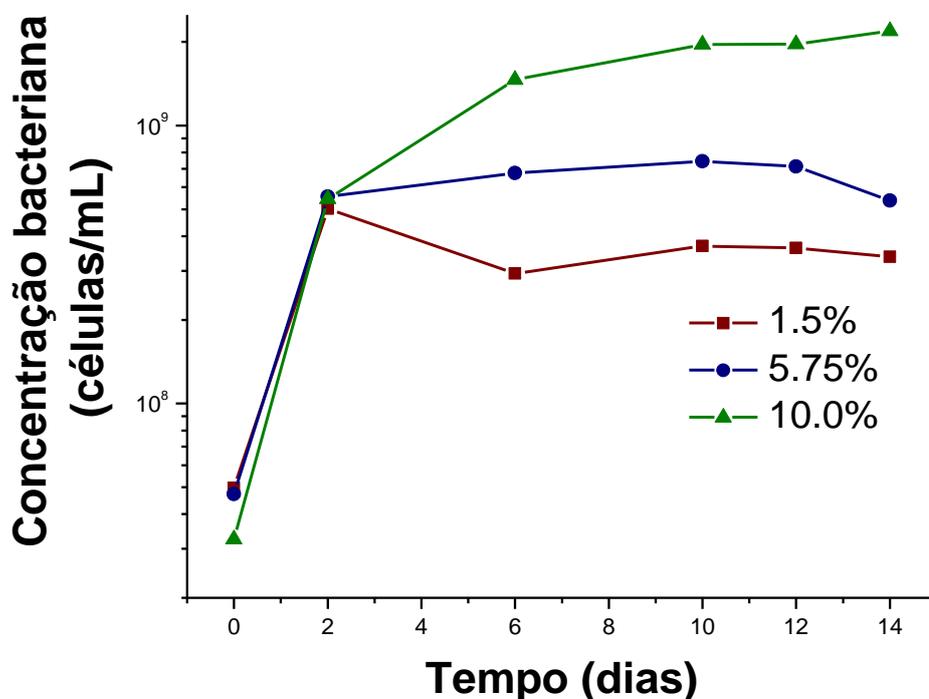


Fonte: Próprio autor.

Como observado no estudo das outras variáveis, as condições bióticas testadas apresentaram valores de Eh expressivamente superiores às condições conduzidas na ausência de micro-organismos, evidenciando a bio-oxidação do íon ferroso. A evolução do Eh com o tempo nos sistemas na presença de micro-organismos apresentou aumento acentuado até o terceiro dia de ensaio, sugerindo que a atividade microbiana de oxidação do íon ferroso iniciou-se rapidamente, como também já observado. A partir do terceiro dia, para todas as condições inoculadas, o Eh manteve-se constante durante todo o experimento, alcançando valores de cerca de 500mV. Já as condições não inoculadas apresentaram valores de Eh praticamente constante durante todo o experimento, inferiores a 400mV, indicando a ausência ou baixa atividade microbiana. Entretanto, a densidade de polpa afeta pouco os valores de potencial redox, conforme observado por Zhang et al. (2008), em estudos de biolixiviação de pirita usando *At. ferrooxidans*.

O crescimento bacteriano não foi afetado pelo aumento do conteúdo de sólidos no sistema, pelo contrário, houve um aumento na população, conforme apresentado na Figura 6.16. Inicialmente a concentração bacteriana, para todas as condições, foi na ordem de 10^7 células/mL e até o 2º dia de ensaio a concentração celular apresentou resultados similares em todas as condições experimentais. Ao passo que, a partir do 2º dia de ensaio houve distinção do perfil da concentração bacteriano das variável estudada. Foi observado que ao final do ensaio conduzido com 10% (m/v) de sólido atingiu a ordem de 10^9 células/mL, já as demais condições alcançaram a ordem de 10^8 células/mL. De acordo com Novo et al. (2000) e Ciftci e Akcil (2010), a espécie *At. ferrooxidans* possui como característica fisiológica marcante a resistência a elevadas concentrações de íons metálicos. Esse aspecto é de grande interesse prático no processo bio-hidrometalúrgico, ao passo que a concentração de metais aumenta, gradativamente, no decorrer do processo de bio-oxidação.

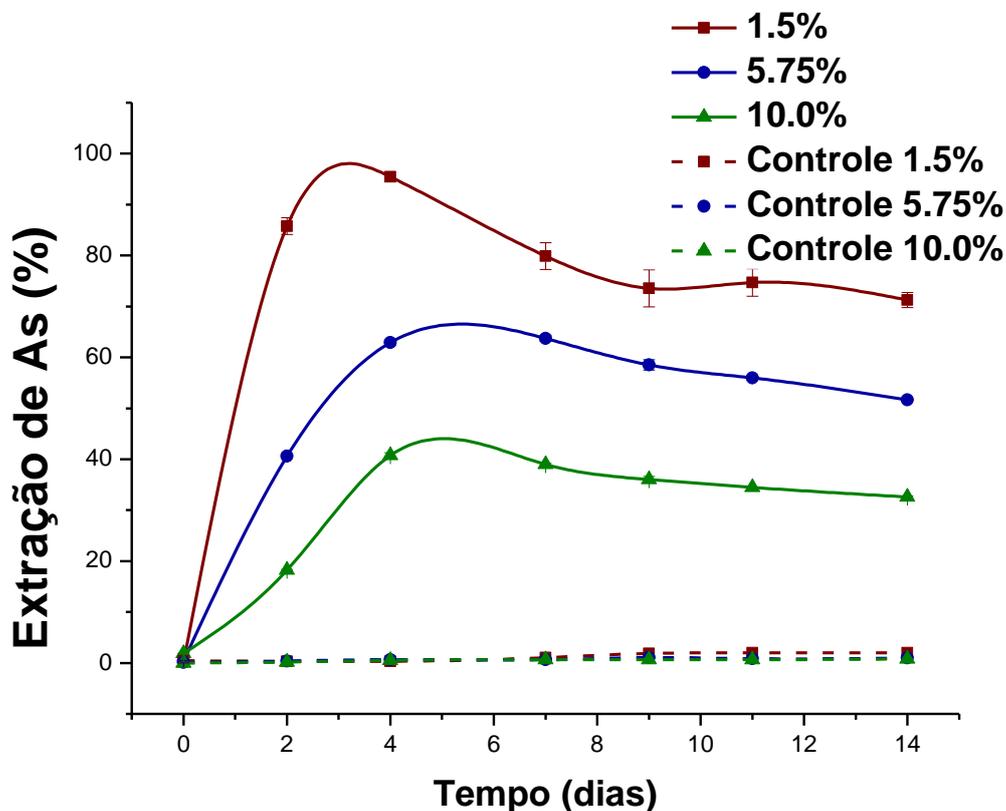
Figura 6.16. Perfil do crescimento bacteriana (células/mL) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: em condições de pH 1,8, 32°C, adição de 2,5g/L de Fe^{2+} e em diferentes percentuais de sólido (1,5%; 5,75% e 10,0%).



Fonte: Próprio autor.

Por outro lado, conforme apresentado na Figura 6.17 a densidade de polpa afetou significativamente os níveis de oxidação do concentrado sulfetado, uma vez que a extração de arsênio foi reduzido pela metade com o aumento da densidade da polpa. A extração máxima de arsênio no quarto dia de ensaio atingiu 95%, 62% e 40%, para os percentuais de sólidos de 1,5%, 5,75% e 10%, respectivamente. Vale ressaltar que há mais sólido nas condições com percentuais de sólido de 5,75% e 10% do que com 1,5%, logo, sugere-se que um maior tempo de duração do ensaio poderia levar a melhores resultados nestas condições. Resultados semelhantes também foram obtidos por Deng et al. (2000), em estudo com minério refratário de ouro, contendo majoritariamente pirita e arsenopirita. Para densidades de sólido até 10% (m/v), os autores reportaram que as extrações de arsênio foram crescentes com o aumento da densidade de polpa, 90%, 78% e 68% para os percentuais de sólido de 5%, 7% e 10%, respectivamente. No entanto, para densidade de polpa maior que 10% (m/v), os autores verificaram que a eficiência da lixiviação da pirita era reduzida devido o elevado conteúdo de sólidos presente, o que dificulta a transferência de oxigênio e dióxido de carbono na fase aquosa. Ao estudar a bio-oxidação de um concentrado refratário de ouro por uma cultura mista de bactérias mesófilas (*At. ferrooxidans*, *At. thiooxidans* e *L. ferrooxidans*) Ciftci e Akcil (2010) também reportaram que a extração de ferro e arsênio diminuíram com o aumento do percentual de sólido.

Figura 6.17. Variação da extração de arsênio (%) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: 1,5% de sólido (m/v), pH 1,8, 32°C, adição de 2,5,0 g/L de Fe^{2+} e em diferentes percentuais de sólido (1,5%; 5,75% e 10,0%), nos ensaios inoculado (linha cheia) e não inoculado – Controle (linha tracejada).

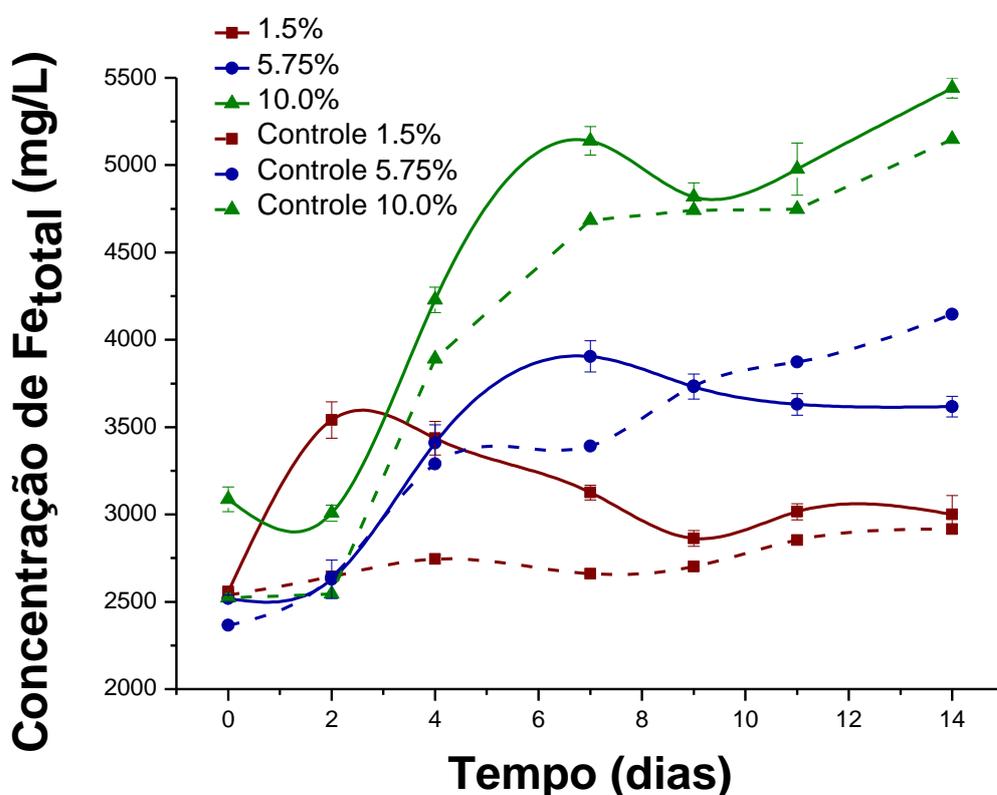


Fonte: Próprio autor.

Na Figura 6.18, são apresentados os resultados da evolução da concentração de ferro total para os diferentes percentuais de sólido avaliados. Observa-se que, na presença de micro-organismos com 1,5% (m/v) e 5,75% (m/v) de sólidos, há um declínio da concentração de ferro total em solução, evidenciando a formação de precipitado. Além disso, nessas condições, a cinética da dissolução do ferro é semelhante a do arsênio (Figura 6.17). Por outro lado, na condição biótica com 10% (m/v) de sólidos, a concentração de ferro em solução ainda não se estabilizou, sendo de aproximadamente 10 vezes maior do que a concentração com 1,5% (m/v) de sólidos. Nos ensaios com densidade de polpa de 10% (m/v) as concentrações de ferro para as condições inoculadas e não inoculadas estão próximas. Isso sugere que a formação de jarosita não foi significativa nesta condição, pois espera-se uma maior concentração de Fe^{3+} nos ensaios inoculados, devido o maior Eh (Figura 6.15), provavelmente devido a baixa extração de arsênio (Figura 6.16). Além disso, esses resultados

corroboram com a evolução da população bacteriana (Figura 6.16), uma vez que o íon ferroso é substrato para o crescimento do *At. ferrooxidans* e observa-se comportamento semelhante entre a concentração de ferro e a população bacteriana, ou seja, maior população para maior densidade de polpa.

Figura 6.18. Variação da concentração de Fe_{total} (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, adição de 2,5g/L de Fe^{2+} e em diferentes percentuais de sólido (1,50%; 5,75% e 10,00%), nos ensaios inoculados (linha cheia) e não inoculados – controle (linha tracejada).

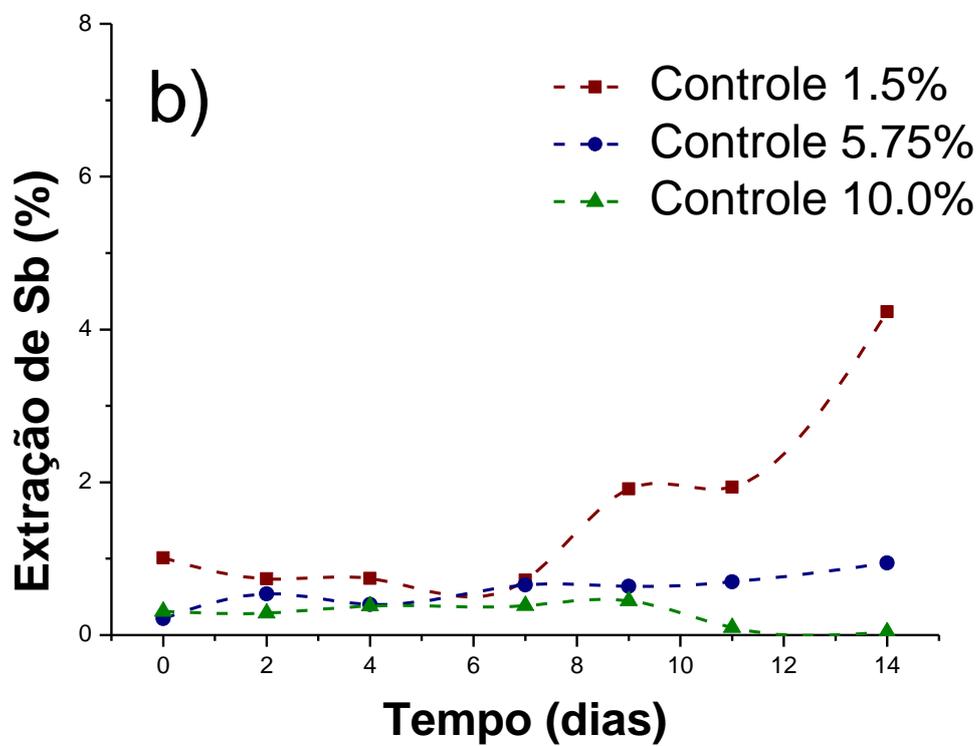
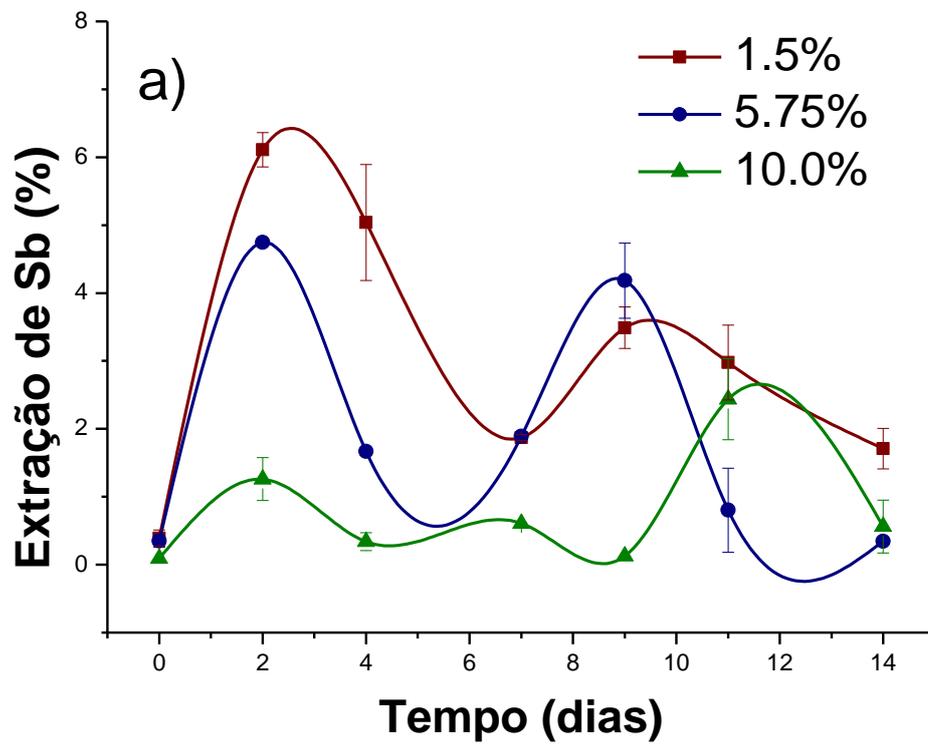


Fonte: Próprio autor.

A evolução da extração de antimônio para diferentes percentuais de sólido, está apresentada nas Figuras 6.19 ((a) e (b)). As extrações finais de antimônio acompanharam as extrações de arsênio, para os ensaios com percentual de sólidos de 1,5%, 5,75% e 10% foram iguais a 1,7%, 0,56% e 0,30%, respectivamente. As condições inoculadas apresentaram valores de extrações maiores do que as condições não inoculadas, no entanto os valores de extração não foram significativos quando comparados as extrações de arsênio. As maiores extrações, tanto para o ensaio controle, como para a condição inoculada, foi obtida com 1,5% de sólidos. Essa

é a menor densidade de polpa gerou maior dissolução do mineral e com isso maior liberação do antimônio.

Figura 6.19. Variação da concentração de Fe_{total} (mg/L) com o tempo nos ensaios de bio-oxidação do concentrado sulfetado. Condições experimentais: pH 1,8, adição de 2,5g/L de Fe^{2+} e em diferentes percentuais de sólido (1,50%; 5, 75% e 10,00%), nos ensaios inoculados (a) e não inoculados – Controle (b).



Fonte: Próprio autor.

Em síntese, a variável percentual de sólidos apresenta um valor ótimo para a oxidação do concentrado sulfetado em 1,5% (m/v). Contudo, os outros valores estudados (5,75% (m/v) e 10% (m/v)), possuem mais sólido para ser oxidado, logo, sugere-se um tempo maior para que a bio-oxidação atinja 95% de extração de arsênio, conforme obtido com 1,5% (m/v). Por outro lado, para a realização de experimentos de bio-oxidação em escala semi-piloto, a densidade de polpa de 10% (m/v) é a mais indicada, visando o processo de ampliação para uma possível aplicação industrial.

6.3. Caracterização dos resíduos obtidos nos ensaios de bio-oxidação

Durante a bio-oxidação de sulfetos minerais, os minerais sofrem alteração, podendo ocorrer o aparecimento de novas fases (amorfas ou cristalinas) em função do aumento de elementos na solução lixiviante ou o desaparecimento de minerais presentes na amostra original. Os resíduos dos ensaios de bio-oxidação conduzidos no presente estudo foram submetidos a análises por difração de raios-X e microscopia eletrônica de varredura.

6.3.1. Difração de raio-X

A difração de raio-X é uma técnica de caracterização de estruturas cristalinas bastante difundida e largamente utilizada para a caracterização dos produtos minerais em estudos de biomineração (HORTA, 2008). Esse tipo de informação, associada aos resultados dos parâmetros físico-químicos dos meios lixiviantes, pode colaborar na interpretação dos fenômenos e mecanismos envolvidos nestes estudos.

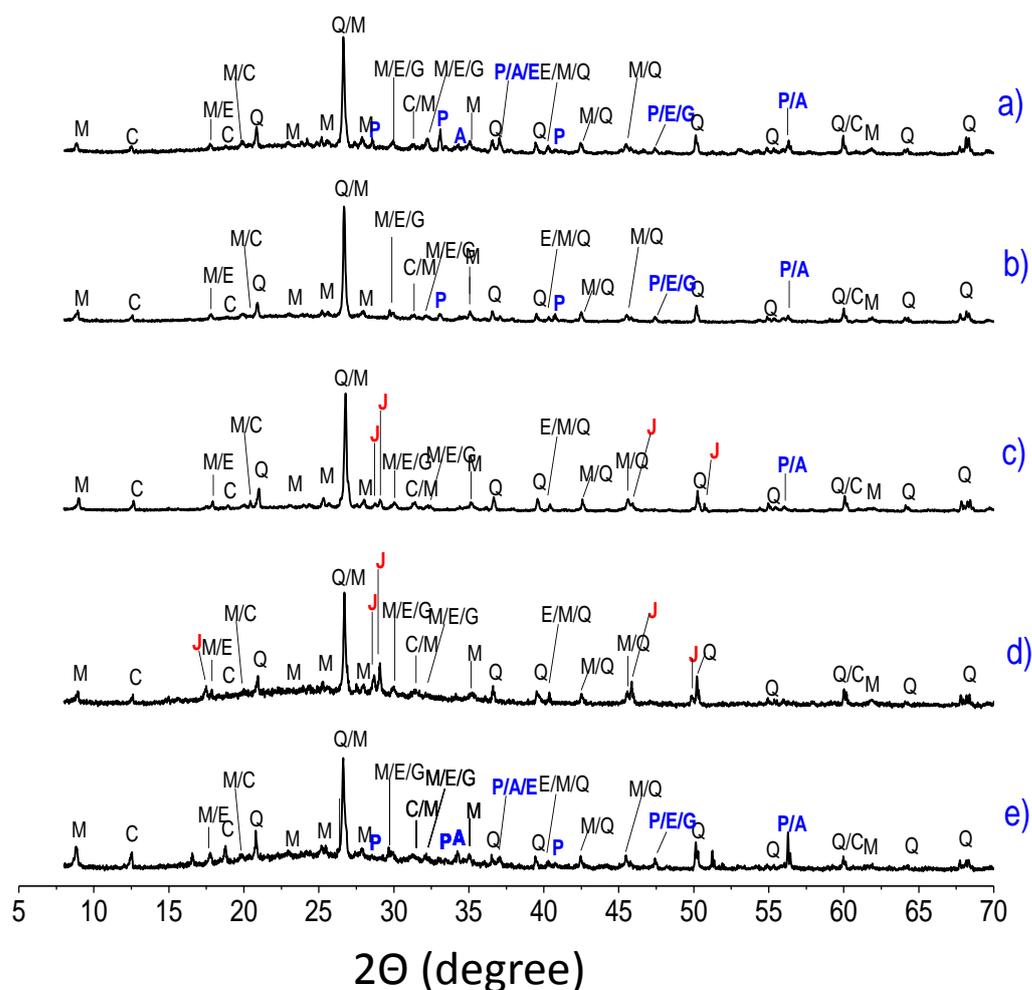
A amostra original Figura 6.1 contém os sulfetos: arsenopirita (FeAsS), pirita (FeS₂), gudmundita (FeSbS) e estibinita (Sb₂S₃); além de silicatos, quartzo (SiO₂), muscovita (KAl₂Si₃AlO₁₀(OH,F)₂) e clorita ((Mg,Al,Fe)₁₂(Si,Al)₈O₂₀(OH)₁₆). A seguir somente os picos identificados como sulfetos serão analisados para fins de comparação do desaparecimento de espécies minerais em relação à amostra original.

Os difratogramas de Raio-X dos produtos da bio-oxidação por *At. ferrooxidans*, após 15 dias do ensaio, quando foi analisado a influência da concentração inicial de Fe²⁺ na oxidação dos sulfetos são apresentados na Figura 6.20. Foram utilizados os produtos dos ensaios inoculados

com *At. ferrooxidans* e a condição sem a presença de micro-organismos. A condição não inoculada apresentada é equivalente a condição inoculada que apresentou a maior extração de arsênio. Observa-se que, assim como mostrado pelos ensaios de extração de arsênio, os resultados de DRX também confirmam a importância da concentração deste íon na oxidação dos sulfetos.

Todos os picos de sulfetos detectados no difratograma da amostra inicial foram também observados no difratograma da condição sem a adição de sulfato ferroso, ou seja aqueles localizados nas posições 28,57° (P), 33,09° (P), 34,03° (A) 37,04° (A/P/E), 40,30° (P/A), 47,39° (P/E/G) e 56, 31° (P/A), enquanto que nas condições suplementadas com sulfato ferroso, observa-se uma relação entre o aumento da concentração de ferro e a redução dos picos destas mesmas fases minerais, ou seja, quanto maior a concentração de Fe^{2+} adicionado menos picos dos sulfetos foram identificados.

Figura 6.20. Difração de raios – X. a) produto da bio-oxidação sem adição de Fe^{2+} ; b) produto da bio-oxidação com 2,5g/L de Fe^{2+} ; c) produto da bio-oxidação com 5,0g/L de Fe^{2+} ; d) produto da bio-oxidação com 10,0g/L de Fe^{2+} ; produto da bio-oxidação controle (não-inoculado) na presença de 2,5g/L de Fe^{2+} . A: arsenopirita; C: clorita; E:estibinita; G, gudmundita; J: jarosita; M: muscovita; P: pirita; Q: quartzo.



Fonte: Próprio autor.

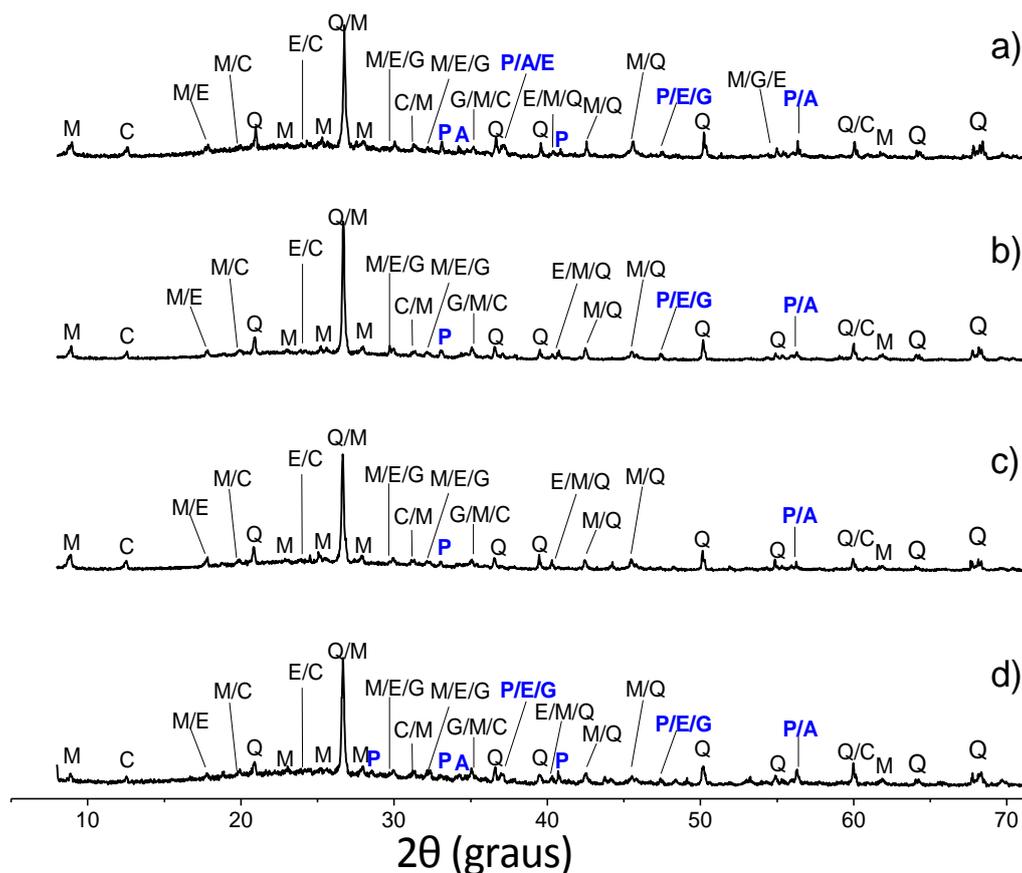
Vale ressaltar, que há também uma relação entre o aumento da concentração de sulfato ferroso e a formação de jarosita. As condições sem adição de sulfato ferroso (Figura 6.20(a)) e com 2,5g/L (Figura 6.20(b)) não favoreceram a formação desta fase secundária. A Figura 6.7 mostra apenas uma pequena queda da concentração de arsênio ao longo do tempo na condição com 2,5g/L de ferro, justificando a não identificação da jarosita neste ensaio. Já nos experimentos realizados com maior concentração de sulfato ferroso 5g/L (Figura 6.20(c)) e 10g/L (Figura 6.20(d)), a queda de arsênio ao longo do experimento foi maior (Figura 6.7) e consequentemente surgiram picos de jarosita nos difratogramas. Nazari et al. (2014),

estudaram a formação de jarosita durante a biolixiviação de um minério composto majoritariamente por pirita utilizando a *At. ferrooxidans*. Os autores constataram que, a partir de análise de DRX e MEV-EDS que a máxima formação do precipitado férrico ocorreu para a máxima concentração de sulfato ferroso estudada (50g/L), enquanto que o ensaio com a menor concentração do sal (10g/L) foi a que teve a menor formação de precipitados. Nesta dissertação, ao confrontar os resultados da extração do arsênio com os resultados de DRX, pode-se relacionar o aumento da concentração inicial de Fe^{2+} com o favorecimento da formação de jarosita, que por sua vez diminuiu o rendimento do processo de bio-oxidação. Komnitsas e Pooley (1991) relataram que a formação de jarosita durante a bio-oxidação leva a um maior consumo de cianeto na fase de lixiviação do metal precioso, em experimentos com baixo teor de sólidos (5% m/v), o que justifica o uso de baixas concentrações do sal.

Já a condição não inoculada e com adição de 2,5g/L de Fe^{2+} (Figura 6.17(e)), assim como esperado para todos os ensaios não inoculados, os picos são idênticos aos da amostra original, sem desaparecimento dos sulfetos e sem surgimento de jarosita, corroborando com os resultados de extração de arsênio.

Os difratogramas de Raio-X dos produtos da bio-oxidação por *At. ferrooxidans*, após 11 dias, dos ensaios onde foi analisado a influência do pH na oxidação de sulfetos são apresentados na Figura 6.21. Foram utilizados os produtos dos ensaios inoculados com *At. ferrooxidans* conduzidas em diferentes valores de pH e um não inoculado. De forma semelhante aos resultados da extração de arsênio, a caracterização dos produtos sólidos ratificou a influência do pH na oxidação de sulfetos na presença de micro-organismos. Exemplificando, na condição com valor de pH 1,5, foram observados todos os picos dos sulfetos presentes na amostra inicial. Na condição de pH 1,75, melhor extração de arsênio, os picos em $28,57^{\circ}(P)$, $34,03^{\circ}(A)$ e $37,04^{\circ}(A/P/E)$ não foram mais detectados. Já na condição com pH 2,00, os picos de sulfetos localizados em $28,57^{\circ}(P)$, $33,09^{\circ}(P)$, $34,03^{\circ}(A)$, $40,30^{\circ}(P/A)$ e $47,39^{\circ}(P/E/G)$ não foram detectados durante a análise. Ao relacionar esses resultados com os da extração de arsênio (Figura 6.12), pode-se verificar que, apesar da extração do metal ter sido mais expressiva em pH 1,75 (90%), do que em pH 2,00 (73%) foram identificados menos picos de sulfetos em pH 2,00 do que em pH 1,75. Apesar do pH 2,00 favorecer a formação de jarosita, conforme afirmado em Daoud e Karamanev (2006) e Kim et al. (2008), neste ensaio não foi identificado tal formação, provavelmente devido a baixa concentração de Fe^{2+} utilizada.

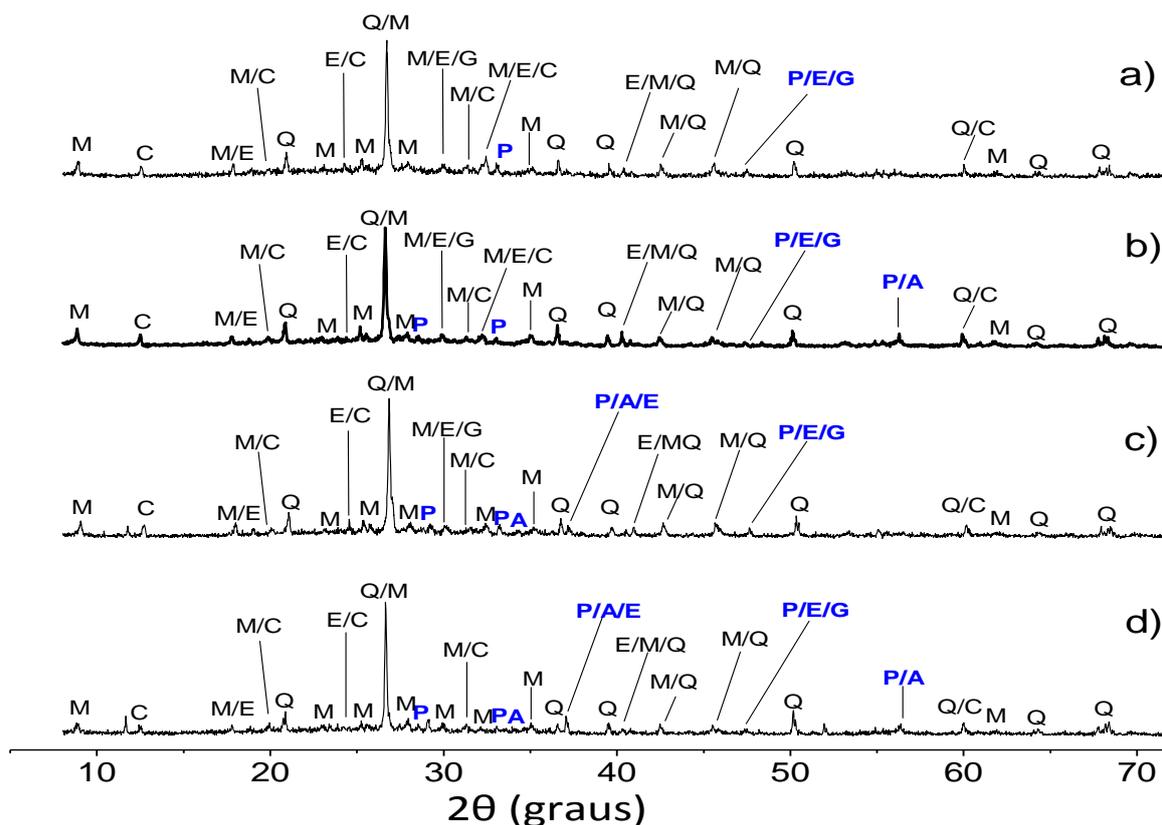
Figura 6.21. Difração de raios - X a) resíduo da bio-oxidação com pH 1,5; b) resíduo da bio-oxidação com pH 1,75; c) resíduo da bio-oxidação com pH 2,0; d) resíduo da condição não inoculada com pH 1,75. A: arsenopirita; C: clorita; E:estibinita; G, gudmundita; M: muscovita; P:pirita; Q: quartzo;



Fonte: Próprio autor.

Os difratogramas de Raio-X dos produtos da bio-oxidação por *At. ferrooxidans*, após 15 dias, dos ensaios onde foi analisado o efeito do percentual de sólidos na oxidação dos sulfetos (concentrado) são apresentados na Figura 6.22.

Figura 6.22. Difração de Raios – X. a) resíduo da bio-oxidação com percentual de 1,5% (m/v); b) resíduo da bio-oxidação com percentual de 5,75% (m/v); c) resíduo da bio-oxidação com percentual de 10,0% (m/v); d) resíduo da condição não inoculada com percentual de 1,5% (m/v). A: arsenopirita; C: clorita; E: estibinita; G: gudmundita; M: muscovita; P:pirita; Q: quartzo.



Fonte: Próprio autor.

Foram utilizados os produtos obtidos nas condições inoculadas com *At. ferrooxidans* em diferentes percentuais de sólidos e a condição com 1,5% (m/v) de sólidos sem a presença de micro-organismos (não inoculado). Verificou-se novamente a correlação entre o percentual de sólidos e as transformações ocorridas nos resíduos, quanto maior o percentual de sólidos menos modificações foram observados nos difratogramas em relação a amostra original (Figura 6.1). O ensaio com 1,5% (m/v) de sólidos foi o que apresentou a maior extração de arsênio foi a que revelou o menor número de picos de sulfetos, localizados nas posições 33,09° (P) e 47,39° (P/E/G), enquanto que, na condição com 5% (m/v), foram identificados os picos 28,57° (P), 33,09° (P), 47,39° (P/E/G) e 56,31° (P/A). Apesar da condição com 10%

(m/v) ter alcançado uma extração de arsênio de aproximadamente 41%, uma consequência do maior conteúdo do material no erlenmeyer, apenas o pico localizado na posição 56,31° (P/A) desapareceu. No ensaio não inoculado foram identificados todos os picos presentes na amostra original 28,57° (P), 33,09° (P), 34,03° (A), 37,04° (A/P/E/), 47,39° (P/E/G) e 56,31° (P/A). Em todos os ensaios não foram identificados a formação de jarosita, provavelmente devido a baixa concentração de Fe^{2+} .

6.3.2. Microscopia Eletrônica de Varredura/EDS

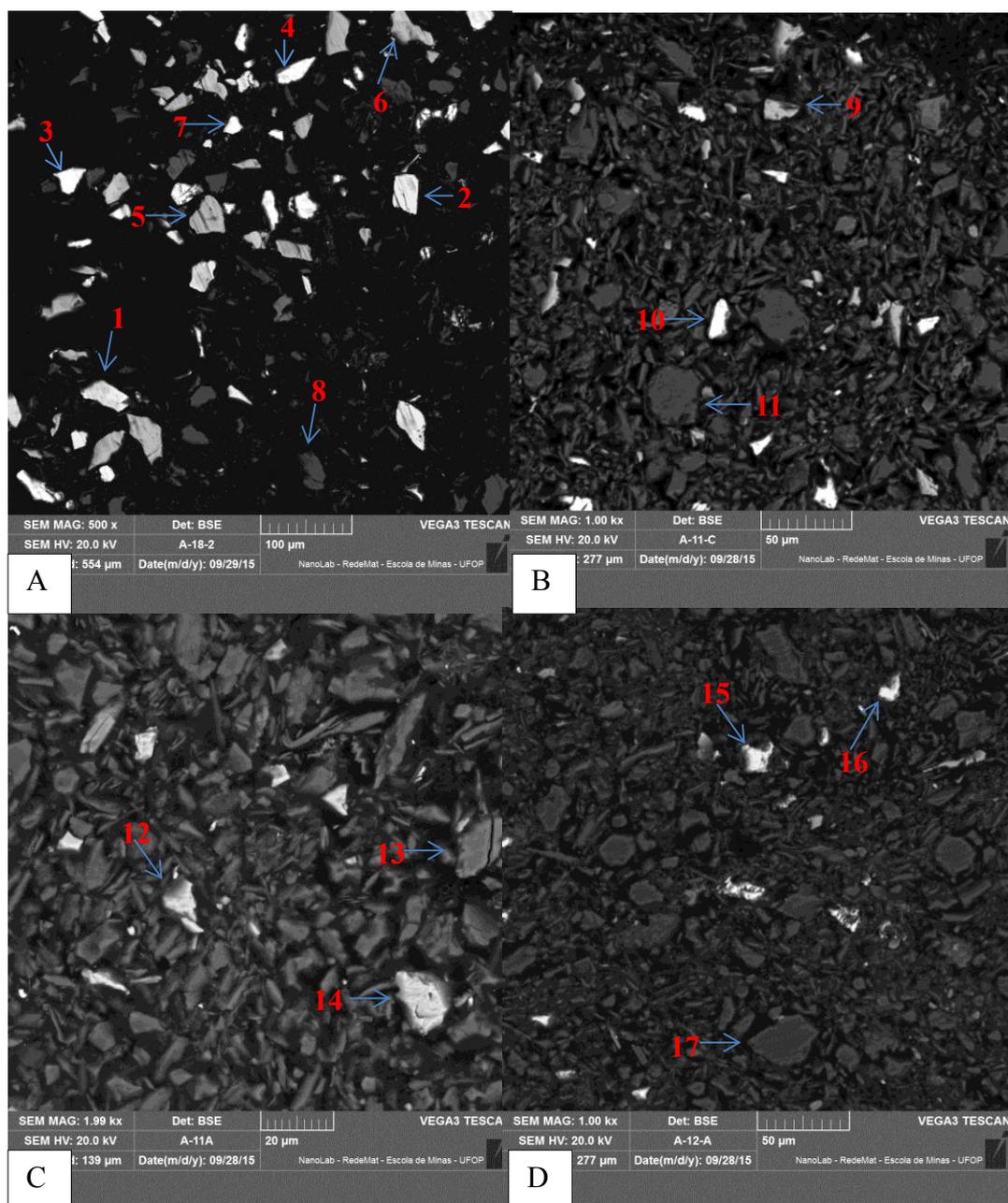
Esta técnica permite uma observação geral e qualitativa do que ocorreu no processo de bio-oxidação da amostra sulfetada. Alguns tratamentos que apresentaram maior solubilização de arsênio, ou que ainda requerem uma investigação, foram submetidos a análise por microscopia eletrônica de varredura acoplada ao sistema de espectroscopia por energia dispersiva.

Os resultados das análises microscópicas pontuais conduzidas em MEV-EDS corroboram com as do DRX, pois foram identificados pirita (FeS_2), arsenopirita (FeAsS), estibinita (Sb_2S_3), gudmundita (FeSbS), silicatos e quartzo na amostra do concentrado sulfetado. Estes resultados podem ser observados na Figura 6.2 (a e b) e na Tabela 6.1.

Os resultados de MEV-EDS dos produtos sólidos do ensaio de bio-oxidação no qual foi avaliada a influência da concentração inicial de ferro ferroso podem ser vistos na Figura 6.23((a), (b), (c) e (d)) e tabela 6.3, exceto a condição sem adição de Fe^{2+} que se apresentou ser ineficiente na extração de arsênio. As características do material sólido produzido no ensaio não inoculado (Figura 6.23(a)), não indicam mudanças na estrutura dos sulfetos em relação a amostra inicial (Figura 6.1), e pode-se identificar facilmente os grãos dos minerais sulfetados, mesmo após 14 dias de lixiviação na temperatura de 32°C e pH 1,80. Foi também observado, nas condições inoculadas (Figura 6.23((b), (c) e (d))), que os grãos de pirita e arsenopirita não são muito recorrentes ou sofreram diminuição do tamanho em relação a amostra inicial (Figura 6.1). Esse fato justifica os maiores valores de extração do arsênio para as condições inoculadas (Figura 6.12). Já os sulfetos de antimônio são mais frequentes e apresentam morfologia similar aos grãos presentes no controle (não inoculado), uma vez que são pouco susceptíveis à bio-oxidação. Torma e Gabra (1977), em seus estudos sobre oxidação de estibinita (Sb_2S_3) com *Acidithiobacillus ferrooxidans*, detectaram por meio de análise de DRX a formação de óxidos insolúveis de antimônio ($(\text{SbO})_2\text{SO}_4$ e $(\text{SbO}_2)_2\text{SO}_4$). No

presente estudo, a formação de tais compostos não foi detectada, apesar dos resultados alcançados sugerirem a hipótese da baixa solubilidade do antimônio em meio ácido. No entanto, ao contrário da análise de DRX, não foram observadas novas fases nos resíduos obtidos após os ensaios de bio-oxidação a partir da análise de MEV-EDS. O mesmo comportamento foi observado por SILVA (2011), em seu estudo sobre o efeito da adição de nanopartículas, polares e apolares, na biolixiviação da calcopirita por *At. ferrooxidans*. O autor não detectou a formação de fases secundárias, como jarosita, na análise MEV-EDS e a presença de bactérias contribuiu para a redução das dimensões dos grãos do sulfeto estudado e consequentemente uma maior extração de cobre.

Figura 6.23. Microscopia eletrônica de varredura (MEV). a) produto da bio-oxidação sem micro-organismos e utilizando-se 10g/L de Fe(II); b) produto da bio-oxidação com micro-organismos, utilizando-se 2,5g/L de Fe(II) c) produto da bio-oxidação com micro-organismos utilizando-se 5g/L de Fe(II); d) produto da lixiviação com micro-organismos utilizando-se 10g/L de Fe(II).



Fonte: Próprio autor.

Tabela 6.3. Análise química semi-quantitativa dos produtos da bio-oxidação por EDS (em%-massa)

| Ponto | Massa (%) | | | | | | | |
|-------|-----------|----|----|----|----|----|----|----|
| | Fe | S | As | Sb | Si | O | Mg | Al |
| 1 | 34 | 20 | 40 | - | - | - | - | - |
| 2 | 34 | 21 | 43 | - | - | - | - | - |
| 3 | 12 | 28 | - | 55 | - | - | - | - |
| 4 | 12 | 28 | - | 54 | - | - | - | - |
| 5 | 44 | 52 | - | - | - | - | - | - |
| 6 | 47 | 50 | - | - | - | - | - | - |
| 7 | - | 27 | - | 69 | - | - | - | - |
| 8 | - | - | - | - | 22 | 49 | - | 20 |
| 9 | 56 | 38 | - | - | - | - | - | - |
| 10 | 14 | 20 | - | 42 | - | - | - | - |
| 11 | - | - | - | - | 38 | 30 | - | 9 |
| 12 | - | 23 | - | 33 | - | - | - | - |
| 13 | 40 | - | - | - | - | 41 | 17 | - |
| 14 | 50 | 40 | - | - | - | - | - | - |
| 15 | 14 | 22 | - | 43 | - | - | - | - |
| 16 | 13 | 25 | - | 50 | - | - | - | - |
| 17 | - | - | - | - | 50 | 50 | - | - |

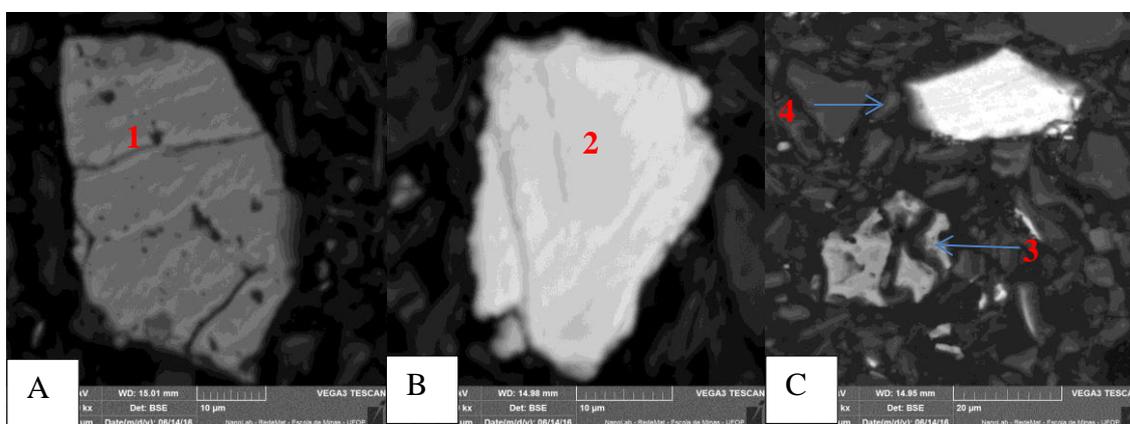
Fonte: Próprio autor.

Observações semelhantes foram verificadas ao estudar o efeito do valor de pH na bio-oxidação da amostra de concentrado. As características do sólido produzido no experimento inoculado com *At. ferrooxidans* tornam-se muito diferentes após o período de incubação em relação ao sólido gerado no ensaio não inoculado e a amostra original. A Figura 6.24 apresenta com maior detalhe cristais de sulfetos presentes nos sólidos residuais dos ensaios onde foi avaliado a influência do pH. Por outro lado, a tabela 6.4 apresenta a análise química semi-quantitativa por EDS dos pontos identificados na Figura 6.24.

Os resultados das extrações de antimônio das variáveis estudadas (Figuras 6.9, 6.14 e 6.19), não evidenciaram o papel dos micro-organismos na lixiviação dos sulfetos de antimônio, como já discutido. Neste sentido, verifica-se que as análises de MEV-EDS corroboram com tais resultados, uma vez que nos ensaios inoculados (Figura 6.24 (c) ponto 4) os sulfetos de antimônio foram identificados com frequência e, na maioria dos casos, com morfologia similar aos encontrados nos ensaios não inoculado (Figura 6.24 (a)). De acordo com Urbano et al. (2008), a refratariedade observada nos sulfetos de antimônio, pode estar relacionada ao efeito de interações galvânicas aliado à baixa solubilidade do antimônio em sistemas ácidos de bio-oxidação, como já citado. Por outro lado, pode-se observar que a partícula de pirita (Figura 6.24 (c), ponto 3) está oxidada na presença de micro-organismos, com fraturas em sua

estrutura, enquanto sua morfologia não foi afetada no ensaio não inoculado (Figura 6.2 (a)), evidenciando o ação da *At. ferrooxidans* neste sulfeto. O mesmo comportamento dos sulfetos dos sulfetos de antimônio foi verificado no ensaio onde foi avaliada a influência do percentual de sólidos.

Figura 6.24. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. a) produto da lixiviação sem micro-organismos em pH 1,75 evidenciando um grão de pirita; b); produto da lixiviação sem micro-organismos em pH 1,75 evidenciando um grão de estibinita; c) produto da bio-oxidação em pH 1,75 evidenciando grão de pirita e gudmundita;



Fonte: Próprio autor.

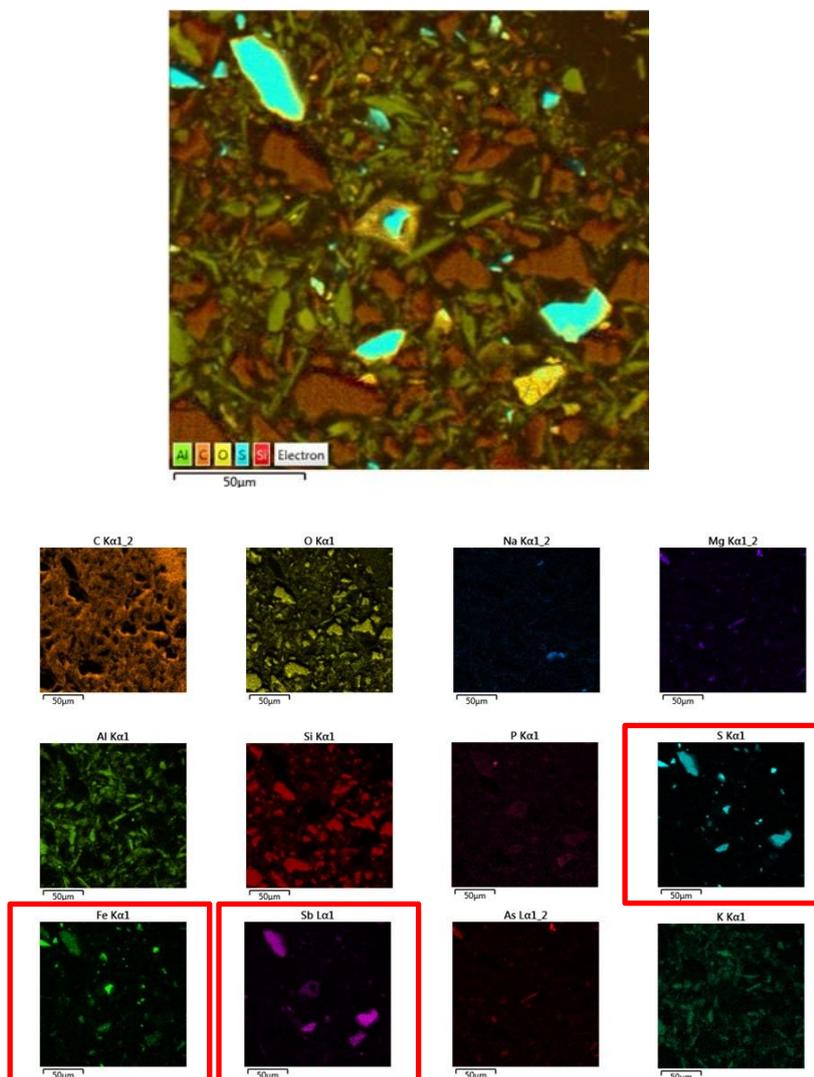
Tabela 6.4. Análise química semi-quantitativa dos produtos da bio-oxidação por EDS (em%-massa)

| Ponto | Massa (%) | | |
|-------|-----------|----|----|
| | Fe | S | Sb |
| 1 | 42 | 50 | - |
| 2 | - | 27 | 70 |
| 3 | 40 | 48 | - |
| 4 | 12 | 27 | 55 |

Fonte: Próprio autor.

A Figura 6.25 apresenta os mapas de distribuição dos elementos na superfície do produto sólido do ensaio de bio-oxidação com 2,5g/L de Fe^{2+} , pH de 1,8 e densidade de polpa de 1,5% (m/v), da série de experimentos onde foi avaliada o efeito do percentual de sólido na bio-oxidação. Após 14 dias, pode-se identificar facilmente os grãos dos sulfetos de antimônio, enquanto o mapeamento do arsênio mostra um ataque aos minerais portadores do elemento. A presença de carbono é devido o revestimento utilizado na preparação da amostra.

Figura 6.25. Imagens de mapas de distribuição dos elementos na superfície do produto da bio-oxidação obtidas por microscopia eletrônica de varredura.



Próprio autor.

6.4. Extração do ouro

Após a determinação dos valores ótimos das variáveis estudadas, concentração de Fe^{2+} , pH e percentual de sólidos, para a amostra do concentrado sulfetado, foram conduzidos ensaios em sistema de garrafas de 10 litros e posterior cianetação do produto bio-oxidado. Nestes ensaios, as condições utilizadas foram: pH igual a 1,8, densidade de polpa igual 10% e concentração inicial de Fe^{2+} iguais a 5,0 g/L. Conforme constatado nos ensaios de bio-oxidação em frascos agitados (Figura 6.17), observa-se a necessidade de um tempo maior de reação nos ensaios conduzidos com maior percentual de sólidos (10%), a fim de aumentar o rendimento de

extração de arsênio. Diante disso, nesta série experimental foram realizados ensaios com tempo de reação iguais a 14 e 40 dias, com o intuito de verificar o efeito desta variável na extração de ouro.

A concentração de 2,5g/L de Fe^{2+} , melhor condição observada nos ensaios em Erlenmeyers, não foi empregada nos ensaios em garrafa, uma vez que o potencial redox alcançou valores próximos a 400mV (em ensaio preliminar), o que mostrou dificuldade de crescimento bacteriano nessa condição. Os micro-organismos não foram capazes de se multiplicarem satisfatoriamente e a concentração celular estabilizou-se em 10^6 cel/mL. No entanto, ao utilizar uma maior concentração (5,0g/L) de Fe^{2+} nestes ensaios, a concentração celular atingiu a ordem de 10^8 cel/mL e o Eh, valores superiores a 500mV, após 8 dias, o que justifica a escolha dessa concentração de Fe^{2+} .

O teor de ouro das amostras de rejeito e concentrado é de aproximadamente 0,64g/t e 78g/t, respectivamente. Os ensaios de cianetação realizados com as amostras sem o pré-tratamento indicaram a extração de 20% do ouro contido no rejeito e 21% a partir do concentrado (tabela 6.5). Com isso, é possível confirmar a refratariedade das amostras em estudo, uma vez que a resposta ao tratamento convencional para a extração de ouro foi pequena. Ciftci e Akcil (2010) estudaram um concentrado de flotação refratário de ouro contendo majoritariamente pirita com teor de ouro igual a 65,6g/t e recuperaram 30% do metal sem o pré-tratamento.

Os resultados dos ensaios de cianetação dos produtos sólidos obtidos na etapa de bio-oxidação, após 14 dias, evidenciam a eficiência desta etapa de pré-tratamento, uma vez que as extrações de ouro obtidas foram de 66% e 62% para o rejeito e o concentrado de flotação, respectivamente. Nos ensaios com duração de 40 dias, a recuperação do ouro foi mais satisfatória, sendo alcançados 85% e 84%, para as amostras de concentrado e rejeito, respectivamente (tabela 6.5). Observações semelhantes foram analisadas por Ubaldini et al. (2000) num processo integrado de bio-oxidação (utilizando cultura mista de *At. ferrooxidans* e *At. thiooxidans*) e cianetação, em escala de bancada, para a recuperação de ouro de pirrotita. Segundo este estudo, foi alcançado 84% de recuperação de ouro, a partir do produto sólido obtido em 7 dias de bio-oxidação. Ao aumentar o tempo da bio-oxidação para 30 dias, a recuperação do metal atingiu 91%.

Tabela 6.5. Recuperação de ouro por cianetação direta e do produto da bio-oxidação.

| Recuperação de ouro | Concentrado (%) | Rejeito (%) |
|------------------------------|------------------------|--------------------|
| Sem bio-oxidação | 21±0,6 | 20±0,1 |
| Após 14 dias de bio-oxidação | 62±1,7 | 66±1,1 |
| Após 40 dias de bio-oxidação | 85±0,6 | 84±0,5 |

Fonte: próprio autor.

Os dados listados na tabela 6.5 podem ser justificados pela tabela 6.6, que apresenta os valores finais de extração de arsênio e concentração de ferro nos experimentos em garrafa após 14 e 40 dias. Verifica-se que ao final de 14 dias de ensaio, as extrações de arsênio foram próximas ao do ensaio com 40 dias, ou seja, 33,2% e 37,8%, respectivamente. Além disso, verifica-se que a concentração de ferro total no ensaio com duração de 40 dias é aproximadamente três vezes menor do que o conduzido em 14 dias. Ao observar as Figuras 6.7 e 6.8, verifica-se que a adição de 5g/L de Fe^{2+} no sistema favorece a formação de jarosita (Figura 6.20(d)), resultando na queda das extrações de arsênio e da concentração de ferro total. Logo, apesar das extrações de arsênio serem próximas a baixa concentração de ferro sugere que o arsênio foi oxidado e co-precipitado durante a formação de jarosita, o que explica a maior extração do ouro em 40 dias de ensaio. Estes resultados confirmam a escolha da análise combinada de extração de arsênio e da concentração de ferro total, como um parâmetro indireto na avaliação da oxidação da amostra e recuperação de ouro.

Tabela 6.6. Valores finais de extração de arsênio e concentração de ferro.

| Duração do ensaio de bio-oxidação | Extração final de arsênio (%) | Concentração final de ferro_{total} (g/L) |
|--|--------------------------------------|--|
| 14 dias | 33,2 | 3,7 |
| 40 dias | 37,8 | 1,4 |

Fonte: próprio autor.

7. CONCLUSÕES

Neste trabalho, a bio-oxidação por *Acidithiobacillus ferrooxidans* possibilitou a recuperação satisfatória do ouro presente em uma amostra de concentrado refratário. Por outro lado, também foi possível alcançar bons resultados de recuperação do metal de uma amostra de rejeito de flotação produzido a partir do mesmo minério que gerou o concentrado. Logo, os resultados evidenciam a eficiência da bio-oxidação para futuras aplicações industriais dos materiais estudados.

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. Fato semelhante ocorre com os sulfetos de antimônio presentes (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 inoculados e não inoculados. Com isso, dentre os constituintes dos sulfetos presentes na amostra, o arsênio foi o íon mais estável em solução, e por isso foi utilizado para a análise da influência dos parâmetros testados na oxidação do concentrado.

A suplementação com sulfato férrico nos sistemas de bio-oxidação com o concentrado e rejeito refratário foi necessária, uma vez que o uso de 2,5g/L de Fe^{2+} promoveu um aumento de oito vezes na extração de arsênio em relação à condição sem a adição externa de ferro. A condição “sem adição de Fe^{2+} ” resultou em crescimento bacteriana atípico, pois não foi observada a fase de crescimento exponencial, resultando em valores de Eh inferiores, quando comparado às demais condições inoculadas. Além disso, a técnica de DRX também aponta o papel positivo da adição de íons Fe^{2+} na oxidação dos sulfetos.

Os resultados de extração de arsênio indicam que o pH 1,75 é o ideal para a bio-oxidação do concentrado sulfetado, uma vez que apresentou cerca de 90% de extração no quarto dia do ensaio. Por outro lado, em pH 2,0 a redução na concentração de Fe_{total} e arsênio durante o experimento sugeriu a formação de precipitados.

O percentual de sólido não apresentou efeito significativo nos valores de potencial redox. A população bacteriana foi afetada por esse parâmetro, pois o maior percentual de sólido provocou um aumento na população bacteriana, provavelmente devido ao aumento da

concentração íons ferrosos (resultante da solubilização da amostra) na solução. Já na extração de arsênio a densidade da polpa teve efeito contrário, uma vez que a mesma foi reduzida à metade quando a densidade da polpa foi elevada de 1,5% (m/v) para 10% (m/v).

O antimônio não apresentou efeito inibitório no crescimento da *At. ferrooxidans*, no entanto a sua extração foi baixa. Através das análises de MEV e EDS constatou-se que os sulfetos de antimônio apresentam baixa susceptividade 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.

Os ensaios de cianetação realizados com as amostras bruta indicaram 20% de extração do ouro contido no rejeito e 21% do metal contido no concentrado. As condições ótimas, pré-determinadas em ensaios de bio-oxidação em sistema de frascos agitados (concentração inicial de Fe^{2+} de 2,5g/L; pH 1,75 e 1,5% (m/v) de sólidos), demonstraram ser eficientes, uma vez que os produtos sólidos obtidos na etapa de bio-oxidação em garrafas atingiram 84% e 85% para o rejeito e concentrado de flotação, respectivamente.

Por fim, foi possível constatar o possível aproveitamento do rejeito de flotação como fonte de ouro, a partir de uma técnica considerada econômica e ambientalmente amigável. Em termos gerais, isto contribuirá com a conservação do ambiente, uma vez que possibilita uma redução da lavra de novos depósitos, além da redução do acúmulo de rejeitos nas barragens de contenção.

8. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Realizar os experimentos de bio-oxidação em escala piloto, visando o processo de ampliação para uma possível aplicação industrial para as amostras de rejeito e concentrado de flotação;
- Avaliar a influência da presença de fases secundárias, como a jarosita, no consumo de cianeto;
- 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 da concentração destes elementos tóxicos em solução;
- Estudar o consumo de ácido e cianeto em sistemas de escala piloto;
- Estudar a interação galvânica combinada de arsenopirita, pirita, estibinita e gudmundita.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKCIL, A.; CIFTCI, H.; DEVECI, H. Role and contribution of pure and mixed cultures of mesophiles in bioleaching of a pyritic chalcopyrite concentrate. **Minerals Engineering**, v. 20, p. 310–318, 2007.

ARROYAVE G., D. M.; GALLEGOS S., D.; MÁRQUEZ G., M. A. Evaluation of residence time distribution and mineralogical characterization of the biooxidation of sulfide minerals in a continuous stirred tank reactor. **Minerals Engineering**, v. 46-47, p. 128–135, 2013.

ASTA, M. P.; CAMA, J.; MARTÍNEZ, M.; GIMÉNEZ, J. Arsenic removal by goethite and jarosite in acidic conditions and its environmental implications. **Journal of Hazardous Materials**, v. 171, n. 1-3, p. 965–972, 2009.

AZEVEDO, R. D. **Caracterização da Diversidade Microbiana em Biorreatores de Biolixiviação de Zinco**, 2008.

BADRI, R.; ZAMANKHAN, P. Sulphidic refractory gold ore pre-treatment by selective and bulk flotation methods. **Advanced Powder Technology**, v. 24, n. 2, p. 512–519, 2013.

BEVILAQUA, D.; LAHTI-TOMMILA, H.; GARCIA, O.; PUHAKKA, J. A.; TUOVINEN, O. H. Bacterial and chemical leaching of chalcopyrite concentrates as affected by the redox potential and ferric/ferrous iron ratio at 22°C. **International Journal of Mineral Processing**, v. 132, p. 1–7, 2014.

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.

BHAKTA, P.; ARTHUR, B. Heap bio-oxidation and gold recovery at newmont mining: First-year results. **Jom**, v. 54, p. 31–34, 2002.

BORBA, R. P.; FIGUEIREDO, B. R.; CAVALCANTI, J. A. Arsênio na água subterrânea em Ouro Preto e Mariana, Quadrilátero Ferrífero (MG). **Rem: Revista Escola de Minas**, v. 57, n. 1, p. 45–51, 2004.

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

BRIERLEY, J. A.; BRIERLEY, C. L. Present and future commercial applications of biohydrometallurgy. **Process Metallurgy**, v. 9, p. 81–89, 1999.

BRYAN, C. G.; WATKIN, E. L.; MCCREDDEN, T. J.; et al. The use of pyrite as a source of lixiviant in the bioleaching of electronic waste. **Hydrometallurgy**, v. 152, p. 33–43, 2015.

CHANDRA, A. P.; GERSON, A. R. The mechanisms of pyrite oxidation and leaching: A

- fundamental perspective. **Surface Science Reports**, v. 65, n. 9, p. 293–315, 2010.
- 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. . Hidrometalurgia. **Tedências Tecnológicas Brasil 2015**. p.157–175, 2007.
- CRAW, D.; WILSON, N.; ASHLEY, P. M. Geochemical controls on the environmental mobility of Sb and As at mesothermal antimony and gold deposits. **Applied Earth Science: IMM Transactions section B**, v. 113, n. 1, p. 3–10, 2004.
- CRUNDWELL, F. K. How do bacteria interact with minerals? **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 75–81, 2003.
- CRUZ, J.; REYES, V. E.; VELOZ, M. A.; GONZÁLEZ, I.; URBANO, G. Pyrite-arsenopyrite galvanic interaction and electrochemical reactivity. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, n. 28, p. 10453–10461, 2008.
- DAOUD, J.; KARAMANEV, D. Formation of jarosite during Fe 2 + oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. , v. 19, p. 960–967, 2006.
- DENG, T. L. I.; LIAO, M. X.; CHEN, M. H. W. Y.; BELZILE, N. Investigations of accelerating parameters for the biooxidation of low-grade refractory gold ores. , v. 13, n. 14, p. 1543–1553, 2000.
- DENG, T.; LIAO, M. Gold recovery enhancement from a refractory flotation concentrate by sequential bioleaching and thiourea leach. **Hydrometallurgy**, v. 63, n. 3, p. 249–255, 2002.
- EMBRAPA. **BABAÇU: PROGRAMA NACIONAL DE PESQUISA**. 1984.
- FANTAUZZI, M.; LICHERI, C.; ATZEI, D.; et al. Arsenopyrite and pyrite bioleaching: Evidence from XPS, XRD and ICP techniques. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 401, n. 7, p. 2237–2248, 2011.
- FILELLA, M.; BELZILE, N.; LETT, M. C. Antimony in the environment: A review focused on natural waters. III. Microbiota relevant interactions. **Earth-Science Reviews**, v. 80, p. 195–217, 2007.
- FILELLA, M.; WILLIAMS, P. A.; BELZILE, N. Antimony in the environment: Knowns and unknowns. **Environmental Chemistry**, v. 6, n. 2, p. 95–105, 2009.
- FOMCHENKO, N. V.; MURAVYOV, M. I. Thermodynamic and XRD analysis of arsenopyrite biooxidation and enhancement of oxidation efficiency of gold-bearing concentrates. **International Journal of Mineral Processing**, v. 133, p. 112–118, 2014.
- GARCÍA SÁNCHEZ, J. L.; MOLINA GRIMA, E.; GARCÍA CAMACHO, F.; SÁNCHEZ

- PÉREZ, J. A; LÓPEZ ALONSO, D. La biolixiviación al comienzo del siglo XXI. **Revista de Metalurgia**, v. LIX, n. c, p. 121–129, 2001.
- GHAHN, C. S.; SRICHANDAN, H.; KIM, D.; AKCIL, A. Biohydrometallurgy and Biomineral Processing Technology: A Review on its Past, Present and Future. **Research Journal of Recent Sciences**, v. 1, n. 10, p. 85–99, 2012.
- GHASSA, S.; BORUOMAND, Z.; ABDOLLAHI, H.; MORADIAN, M.; AKCIL, A. Bioleaching of high grade Zn–Pb bearing ore by mixed moderate thermophilic microorganisms. **Separation and Purification Technology**, v. 136, p. 241–249, 2014.
- GRANATO, M. Metalurgia extrativa do ouro. **Tecnologia Mineral**, v. 37, 1986.
- HONG, J.; SILVA, R. A.; PARK, J.; et al. Adaptation of a mixed culture of acidophiles for a tank biooxidation of refractory gold concentrates containing a high concentration of arsenic. , v. 121, n. 5, p. 536–542, 2016.
- HORTA, D. G. Influência da adição da espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans* e de íons Cl⁻ na dissolução da calcopirita (CuFeS₂). , 2008.
- JIANG, H.; LAWSON, F. Reaction mechanism for the formation of ammonium jarosite. **Hydrometallurgy**, v. 82, n. 3-4, p. 195–198, 2006.
- JIANG, T.; LI, Q.; YANG, Y. BIN; LI, G. H.; QIU, G. Z. Bio-oxidation of arsenopyrite. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China (English Edition)**, v. 18, n. 6, p. 1433–1438, 2008.
- 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.
- KAKSONEN, A. H.; PERROT, F.; MORRIS, C.; et al. Evaluation of submerged bio-oxidation concept for refractory gold ores. **Hydrometallurgy**, v. 141, p. 117–125, 2014.
- KIM, D.-J.; PRADHAN, D.; PARK, K.-H.; AHN, J.-G.; LEE, S.-W. Effect of pH and Temperature on Iron Oxidation by Mesophilic Mixed Iron Oxidizing Microflora. **Materials Transactions**, v. 49, n. 10, p. 2389–2393, 2008.
- KOMNITSAS.C; POOLEY, F. . Keywords. , v. 4, n. 12, p. 1297–1303, 1991.
- LIU, H.; GU, G.; XU, Y. Surface properties of pyrite in the course of bioleaching by pure culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and a mixed culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 108, n. 1-2, p. 143–148, 2011.
- 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.

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.

MCGUIRE, M. M.; EDWARDS, K. J.; BANFIELD, J. F.; HAMERS, R. J. Kinetics, surface chemistry, and structural evolution of microbially mediated sulfide mineral dissolution. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 65, n. 8, p. 1243–1258, 2001.

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, n. 4, p. 1152–1160, 2014.

NIE, H.; YANG, C.; ZHU, N.; et al. Isolation of *acidithiobacillus ferrooxidans* strain Z1 and its mechanism of bioleaching copper from waste printed circuit boards. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, , n. February, 2014.

NOVO, M. T.; SILVA, A. C. DA; MORETO, R.; et al. *Thiobacillus ferrooxidans* response to copper and other heavy metals: growth, protein synthesis and protein phosphorylation. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 77, p. 187–195, 2000.

OFORI-SARPONG, G.; OSSEO-ASARE, K.; TIEN, M. Mycohydrometallurgy: Biotransformation of double refractory gold ores by the fungus, *Phanerochaete chrysosporium*. **Hydrometallurgy**, v. 137, p. 38–44, 2013.

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

OSPINA, J. D.; RESTREPO, E. M.; OSORNO BEDOYA, L.; MÁRQUEZ, M. A.; LUIS MORALES, A. Biooxidación de concentrados de arsenopirita por *Acidithiobacillus ferrooxidans* en erlenmeyer agitados. (Spanish). **Biooxidation of arsenopyrite concentrates by *acidithiobacillus ferrooxidans* in shake flasks. (English)**, v. 14, n. 1, p. 135–145, 2012.

PAULINO, L. C.; BERGAMO, R. F.; MELLO, M. P. DE; et al. Molecular characterization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *A. thiooxidans* strains isolated from mine wastes in Brazil. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 80, p. 65–75, 2001.

RAWLINGS, D. E. Heavy metal mining using microbes. **Annual review of microbiology**, v. 56, p. 65–91, 2002.

- RODRÍGUEZ, Y.; BALLESTER, A.; BLÁZQUEZ, M. L.; GONZÁLEZ, F.; MUÑOZ, J. A. New information on the pyrite bioleaching mechanism at low and high temperature. **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 37–46, 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.; JOZSA, P. G.; SCHIPPERS, A. (Bio)chemistry of bacterial leaching - direct vs. indirect bioleaching. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 159–175, 2001.
- SANTOS, R. L. C.; SOBRAL, L. G. S.; BARBOSA, L. A. D. Electro-oxidation of gold bearing refractory ores. , 2001.
- 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.
- SEIFELNASSR, A. A. S.; ABOUZEID, A.-Z. M. Exploitation of Bacterial Activities in Mineral Industry and Environmental Preservation: An Overview. **Journal of Mining**, v. 2013, p. 1–13, 2013.
- SHAHVERDI, A. R; YAZDI, M. T; OLIAZADEH, M; DAREBIDI, M. H. BIOOXIDATION OF MOUTEH REFRACTORY GOLD-BEARING CONCENTRATE BY AN ADAPTED THIOBACILLUS FERROOXIDANS. , v. 12, n. 3, p. 209–212, 2001.
- SUN, L. X.; ZHANG, X.; TAN, W. S.; ZHU, M. L. Effects of dissolved oxygen on the biooxidation process of refractory gold ores. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 114, n. 5, p. 531–536, 2012.
- SYED, S. Recovery of gold from secondary sources-A review. **Hydrometallurgy**, v. 115-116, p. 30–51, 2012.
- TORMA, A. ; GABRA, G. . Oxidation of stibnite by A. E. , v. 43, p. 1–6, 1977.
- TSAPLINA, I. A; SOROKIN, V. V; ZHURAVLEVA, A E.; et al. Oxidation of gold-antimony ores by a thermoacidophilic microbial consortium. **Microbiology**, v. 82, n. 6, p. 680–689, 2013.
- TSAPLINA, I. A.; ZHURAVLEVA, A. E.; GRIGOR'EVA, N. V.; et al. Biooxidation of a gold-containing sulfide concentrate in relation to changes in physical and chemical conditions. **Microbiology**, v. 81, n. 3, p. 288–298, 2012.
- TUPIKINA, O. V.; KONDRAT'EVA, T. F.; SAMORUKOVA, V. D.; RASSULOV, V. A.; KARAVAIKO, G. I. Pheno- and genotypic characteristics of *Acidithiobacillus ferrooxidans* strains as affected by physicochemical properties of pyrites. **Hydrometallurgy**, v. 83, n. 1-4, p. 255–262, 2006.

- UBALDINI, S.; VEGLIÒ, F.; BEOLCHINI, F.; TORO, L.; ABBRUZZESE, C. Gold recovery from a refractory pyrrhotite ore by biooxidation. **International Journal of Mineral Processing**, v. 60, n. 3-4, p. 247–262, 2000.
- 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.
- WANG, H.; BIGHAM, J. M.; TUOVINEN, O. H. Oxidation of marcasite and pyrite by iron-oxidizing bacteria and archaea. **Hydrometallurgy**, v. 88, n. 1-4, p. 127–131, 2007.
- WATLING, H. R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides - A review. **Hydrometallurgy**, v. 84, p. 81–108, 2006.
- WATLING, H. R.; SHIERS, D. W.; ZHANG, G. J. Microbial behaviour under conditions relevant to heap leaching: Studies using the sulfur-oxidising, moderate thermophile *Acidithiobacillus caldus*. **Hydrometallurgy**, v. 127-128, p. 104–111, 2012.
- YAHYA, A.; JOHNSON, D. B. Bioleaching of pyrite at low pH and low redox potentials by novel mesophilic Gram-positive bacteria. **Hydrometallurgy**, v. 63, p. 181–188, 2002.
- ZHANG, L.; QIU, G. Z.; HU, Y. H.; et al. Bioleaching of pyrite by *A. ferrooxidans* and *L. ferriphilum*. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China (English Edition)**, v. 18, n. 6, p. 1415–1420, 2008.