LARISSA CARDILLO AFONSO

**BIOLIXIVIAÇÃO DE COBRE A PARTIR DE REJEITO DE PROCESSO DE
FLOTAÇÃO DE CALCOPIRITA EMPREGANDO CONSÓRCIO DE
MICRORGANISMOS**

São Paulo

2017

LARISSA CARDILLO AFONSO

**BIOLIXIVIAÇÃO DE COBRE A PARTIR DE REJEITO DE PROCESSO DE
FLOTAÇÃO DE CALCOPIRITA EMPREGANDO CONSÓRCIO DE
MICRORGANISMOS**

Tese apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutora em Ciências.

Área de Concentração:
Engenharia Química

Orientador:
Profº. Dr. Cláudio Augusto Oller do
Nascimento

São Paulo
2017

Este exemplar foi revisado e corrigido em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

São Paulo, _____ de _____ de _____

Assinatura do autor: _____

Assinatura do orientador: _____

Catálogo-na-publicação

Afonso, Larissa Cardillo

Bioliexiviação de cobre a partir de rejeito de processo de flotação de calcopirita empregando consórcio de microrganismos / L. C. Afonso -- versão corr. -- São Paulo, 2017.

115 p.

Tese (Doutorado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química.

1.Extração de cobre 2.Densidade de polpa 3.Tratamento ácido 4.Hidrometalurgia I.Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Química II.t.

My thesis is written in

www.phdcomics.com

"Piled Higher and Deeper" by Jorge Cham
www.phdcomics.com

Dedico este trabalho à Larissa de 2016.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, minha avó e meus irmãos, por todo amor, carinho, apoio e paciência. Sem vocês não conseguiria terminar esse projeto.

À toda minha grande e linda família, tias-avós, tios, tias e primos, que sempre torceram por mim.

Ao Prof. Cláudio Augusto Oller do Nascimento, obrigada pela oportunidade de realizar esse trabalho.

Ao Prof. René Schneider, obrigada pela co-orientação, mesmo que extraoficialmente.

À Marilda Vianna, obrigada pela amizade e por todo o apoio que você nos deu durante esses anos.

À minha querida amiga Jessica, obrigada pela companhia em todos esses anos de doutorado. Obrigada pelas conversas, os conselhos, os puxões de orelha e por estar sempre disposta a me ouvir. Com certeza sua amizade está entre os melhores presentes que o doutorado me trouxe.

À minha melhor amiga “desde que tínhamos 14 anos”, Paula Chinem. Obrigada por estar ao meu lado, nos momentos bons e ruins. Agradeço muito por ter alguém como você em minha vida. Você é mesmo fantástica!

Obrigada Carminha, por todo suporte que você nos deu durante o período desse trabalho.

Ao Paulo Firmino, obrigada por toda a ajuda com a montagem dos reatores. Você é genial.

Aos amigos que fiz durante esse período no Semi, Rodrigo Ramos, Júlia Ortiz, Leila Leal, Vivian Magalhães, Carlos Rosario, Solange Utimura e Joel dos Santos.

Às minhas amigas de longa data Fernanda Belizário e Carolina Bellão, e aos amigos que fiz no GEnBio, Orlinda Azevedo, Andrea Valéria, Bruno Oishi, Letícia Veloso, Pedro Henrique Oliveira, Kelly Nascimento e Fernanda Bacciotti (a panela mais legal do lab).

À Ana Carolina Fadel, obrigada pela ajuda com as análises de cromatografia iônica.

Ao Nilson Roman e à Rafaela Araújo, obrigada por realizarem as análises químicas no CEPEMA-POLI-USP.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa.

Ao Convênio Vale-USP-BNDES pelo suporte financeiro.

A todos que me ajudaram de alguma maneira na realização desse trabalho, minha eterna gratidão.

RESUMO

AFONSO, L.C. **Biolixiviação de cobre a partir de rejeito de processo de flotação de calcopirita empregando consórcio de microrganismos**. 2017. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Biolixiviação é um processo econômico para a recuperação de metais que exige baixo custo de investimento e operação. Além disso, é geralmente mais ambientalmente amigável do que muitos processos físico-químicos de extração de metal. O presente trabalho visou a extração de cobre a partir de rejeito da etapa *Scavenger* (SCV) de circuito de flotação de calcopirita. Foram realizados ensaios de biolixiviação utilizando o rejeito SCV, que contém em torno de 0,73% de cobre, e um consórcio de microrganismos denominado ABL, selecionado a partir de amostras coletadas na Mina do Sossego. Um tratamento ácido do rejeito foi realizado prévio à biolixiviação para redução de carbonatos. Os ensaios em frascos agitados foram realizados variando-se parâmetros como agitação, densidade de polpa, tamanho de partícula e pH. Os resultados mostraram extração de cobre de 70% para a biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* (100% das partículas com tamanho inferior a 0,045 mm) nas seguintes condições: densidade de polpa de 40% (m/v), agitação de 130 rpm e temperatura 35°C. Ensaios em biorreator tipo batelada com rejeito SCV *Tratado* (82% das partículas com tamanho inferior a 0,045 mm) alcançaram extração de 59% de cobre, resultado parecido ao observado para a biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* em frascos agitados, 55%. Os resultados de extração de cobre encontrados nesse trabalho estão entre os maiores reportados na literatura de biolixiviação de cobre de rejeitos.

Palavras-chave: Extração de cobre. Densidade de polpa. Tratamento ácido. Hidrometalurgia.

ABSTRACT

AFONSO, L.C. **Bioleaching of copper from tailing of chalcopyrite flotation process using microbial consortium. 2017.** Thesis (Doctorate in Chemical Engineering) - Polytechnic School, University of São Paulo, São Paulo, 2017.

Bioleaching is an economical process for metal recovery that requires low investment and operational costs. Furthermore, it is in general more eco-friendly than many other physicochemical metal extraction processes. The present work aimed at the extraction of copper from *scavenger* tailing (SCV) of chalcopyrite flotation circuit. Bioleaching tests were carried out using the SCV tailing, which contains around 0.73% of copper, and a microbial consortium called ABL, selected from samples collected at Sossego Mine. An acid treatment of tailings was carried out, prior to bioleaching, to reduce carbonates, which consume acid during the bioleaching. Shake flasks tests were performed by varying parameters such as agitation, pulp density, particle size and pH. The results showed 70% copper extraction for the bioleaching of *Treated Fine Particles* (100% of the particles being smaller than 0.045 mm) under the following conditions: pulp density of 40% (w/v), agitation of 130 rpm and temperature of 35°C. Batch reactor tests with *Treated SCV* (82% of particles smaller than 0.045 mm) reached a 59% copper extraction, a result similar to that reached through the bioleaching of *Treated SCV* in shake flasks, 55%. The copper extraction results found in this work are among the highest ones reported on bioleaching of copper from tailings.

Keywords: Copper extraction. Pulp density. Acid treatment. Hydrometallurgy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Representação esquemática dos mecanismos do tiosulfato (A) e do polissulfeto (B). Onde: M^{2+} , íon metálico; $S_2O_3^{2-}$, tiosulfato; S_n^{2-} , polissulfeto; S_8 : enxofre elementar; A.f., Lf, At, reação enzimática catalisada por A. ferrooxidans, L. ferrooxidans e/ou A. thiooxidans. Fonte: Oliveira (2009).....	25
Figura 2. Lagoa de rejeitos da Mina do Sossego e arredores. Locais de coletas de amostras, posteriormente divididas em quatro grupos A, B, C e L.....	39
Figura 3. Biorreator modelo Labfors 5 (Infors).....	47
Figura 4. Esquema do sistema de biorreatores tipo coluna de bolhas.....	48
Figura 5. Cobre dissolvido em função do tempo para os cultivos de microrganismos presentes nos grupos A, B, C e L enriquecidos em meio 9K (pH 2) com 4% (m/v) de concentrado de calcopirita.....	54
Figura 6. Concentração de cobre no tempo zero e após 12 dias para seis subcultivos consecutivos do consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com 4% (m/v) de concentrado de calcopirita.....	55
Figura 7. Cultivo do consórcio ABL em meio 9K-Fe. Esquerda: Amostra controle, não inoculada. Direita: Amostra inoculada.	56
Figura 8. Cobre dissolvido e variação de pH na biolixiviação de concentrado de calcopirita 4% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (Bio) ensaio inoculado; (C-) controle negativo, sem inóculo.....	57
Figura 9. Biolixiviação de concentrado de calcopirita 4% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) inoculado com cultura de 4, 8 e 12 dias de crescimento.	58
Figura 10. Concentração de cobre dissolvido e valores de pH durante biolixiviação de rejeito SCV Sem tratamento 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (pH2) Ensaio com ajuste diário de pH em 2,0; (S/pH) Ensaio com ajuste de pH em 2,0 apenas no tempo zero; (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.	59
Figura 11. Concentração de $CaCO_3$ no sólido em função da massa de H_2SO_4 adicionada em reator com 20% (m/v) de teor de polpa de rejeito SCV....	61

- Figura 12. Concentração de cobre dissolvido e valores de pH durante biolixiviação de Rejeito SCV Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (Bio) ensaio inoculado; (C-) controle negativo, sem inóculo.....62
- Figura 13. Concentração de cobre dissolvido e pH durante biolixiviação de rejeito Finos Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL. (Ft + LI) Rejeito Finos Tratado e solução LI; (Ft + 9K) Rejeito Finos Tratado e meio 9K (pH 2).....64
- Figura 14. Concentração de cobre dissolvido durante biolixiviação de rejeito Scavenger 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (Finos) Rejeito Finos Tratado, fração do rejeito SCV com tamanho de partícula menor que 0,045 mm; (Total) rejeito SCV Tratado, não fracionado; (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.....67
- Figura 15. Concentração de cobre dissolvido durante biolixiviação de Rejeito Finos Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2), utilizando inóculos cultivados previamente em diferentes substratos. (Conc) Inóculo cultivado em concentrado de calcopirita (4% m/v); (C+Fe+S) Inóculo cultivado em mistura de concentrado de calcopirita (4% m/v), FeSO_4 (4,5% m/v) e enxofre elementar (1% m/v); (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.....68
- Figura 16. Concentração de cobre dissolvido e valores de pH durante biolixiviação de rejeito Finos Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (pH2) Ensaio com ajuste diário de pH em 2,0; (S/pH) Ensaio sem ajuste de pH; (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.69
- Figura 17. Concentração de (A) Fe^{2+} e (B) Fe^{3+} durante biolixiviação de rejeito Finos Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (pH2) Ensaio com ajuste diário de pH em 2,0; (S/pH) Ensaio sem ajuste de pH; (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.....70
- Figura 18. Concentração de cobre dissolvido em função do tempo durante biolixiviação de rejeito Finos Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com adição de 2g/L de Fe^{2+} no tempo zero (Fe t_0), após 4 dias (Fe t_4) e sem adição de ferro (C+). (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.72
- Figura 19. Concentração de íons ferrosos em função do tempo durante biolixiviação de rejeito Finos Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2)

com adição de 2g/L de Fe^{2+} no tempo zero (Fe t0), no tempo quatro dias (Fe t4) e sem adição de ferro (C+). (C-) Controle negativo, não inoculado.	73
Figura 20. Concentração de íons férricos em função do tempo durante biolixiviação de rejeito Finos Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com adição de 2g/L de Fe^{2+} no tempo zero (Fe t0), no tempo quatro dias (Fe t4) e sem adição de ferro (C+). (C-) Controle negativo, não inoculado.	74
Figura 21. Concentração de ferro total em função do tempo durante biolixiviação de rejeito Finos Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com adição de 2 g/L de Fe^{2+} no tempo zero (Fe t0), no tempo quatro dias (Fe t4) e sem adição de ferro (C+). (C-) Controle negativo, não inoculado.	75
Figura 22. Concentração de cobre dissolvido em função do tempo durante biolixiviação de rejeito Finos Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em frascos agitados com velocidade de rotação de 130 rpm ou 170 rpm.	76
Figura 23. Concentração de cobre dissolvido em função do tempo durante biolixiviação de rejeito Finos Tratado pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com densidades de polpa de 20% e 40% (m/v).	77
Figura 24. Concentração de cobre dissolvido em função do tempo durante biolixiviação de rejeito Finos Tratado pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com densidade de polpa inicial de 20% (m/v) e alimentação (↓) de mais 20% (m/v) de sólidos após 8 dias de cultivo.....	78
Figura 25. Cobre dissolvido e pH em função do tempo durante biolixiviação de rejeito SCV Tratado 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo batelada.....	79
Figura 26. Ferro total dissolvido e potencial redox (ORP) em função do tempo durante biolixiviação de rejeito SCV Tratado 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo batelada.	80
Figura 27. Concentração de cálcio, potássio e níquel em solução durante biolixiviação de rejeito SCV Tratado 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo batelada.....	81

Figura 28. Concentração iônica de sulfato e fluoreto durante biolixiviação de rejeito SCV Tratado 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo batelada.....	82
Figura 29. Cobre dissolvido e pH em função do tempo durante biolixiviação de rejeito SCV Tratado 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo coluna de bolhas.	83
Figura 30. Ferro total dissolvido e potencial redox (ORP) em função do tempo durante biolixiviação de rejeito SCV Tratado 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo coluna de bolhas.	84
Figura 31. Concentração de cobre em função do tempo durante biolixiviação de rejeito SCV Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em diferentes temperaturas (T32: 32°C; T35: 35°C; T38: 38°C; T40: 40°C)..	86
Figura 32. Concentração de ferro total em função do tempo durante biolixiviação de rejeito SCV Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em diferentes temperaturas. (T32: 32°C; T35: 35°C; T38: 38°C; T40: 40°C).	87
Figura 33. Balanço de massa de cobre para o tratamento ácido do rejeito Scavenger.	88
Figura 34. Balanço de massa de cobre para a biolixiviação de rejeito SCV Tratado 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo batelada.....	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tipos de rejeito Scavenger utilizados nos ensaios de biolixiviação em frascos agitados	44
Tabela 2. Análise de composição química por ICP-OES	51
Tabela 3. Análise de composição química do rejeito <i>Scavenger</i> por FRX.....	52
Tabela 4. Granulometria do rejeito <i>Scavenger</i> , teor de cobre de cada fração (ICP-OES) e porcentagem de cobre de cada fração no rejeito total.....	53
Tabela 5. Utilização de calcopirita pelo enriquecimento microbiano	53
Tabela 6. Valor de pH no final dos ensaios de enriquecimento microbiano	55
Tabela 7. Concentrações de carbonatos e cobre no rejeito SCV antes e depois do tratamento ácido.....	62
Tabela 8. Quantidade de ácido utilizada nos ensaios de biolixiviação	63
Tabela 9. Composição elementar das soluções LI e LT por ICP-OES.....	65
Tabela 10. Concentração de fluoreto e sulfato por Cromatografia Iônica	66
Tabela 11. Temperatura interna média das colunas durante a biolixiviação	82
Tabela 12. Extração de cobre final (Cu%) para os ensaios de biolixiviação de rejeito	87
Tabela 13. Comparação dos resultados deste trabalho com estudos da literatura de biolixiviação de rejeito ou minério de baixo teor de cobre	103

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C.	Antes de Cristo
BNDES	Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social
cm	Centímetro
d	Dia
FRX	Espectrometria de Fluorescência de Raios-X
g	grama
g/L	Gramas por litro
ICP-OES	Espectrometria óptica de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado
kg	Quilograma
LCT	Laboratório de Caracterização Tecnológica
M	Molar
m/v	Massa por volume
mg/L	Miligrama por litro
mm	Milímetro
Mt	Milhões de toneladas
mV	Milivolt
nm	Nanômetro
ORP	Potencial redox
PVC	Policloreto de vinila
rpm	Rotações por minuto
SCV	<i>Scavenger</i>
t/h	Toneladas por hora
USP	Universidade de São Paulo
v/v	Volume por volume
vvm	Volume de gás por volume de meio por minuto

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	19
2	OBJETIVOS	22
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1	BIOLIXIVIAÇÃO DE SULFETOS MINERAIS	23
3.2	MICROORGANISMOS E A LIXIVIAÇÃO	26
3.3	FATORES QUE AFETAM A BIOLIXIVIAÇÃO	27
3.3.1	Características da amostra mineral	28
3.3.2	Densidade de polpa	30
3.3.3	Agitação	30
3.3.4	pH	31
3.3.5	Potencial redox	32
3.3.6	Tamanho de partícula	33
3.3.7	Temperatura	33
3.4	BIOLIXIVIAÇÃO DE MINÉRIO DE COBRE DE BAIXO TEOR E REJEITOS	34
4	MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1	AMOSTRAS SÓLIDAS	36
4.2	CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA DO CONCENTRADO E REJEITO DE FLOTAÇÃO	36
4.2.1	Análise elementar dos materiais sólidos	36
4.2.2	Análise granulométrica	37
4.3	MEIOS DE CULTURA	37
4.4	ENRIQUECIMENTO MICROBIANO	38
4.5	ADAPTAÇÃO EM CALCOPIRITA E MANUTENÇÃO DOS ENRIQUECIMENTOS MICROBIANOS	40
4.6	OXIDAÇÃO DE FERRO E ENXOFRE PELO CONSÓRCIO SELECIONADO	40
4.7	PREPARO DO INÓCULO PARA OS ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO	41
4.8	ENSAIO DE BIOLIXIVIAÇÃO DE CALCOPIRITA	41
4.9	ESTUDO DO TEMPO DE CULTIVO DO INÓCULO	42
4.10	ANÁLISE DO DECAIMENTO DE CARBONATO EM FUNÇÃO DA ADIÇÃO DE ÁCIDO SULFÚRICO	42

4.11	TRATAMENTO ÁCIDO DO REJEITO	42
4.12	ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO DE REJEITO SCAVENGER EM FRASCOS AGITADOS	43
4.13	ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO EM BIORREATOR TIPO BATELADA	46
4.14	ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO EM BIORREATOR TIPO COLUNA DE BOLHAS.....	47
4.15	MÉTODOS ANALÍTICOS	48
4.16	CÁLCULO DA EXTRAÇÃO DE COBRE.....	50
5	RESULTADOS	51
5.1	CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA DO CONCENTRADO E REJEITO DE FLOTAÇÃO	51
5.1.1	Análise elementar dos materiais sólidos.....	51
5.1.2	Fração granulométrica	53
5.2	ENRIQUECIMENTO E ADAPTAÇÃO DOS CONSÓRCIOS MICROBIANOS.....	53
5.3	OXIDAÇÃO DE DIFERENTES SUBSTRATOS PELO CONSÓRCIO ABL....	56
5.4	ENSAIO DE BIOLIXIVIAÇÃO DE CALCOPIRITA PELO CONSÓRCIO ABL.....	57
5.5	EFEITO DO TEMPO DE CULTIVO DO INÓCULO NA BIOLIXIVIAÇÃO DE CALCOPIRITA.....	58
5.6	BIOLIXIVIAÇÃO DO REJEITO SCAVENGER EM FRASCOS AGITADOS....	59
5.6.1	Biolixiviação do rejeito SCV Sem tratamento	59
5.6.2	Tratamento ácido do rejeito Scavenger	60
5.6.3	Biolixiviação do rejeito Scavenger previamente tratado.....	62
5.6.4	Biolixiviação de Finos Tratado utilizando líquido proveniente da acidificação do rejeito SCV Sem Tratamento	64
5.6.5	Efeito do tamanho da partícula	66
5.6.6	Enriquecimento do inóculo.....	67
5.6.7	Efeito do pH.....	68
5.6.8	Efeito da adição de ferro (II).....	71
5.6.9	Efeito da agitação	75
5.6.10	Efeito da densidade de polpa	76
5.6.11	Ensaio com adição de sólidos.....	77

5.7	ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO EM BIORREATOR TIPO BATELADA.....	78
5.8	ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO EM BIORREATOR TIPO COLUNA DE BOLHAS.....	82
5.9	EFEITO DA TEMPERATURA.....	85
5.10	EXTRAÇÃO DE COBRE DO REJEITO.....	87
5.11	BALANÇO DE MASSA DE COBRE.....	88
6	DISCUSSÃO	90
6.1	SELEÇÃO DE CONSÓRCIO DE MICRORGANISMOS E BIOLIXIVIAÇÃO DE CONCENTRADO DE CALCOPIRITA PELO CONSÓRCIO ABL.....	90
6.2	BIOLIXIVIAÇÃO DO REJEITO SCAVENGER EM FRASCOS AGITADOS....	92
6.3	BIOLIXIVIAÇÃO DO REJEITO SCAVENGER EM BIORREATOR.....	98
6.4	EXTRAÇÃO DE COBRE DO REJEITO.....	101
7	CONCLUSÕES	104
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O cobre é utilizado pela civilização desde 8000 anos a.C. e até hoje, é um dos metais de maior importância para a indústria. Entre suas principais propriedades estão a maleabilidade, a resistência à corrosão e às altas temperaturas, e a reciclagem. Além disso, o cobre é um excelente condutor de eletricidade, sendo empregado na geração e na transmissão de energia, em fiações e, em praticamente, todos os equipamentos eletrônicos.

De acordo com dados compilados pelo *International Copper Study Group* (ICSG, 2016), a produção mundial de cobre aumentou 28 % em um período de 10 anos, de 15 milhões de toneladas (Mt) em 2006 para 19,1 Mt em 2015. Já a produção aparente de cobre refinado foi de 22,9 Mt, enquanto o consumo aparente foi de 23 Mt em 2015, indicando um déficit de produção frente ao consumo de aproximadamente 162 mil toneladas nesse ano.

Enquanto a demanda mundial por cobre aumenta, observa-se um esgotamento progressivo das reservas minerais contendo altos teores desse metal. Assim, a indústria de mineração é cada vez mais confrontada à necessidade de processar minérios de baixo teor, estéreis e rejeitos das operações de mineração atuais. A extração econômica de cobre a partir de minérios de baixo teor requer métodos de processamento de baixo custo (WATLING, 2006). Dessa forma, torna-se imprescindível o desenvolvimento de tecnologias alternativas para o tratamento desses minérios.

Nesse contexto, o uso de técnicas hidrometalúrgicas para recuperação de metais vem ganhando cada vez mais atenção. Estima-se que em 2015, mais de 17% do cobre refinado foi produzido via hidrometalurgia (ICSG, 2016). Um indicador indireto do notável aumento da produção de cobre hidrometalúrgico nos últimos anos é o aumento da capacidade geral de plantas de extração por solvente e eletro-obtenção (SX-EW, Solvent Extraction and Eletrowinning), que produzem cobre refinado eletrolítico de pureza 99,9% a partir de soluções ricas em cobre. Segundo o ICSG (2016), a produção de cobre refinado pelo processo SX-EW, praticamente inexistente antes da década de 1960, ultrapassou 3,9 Mt em 2015.

A hidrometalurgia na mineração se mostra atraente quando comparado às técnicas convencionais de recuperação de cobre, como a pirometalurgia, pois entre

outras vantagens, é menos poluente, possui fácil aplicação e apresenta baixo custo operacional (PRADHAN et al., 2008).

Dentre os processos hidrometalúrgicos, a utilização de microrganismos para promover a solubilização dos metais – biolixiviação, como é denominada – é uma tecnologia em desenvolvimento que já está sendo aplicada com sucesso na extração de cobre de minerais sulfetados secundários como a calcocita (Cu_2S) e a covelita (CuS). Porém, a biolixiviação de calcopirita (CuFeS_2), sulfeto de cobre primário mais abundante na natureza e de elevada refratariedade, ainda é um desafio devido à cinética lenta e a baixa recuperação. Assim, milhões de toneladas de minérios de baixo teor e rejeitos aguardam o desenvolvimento de um processo de biolixiviação eficiente e econômico para a calcopirita (BRIERLEY; BRIERLEY, 2001; WATLING, 2006).

O presente trabalho está inserido no projeto intitulado “Recuperação de áreas contaminadas e extração de minerais de rejeitos” (convênio entre USP - BNDES - VALE S.A.), e justifica-se pelo grande potencial de recuperação de áreas contaminadas nos processos de mineração, com recuperação de metais de rejeitos que são um problema ambiental não só para a cidade em que está localizada a mina, como também para o solo e cursos d'água circundantes.

Localizada no sudeste do estado do Pará, a Mina do Sossego (Canaã dos Carajás, PA) é a segunda maior reserva de cobre brasileira (Departamento Nacional de Produção Mineral, 2015). A reserva provada é da ordem de 255 Mt com um teor médio de 1,0% de minério de cobre, basicamente calcopirítico. A Usina do Sossego (VALE S.A.) tem capacidade para processar 41 mil toneladas de minério de cobre por dia, o que equivale a 15 milhões de toneladas por ano, lavradas de cavas a céu aberto (BERGERMAN; DELBONI; NANKRAN, 2009). Após 10 anos de mineração, mais de 120 milhões de toneladas de rejeitos já foram produzidas e depositadas na barragem de rejeitos do Sossego (NANKRAN et al., 2007).

A Usina de beneficiamento de cobre do Sossego é composta por três etapas de flotação: *rougher*, *cleaner* e *scavenger-cleaner* (*scavenger*). Dois rejeitos são gerados no processo, o rejeito da etapa *scavenger* e o rejeito da etapa *rougher*, que são encaminhados juntos à lagoa de rejeitos (SHIMIZU, 2012). Apesar do rejeito *scavenger* representar apenas 5% do rejeito final do processo, ele contém aproximadamente 10 vezes mais cobre do que o rejeito *rougher*, entre 0,3 - 0,5%

(NANKRAN et al., 2007). Esse rejeito, portanto, possui grande potencial como recurso secundário de cobre.

2 OBJETIVOS

O objetivo principal desse trabalho foi avaliar a biolixiviação de cobre de rejeito produzido na etapa *scavenger* de processo de flotação de calcopirita, utilizando consórcio de microrganismos.

Como objetivos específicos, tem-se:

- Selecionar um consórcio de microrganismos a partir da microbiota local e avaliar sua capacidade de biolixiviar calcopirita em frascos agitados;
- Avaliar a biolixiviação de rejeito *Scavenger* em frascos agitados;
- Avaliar a influência de parâmetros como densidade de polpa, agitação, tamanho de partícula e pH, na biolixiviação de rejeito *Scavenger* em frascos agitados;
- Avaliar a biolixiviação de rejeito *Scavenger* em tanque agitado tipo batelada e tipo coluna de bolhas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 BIOLIXIVIAÇÃO DE SULFETOS MINERAIS

A biolixiviação pode ser definida como um processo de dissolução de minerais que resulta da ação de um grupo de microrganismos (PRADHAN et al., 2008). No caso da biolixiviação de sulfetos minerais, sulfetos de metais são oxidados a íons metálicos e sulfato por bactérias aeróbias, acidófilas, ferro- e/ou sulfo-oxidantes (BOSECKER, 1997).

Sulfetos de metais como zinco, cobre, níquel, cobalto são pouco solúveis em água, mas os sulfatos desses metais são facilmente solúveis. Quando o sulfeto metálico é oxidado a sulfato, o metal é lixiviado em solução de onde pode ser extraído. A solubilização de sulfetos metálicos é reconhecida como sendo principalmente um processo químico, em que íons férricos e prótons são responsáveis por realizar as reações de lixiviação (RAWLINGS; DEW; PLESSIS, 2003; RAWLINGS, 2005).

Como indicado na Equação 1, a extração de metais a partir de sulfetos minerais envolve a redução dos íons férricos (Fe^{3+}) para íons ferrosos (Fe^{2+}) e a oxidação da fração sulfetada do sulfeto mineral gerando sulfato, e outros vários compostos de enxofre intermediários, como por exemplo, polissulfetos, tiosulfatos e enxofre elementar. Em soluções ácidas, como águas de drenagem das áreas de mineração, o íon ferroso gerado é oxidado pelo oxigênio atmosférico (Equação 2), regenerando assim, o agente oxidante Fe^{3+} da Equação 1. Em paralelo, ocorre um processo de dissolução não-oxidativo que contribui para a cinética de lixiviação do sulfeto mineral (Equação 3) (YAHYA; JOHNSON, 2002; WATLING, 2006).

O íon ferroso é estável em meio ácido e, portanto, a reação mostrada na Equação 2 ocorre lentamente na ausência de um catalisador. Logo, a oxidação dos

sulfetos minerais representada na Equação 1 também é lenta. Dessa forma, bactérias ferro-oxidantes atuam como catalisadores, oxidando o íon ferroso a íon férrico (Equação 2) e acelerando a oxidação dos sulfetos minerais (RAWLINGS, 2005).

O enxofre elementar formado (Equação 1) é inerte à oxidação abiótica em ambientes ácidos, porém, pode ser oxidado a sulfato por bactérias sulfo-oxidantes (Equação 4) (RAWLINGS; DEW; PLESSIS, 2003; ROHWERDER et al., 2003).

Portanto, o papel dos microrganismos na solubilização de sulfetos minerais é fornecer ácido sulfúrico para o ataque de prótons (Equação 3), e manter o ferro no estado oxidado +3 (Equação 2), para o ataque oxidativo no mineral (Equação 1) (RAWLINGS; DEW; PLESSIS, 2003).

Dependendo de sua solubilidade em ácido, um sulfeto mineral pode ser oxidado por meio de dois mecanismos: do tiosulfato ou do polissulfeto. O mecanismo do tiosulfato foi proposto para a oxidação de sulfetos metálicos insolúveis em ácido como a pirita (FeS_2) e a molibdenita (MoS_2), e o mecanismo do polissulfeto para sulfetos metálicos solúveis em ácido como a pirrotita (FeS), a esfarelita (ZnS) e a calcopirita ($CuFeS_2$) (SCHIPPERS; SAND, 1999).

No mecanismo do tiosulfato (Figura 1 A), a solubilização do metal acontece por ataque do íon férrico ao sulfeto, sendo tiosulfato, o principal intermediário formado e sulfato, o principal produto final da reação. No caso do mecanismo do polissulfeto (Figura 1 B), a solubilização de sulfetos minerais solúveis em ácido ocorre por meio do ataque combinado de íons férricos e prótons, sendo o enxofre elementar o principal intermediário (RAWLINGS; DEW; PLESSIS, 2003).

Figura 1. Representação esquemática dos mecanismos do tiosulfato (A) e do polissulfeto (B). Onde: M^{2+} , íon metálico; $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, tiosulfato; S_n^{2-} , polissulfeto; S_8 : enxofre elementar; *A.f.*, *L.f.*, *At*, reação enzimática catalisada por *A. ferrooxidans*, *L. ferrooxidans* e/ou *A. thiooxidans*. Fonte: Oliveira (2009)

A biolixiviação é aplicada em escala industrial para o processamento de minérios de baixo teor que geralmente contém concentrações de metal abaixo de 0,5% em massa (BOSECKER, 1997). A maneira mais simples de biolixiviação é acumular o material em pilhas, irrigá-lo com solução lixiviante, que permeia a pilha por gravidade, e recolher a lixívia carregada com o metal de interesse (lixiviado) na base da pilha. Uma vez que a oxidação bacteriana de sulfetos é muito mais lenta do que outros processos biotecnológicos, o lixiviado é recirculado. Esse processo é denominado biolixiviação em pilha e, em escala de laboratório, é simulado por ensaios em colunas de percolação (BOSECKER, 1997).

Já a biolixiviação em tanques agitados é mais efetiva para o tratamento de concentrados e minérios de alto valor. É um processo que apresenta maior investimento de capital e custo operacional do que os processos de biolixiviação em

pilhas. Porém, a taxa de extração de metal é muito maior e, atualmente, essa técnica é utilizada com sucesso na biolixiviação de minérios de ouro refratários (BOSECKER, 1997; RAWLINGS, 2005). Entre os tipos de tanque agitados que são aplicados na biolixiviação destacam-se os reatores tipo batelada (agitação mecânica) e os reatores tipo coluna de bolhas e *air-lift* (agitação pneumática) (ACEVEDO, 2000).

3.2 MICRORGANISMOS E A LIXIVIAÇÃO

Uma grande variedade de microrganismos constituídos principalmente por bactérias e *archaea* são encontrados em ambientes de lixiviação natural, como a drenagem ácida de minas. Assim, a maioria dos microrganismos acidófilos conhecidos foi isolada de tais ambientes naturais (PRADHAN et al., 2008).

De um modo geral, os microrganismos utilizados na biolixiviação são acidófilos, crescendo em valores de pH de 1,5 a 4, quimiotróficos, obtendo sua energia do ataque oxidativo dos sulfetos minerais que eles solubilizam, e autotróficos, utilizando CO₂ como única fonte de carbono. Além disso, podem ser agrupados de acordo com a sua temperatura ótima de crescimento, distinguindo-se em: psicrófilos (<15°C), mesófilos (15 a 40 °C), termófilos moderados (40 a 60 °C), termófilos (60 a 80 °C) e hipertermófilos (>80°C).

Os microrganismos mesófilos mais comumente utilizados na biolixiviação de sulfetos minerais são *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans* (BOSECKER, 1997).

A maioria dos estudos de biolixiviação é conduzida utilizando bactérias conhecidas, seja como culturas puras ou mistas (QIU et al., 2005; AKCIL; CIFTCI; DEVECI, 2007; FU et al., 2008; PLUMB; MCSWEENEY; FRANZMANN, 2008; ZHANG et al., 2008). No entanto, em muitos casos, o uso de bactérias da microbiota indígena, ambientadas ao minério através de muitas gerações, pode aumentar a eficiência da extração de metais (FENG et al., 2012; XIA et al., 2013). Keeling et al. (2006) observaram que a recuperação de cobre a partir de concentrado de calcopirita foi maior quando microrganismos isolados nativos foram empregados, em comparação com as cepas de referência, uma vez que o primeiro se adapta facilmente aos minérios de sulfeto e às condições de lixiviação.

Várias espécies com diferentes funções fisiológicas e ecológicas coexistem em um sistema de biolixiviação, desempenhando papéis complementares para a lixiviação do metal (XIA et al., 2013). Em geral, processos comerciais de biolixiviação operam naturalmente com microrganismos oriundos da água ácida de mina ou de qualquer outra fonte microbiana disponível. Assim, a população microbiana envolvida em um processo de lixiviação natural não tem características de cultura pura (PRADHAN et al., 2008). Alguns trabalhos mostraram que as culturas mistas têm maior capacidade de biolixiviar sulfetos minerais do que culturas puras (QIU et al., 2005; AKCIL; CIFTCI; DEVECI., 2007). Logo, o processo conduzido com consórcios microbianos é tecnicamente mais vantajoso em sistemas de biolixiviação, além de ser mais representativo das condições de campo ou operacionais (RAWLINGS; JOHNSON, 2007).

O enriquecimento microbiano e a adaptação das bactérias a um determinado sistema mineral, pelo subcultivo das mesmas em quantidades cada vez maiores de minério, são práticas comuns em estudos de biolixiviação, sendo geralmente realizadas antes da inoculação (KEELING et al., 2006; MARHUAL et al, 2008; ZHANG et al., 2008; HAGHSHENAS et al., 2009). Xia et al. (2013) demonstraram que uma maior extração de cobre pode ser obtida, em ensaios de biolixiviação de calcopirita, utilizando como inóculo culturas adaptadas e enriquecidas em enxofre e calcopirita ou em ferro, enxofre e calcopirita, em comparação com a amostra original (não enriquecida e adaptada ao crescimento nesses substratos).

3.3 FATORES QUE AFETAM A BIOLIXIVIAÇÃO

Como citado anteriormente, existem dois aspectos distintos para a biolixiviação do sulfeto mineral: uma reação anóxica e abiótica (ataque do íon férrico sobre o mineral) e uma reação biológica que requer oxigênio (regeneração do oxidante, íon férrico). As condições ideais para que estas duas reações aconteçam podem ser bastante diferentes. Por exemplo, a temperatura e o pH ótimos para a regeneração do íon férrico serão determinados pelas características dos microrganismos acidófilos presentes, enquanto a velocidade de reação da oxidação abiótica pode ser acelerada pela lixiviação de minerais a temperaturas acima das quais os sistemas biológicos estão ativos. Por outro lado, a formação de camadas de passivação de precipitados

de ferro, que se depositam nas superfícies dos sulfetos minerais impedindo sua oxidação, pode ser minimizada pela manutenção das condições de cultivo a um pH extremamente baixo e potenciais redox reduzidos. Porém, tais condições (em particular $\text{pH} < 1$) podem ser desfavoráveis à bio-oxidação do ferro (YAHYA; JOHNSON, 2002). Assim, para que o processo de biolixiviação seja eficiente devem ser estabelecidas condições ótimas para os diversos parâmetros acima citados, entre outros.

A seguir são listados os principais fatores que influenciam diretamente a biolixiviação de sulfetos minerais.

3.3.1 Características da amostra mineral

A dissolução metálica, seja por métodos químicos ou por métodos biológicos, depende da natureza dos minérios, isto é, da sua composição química e da sua origem (PRADHAN et al., 2008).

Hiroyoshi et al. (1997) destacaram como diferentes fontes de amostras de calcopirita resultam em diferentes eficiências de lixiviação. No estudo, os efeitos das adições de sulfato ferroso e sulfato férrico na extração de cobre foram comparados para quatro amostras de calcopirita. Embora, todas as amostras sejam de alto teor de cobre (entre 28,7 e 33,3% em massa), as taxas de dissolução de cobre foram muito diferentes. Em particular, a quantidade de cobre extraído na amostra de *Akenobe* foi significativamente maior do que nas outras amostras.

Dados os problemas na compreensão do processo para um determinado minério, não é surpreendente que seja difícil entender a biolixiviação de minérios complexos que contenham vários minerais diferentes. Ahonen e Tuovinen (1995) estudaram a biolixiviação de minérios de sulfetos complexos, contendo calcopirita, esfalerita, pentlandita, pirita e pirrotita, utilizando cepas não caracterizadas de minas. Os autores observaram que as relações entre as taxas de biolixiviação e parâmetros como pH e potencial redox variam para cada mineral. Essas relações já não são compreendidas para minerais individuais, ainda menos para minerais complexos (JONGLERTJUNYA, 2003).

Os minerais de ganga constituem a maior parte da composição de minérios de baixo teor. Portanto, a presença desses minerais afetará a taxa de lixiviação de

sulfetos minerais (DONG et al.; 2013). Foi demonstrado que entre os efeitos da dissolução de minerais silicatados para a biolixiviação estão o aumento do pH, a liberação de elementos traços tóxicos em solução (como o fluoreto), o espessamento do licor de lixiviação por altas concentrações de sílica e a passivação de minerais de sulfetos pela formação de precipitados de ferro (RAZZELL; TRUSSELL, 1963; ANDERSEN; LUNDGREN, 1969; PIETROBON et al., 1997; DOPSON; LÖVGREN; BOSTRÖM, 2008; WU et al., 2009; BRIERLEY; KUHN, 2010).

Dong et al. (2011) realizaram experimentos de biolixiviação de cobre a partir de rejeitos e observaram aumento do pH e consequente diminuição da extração de cobre, devido ao consumo rápido de ácido por minerais de ganga como carbonatos (calcita, dolomita e augita) e silicatos (quartzo). Assim, foi adicionado ácido sulfúrico ao sistema de lixiviação durante os primeiros cinco dias para controle do pH em 2,0. Os autores observaram que os minerais de ganga foram quase completamente dissolvidos durante esse período, sendo que o pH da solução tendeu a ficar em torno de 2,0 a partir do dia 5. No estudo, o ensaio de controle abiótico (que recebeu o mesmo volume de ácido da cultura bacteriana) contribuiu para lixiviação de 18,5% de cobre, enquanto a biolixiviação contribuiu com 26,4% Cu. Ou seja, mais da metade do cobre total extraído no ensaio de biolixiviação pode ter sido resultado da lixiviação ácida.

Dependendo do mineral de ganga, diferentes taxas de dissolução são observadas durante a lixiviação ácida. Geralmente, os carbonatos (por exemplo, calcita e siderita) são dissolvidos muito mais rápidos do que os silicatos (por exemplo, quartzo e feldspato) (LEAHY; SCHWARZ, 2009). Tomando como exemplo a calcita, a reação de dissolução ácida dos carbonatos pode ser representada como (Equação 5):

Na reação, sulfato de cálcio hidratado precipita sob a forma de um produto sólido. Luszczkiewicz e Chmielewski (2008) reportaram o efeito benéfico da lixiviação de ganga de carbonato de minério de cobre antes da alimentação em um circuito de flotação. Os autores propuseram um tratamento do minério com ácido sulfúrico para decomposição seletiva da ganga de carbonato e consequente liberação de grãos de sulfetos de cobre.

3.3.2 Densidade de polpa

A densidade de polpa é uma das principais limitações para a biolixiviação de sulfetos minerais em sistemas agitados (WANG et al., 2014a). Foi observado que o aumento da densidade de polpa aumenta a tensão de cisalhamento e diminui a transferência de oxigênio e dióxido de carbono, o que inibe o crescimento e a atividade dos microrganismos. Além disso, maiores concentrações de metais lixiviados e de reagentes de flotação resultantes da alta densidade de polpa também têm efeitos tóxicos para as células (DEVECI, 2002; AKCIL; CIFTCI; DEVECI, 2007; MARHUAL et al., 2008).

Nemati e Harrison (2000) estudaram a biolixiviação de pirita em tanque agitado. Os autores observaram que a taxa de solubilização do ferro não foi influenciada pelo aumento de polpa de 3% a 9%. Porém, o aumento da densidade de polpa para 18% reduziu significativamente a taxa de solubilização de ferro e o crescimento celular. Abhilash, Mehta e Pandey (2013) realizaram ensaios de biolixiviação de minério de cobre de baixo teor (0,35% Cu) com densidades de polpa de 5%, 10%, 15% e 20%, em frascos agitados, e observaram extrações de cobre de 47,5%, 38,5%, 33,04% e 31,19%, respectivamente. Já em experimentos de biolixiviação de concentrado de calcopirita em tanque agitado (volume de trabalho de 8 L e agitação 200 rpm), Wang et al. (2014a) reportaram diminuição da extração de cobre de 85% para 56% com o aumento da densidade de polpa de 10% para 20%.

3.3.3 Agitação

A velocidade de agitação tem influência significativa na distribuição de partículas e em fenômenos de transporte e, portanto, no crescimento microbiano e na formação de produtos em biorreatores agitados (BOSWELL; NIENOW; HEWITT, 2002). No entanto, existem poucos trabalhos na literatura que relatam o efeito da velocidade de agitação sobre a biolixiviação de metais. Ubaldini et al. (1997) reportaram que as dissoluções de ferro e arsênio de arsenopirita em frascos agitados a 200 rpm não foram significativamente diferentes daquelas a 250 rpm. Jonglertjunya (2003) observou diminuição da dissolução de cobre de calcopirita com o aumento da velocidade de agitação de 100 rpm para 200 rpm e de 200 rpm para 300 rpm. O autor

presume que isto aconteça, pois, as bactérias utilizadas (*A. ferrooxidans*) crescem melhor em velocidades baixas.

3.3.4 pH

O ajuste do pH é uma condição necessária para o crescimento dos microrganismos, sendo decisivo para a biolixiviação de metais (BOSECKER, 1997).

Muitos estudos demonstraram que a biolixiviação de sulfetos minerais ocorre favoravelmente em pH menor que 3,0, onde existe elevada concentração de próton. Em pH menor que 3,0, a regeneração do íon férrico via oxidação biológica do íon ferroso é de extrema importância já que a oxidação abiótica do íon ferroso em pH menor que 4,0 é insignificante (RAWLINGS, 2005; PLUMB; MUDDLE; FRANZMANN, 2008).

A solubilidade do íon férrico na solução de lixiviação é uma função do pH. Geralmente, o íon férrico tem uma solubilidade extremamente baixa em pH acima de 2,5 (RAWLINGS; DEW; PLESSIS, 2003; NURMI et al., 2010). Assim, a oxidação de íons ferrosos e o consequente aumento da concentração de íons férricos em solução, podem levar à formação de precipitados de ferro, como a jarosita ($\text{MFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$). A jarosita pode formar uma camada de passivação no sulfeto mineral, reduzindo as taxas de dissolução do metal (VILCÁEZ; YAMADA; INOUE, 2009). Essa camada funciona como uma barreira de transferência de massa para nutrientes, oxigênio, dióxido de carbono, etc, dificultando a ação dos microrganismos (MARHUAL et al., 2008). A reação de formação da jarosita produz ácido (Equação 6), diminuindo o pH do meio (PLUMB; MUDDLE; FRANZMANN, 2008).

Em que $\text{M} = \text{K}^+, \text{Na}^+, \text{H}_3\text{O}^+$ ou NH_4^+ .

A composição do minério tem papel importante na determinação do pH da solução em processos de biolixiviação. A dissolução do sulfeto mineral pode ser definida ou como produtora de ácido, o que leva a uma diminuição do pH (por

exemplo, a dissolução da pirita) ou como consumidora de ácido, o que leva ao aumento do pH (por exemplo, a dissolução da calcocita).

Assim, o pH da solução em uma determinada operação de biolixiviação será determinado pelo equilíbrio entre (RAWLINGS; DEW; PLESSIS, 2003; PLUMB; MUDDLE; FRANZMANN, 2008):

- Os componentes do minério que produzem ácido e os que consomem ácido;
- A ação dos microrganismos, que produzem ácido pela oxidação de enxofre e consomem ácido pela oxidação de ferro;
- A precipitação de ferro.

Na prática, é difícil manter o pH da solução de lixiviação dentro da faixa desejada, sem ajuste constante do pH. Portanto, o consumo de ácido sulfúrico pode ser um importante custo operacional (WATLING, 2006).

3.3.5 Potencial redox

Um dos fatores mais importantes que afeta o processo de lixiviação de sulfetos minerais, especialmente a calcopirita, é possivelmente o potencial redox da solução (KAMETANI; AOKI, 1985; HIROYOSHI et al., 2000, 2001, 2004, 2008; SANDSTRÖM; SHCHUKAREV; PAUL, 2004). Este parâmetro faz referência à tendência de um dado elemento em doar ou receber elétrons, e, portanto, é um indicativo da capacidade oxidante de um eletrólito. O potencial redox é determinado principalmente pela razão das atividades de íons férricos/ íons ferrosos. O aumento da concentração de íons férricos pela oxidação microbiana de íons ferrosos, aumenta a razão íons férricos/ íons ferrosos. Assim sendo, em um sistema de biolixiviação, o potencial redox tende a aumentar (LIMA, 2011).

Alguns pesquisadores sugerem que a dissolução da calcopirita na biolixiviação pode ser acelerada pelo controle do potencial redox em um valor relativamente baixo, e que potenciais redox extremamente elevados na fase inicial da biolixiviação, podem causar uma rápida passivação da calcopirita pela formação de precipitados de ferro, inibindo assim a sua dissolução (THIRD; CORD-RUWISCH; WATLING, 2000; PETERSEN; DIXON, 2006; CORDOBA et al., 2008; GERICKE; GOVENDER;

PINCHES, 2010). Petersen e Dixon (2006) reportaram que o alto potencial redox favorece a biolixiviação da pirita, enquanto o baixo potencial redox favorece a biolixiviação da calcopirita. Ahmadi et al. (2010) utilizaram um eletrobiorreator para controlar o potencial da solução durante a biolixiviação de calcopirita, e descobriram que esta pode ser efetivamente lixiviada pelo controle do potencial redox na faixa de 400-425 mV (vs. Ag/AgCl).

3.3.6 Tamanho de partícula

Razzell e Trussell (1963) reportaram que as taxas de biolixiviação de calcopirita aumentaram com a redução do tamanho de partícula. Os autores observaram que a taxa de lixiviação de cobre dobrou quando o diâmetro da partícula diminuiu de (+0,053, -0,074) mm para -0,044 mm.

Outros trabalhos também mostraram aumento da taxa de dissolução de metal com a diminuição do tamanho de partícula para frações de (+0,053, -0,063) mm e (+0,149, -0,177) mm (ASAI; KONISHI; YOSHIDA, 1992) e frações de (+0,025, -0,045) mm e (+0,150, -0,180) mm (NEMATI; HARRISON, 2000), em experimentos de biolixiviação em incubador rotativo a 120 rpm.

Foi proposto que quanto menor o tamanho de partícula, maior a área de superfície exposta para a lixiviação e, portanto, maior a dissolução do metal (DEVASIA; NATARAJAN; RAO, 1996).

3.3.7 Temperatura

A temperatura influencia consideravelmente o processo de lixiviação, uma vez que sua elevação favorece a dissolução dos sulfetos, mesmo que na ausência de microrganismos (DIXON, 2000; STOTT et al., 2003). De acordo com Dopson et al. (2007) em temperaturas baixas, a oxidação química dos sulfetos minerais pelo íon férrico é a etapa limitante da reação de biolixiviação, ao invés da oxidação biológica de íons ferrosos.

Em algumas operações de biolixiviação, as reações de oxidação são exotérmicas (por exemplo, oxidação da pirrotita), produzindo calor e aumentando a temperatura (RIEKKOLA-VANHANEN, 2007). Se não houver microrganismos

termófilos presentes, altas temperaturas podem prejudicar o processo biológico (FRANZMANN et al., 2005). Uma vez que grandes gradientes de temperatura podem prevalecer em pilhas de lixiviação, a presença de microrganismos ativos em uma série de temperaturas diferentes é benéfica (BRIERLEY, 2003).

A temperatura também afeta significativamente as taxas de precipitação de ferro (HALINEN et al., 2009). No estudo de Wang et al. (2006), dois meses foram necessários para que a jarosita fosse formada à temperatura ambiente, enquanto que para a temperatura de 36 ° C, a jarosita foi formada em apenas 7 dias.

3.4 BIOLIXIVIAÇÃO DE MINÉRIO DE COBRE DE BAIXO TEOR E REJEITOS

A calcopirita (CuFeS_2) é o mais abundante mineral de cobre, representando aproximadamente 70% das reservas mundiais (THIRD et al., 2002; CÓRDOBA et al., 2008a). Ao contrário de muitos outros sulfetos de cobre, a calcopirita é conhecida por ser particularmente recalcitrante aos processos hidrometalúrgicos. Assim, sua utilização na biolixiviação ainda é um desafio devido à sua lenta cinética de oxidação, resultante da passivação superficial por precipitados de ferro, polissulfetos, e enxofre elementar (SCHIPPERS; SAND, 1999; KLAUBER et al., 2001; BEVILAQUA et al., 2002; RODRIGUEZ et al., 2003; ZHOU et al., 2009).

Em experimentos de biolixiviação de concentrado de calcopirita, Kinnunen et al. (2006) observaram rápida dissolução de cobre inicial, porém após aproximadamente 30% do cobre ter sido dissolvido, a taxa de lixiviação desacelerou. Análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS), seguidas de análises de difração de raio-X (DRX) mostraram a formação de enxofre elementar e jarosita na superfície do sólido.

Em sua maioria, os trabalhos encontrados na literatura sobre biolixiviação de calcopirita foram realizados com concentrados e minérios de alto teor. Apenas recentemente, investigações sobre a extração de cobre, cobalto e níquel de minérios de baixo teor foram relatadas (WATLING, 2008; WATLING et al., 2009; ZHEN et al., 2009; YANG et al., 2011). Poucos trabalhos são encontrados sobre a recuperação desses metais a partir de rejeitos.

Plumb, McSweeney e Franzmann (2008) estudaram 11 cepas de biolixiviação conhecidas e mostraram que elas são capazes de crescer, embora lentamente, em

calcopirita de baixo teor (0,5% Cu), sendo incapazes de atingir altas densidades celulares nessas condições. Song et al. (2011) realizaram experimentos estudando o efeito do teor de cobre presente na calcopirita sobre o crescimento de 6 microrganismos lixiviantes acidófilos. O teor mínimo de cobre que suporta o crescimento de *Acidithiobacillus caldus* e *Acidithiobacillus thiooxidans* foi de 0,3%. Já o crescimento de *Sulfolobus metallicus*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidianus brierleyi* e *Leptospirillum ferriphilum* foi detectado até mesmo nos menores teores testados (0,1%), apesar da lenta taxa de crescimento. Os autores concluíram que a escassez de fontes de energia acessíveis teve efeito limitante no crescimento microbiano.

Feng, Yang e Wang (2015) reportaram que a adição de 2 g/L de Fe^{2+} no início de experimentos de biolixiviação de minério de cobre de baixo teor é uma estratégia para acelerar o crescimento celular dos microrganismos de biolixiviação, diminuindo a fase lag dos cultivos.

Dong et al. (2011) estudaram os efeitos da irradiação ultravioleta sobre a mutação de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, e sobre a biolixiviação de rejeitos de cobre de baixo teor. Os autores observaram aumento da taxa de biolixiviação das bactérias mutantes devido à maior capacidade destas em produzir ácido sulfúrico.

Ahmadi et al. (2015) reportaram que a recuperação de cobre, níquel e cobalto a partir de rejeitos na presença de bactérias foi três vezes maior do que no experimento abiótico. Os autores também observaram que a recuperação de cobre em pH 1,2 foi 17% maior do que em pH 1,8, sendo que o cobre estava presente na amostra como calcopirita.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

De um modo geral, a parte experimental desse trabalho pode ser dividida em duas etapas. A Etapa 1, que consistiu na seleção e estudo do consórcio de microrganismos lixiviadores por meio de ensaios de enriquecimento microbiano e de biolixiviação de concentrado de calcopirita; e a Etapa 2 em que foi avaliada a biolixiviação de rejeito *Scavenger*, pelo consórcio de microrganismos selecionado, em frascos agitados e em biorreatores.

4.1 AMOSTRAS SÓLIDAS

As amostras sólidas utilizadas nesse trabalho correspondem ao concentrado de calcopirita e o rejeito da etapa *Scavenger* (SCV) gerados no processo de flotação de minério de cobre da Mina do Sossego, localizada no estado do Pará, Brasil. As amostras foram cedidas pela empresa VALE S.A. O concentrado e o rejeito foram coletados em fevereiro e maio de 2014, respectivamente.

4.2 CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA DO CONCENTRADO E REJEITO DE FLOTAÇÃO

4.2.1 Análise elementar dos materiais sólidos

A análise elementar dos materiais sólidos foi realizada pela equipe do Laboratório de Caracterização Tecnológica (LCT) que está vinculado ao Departamento de Engenharia de Minas e de Petróleo da Escola Politécnica da USP.

Trezentos miligramas de amostra foram solubilizados através do método de digestão multiácidos (ou digestão quatro ácidos) que utiliza uma combinação de ácido clorídrico, ácido nítrico, ácido fluorídrico e ácido perclórico. O líquido resultante da digestão ácida foi diluído em balão volumétrico de 50 mL para posterior análise por espectrometria óptica de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Os elementos analisados foram: alumínio (Al), cálcio (Ca), cobre (Cu), ferro (Fe), potássio (K), magnésio (Mg), manganês (Mn), sódio (Na), níquel (Ni) e enxofre (S).

A equipe do LCT também realizou análise química semi-quantitativa em espectrômetro de fluorescência de raios X (FRX) para a amostra de rejeito *Scavenger*. Os teores foram determinados em amostra prensada, na calibração STD-1 (Standardless), relativa a análise sem padrões dos elementos químicos compreendidos entre o flúor e o urânio. A perda de fogo (PF) foi efetuada a 1020°C por 2h. Os valores expressos foram normalizados a 100%.

4.2.2 Análise granulométrica

A determinação da distribuição granulométrica da amostra de rejeito SCV foi realizada por peneiramento a úmido, utilizando uma série de três peneiras circulares padronizadas da série Tyler com aberturas de 0,106 mm, 0,075 mm e 0,045 mm. Foram utilizados 200 g de material sólido e água destilada. Após o peneiramento, as frações das amostras foram secas em estufa a 50°C durante 48 horas para posterior pesagem.

4.3 MEIOS DE CULTURA

As composições dos meios de cultura utilizados nesse trabalho e seus modos de preparo são os que se seguem.

- Meio 9K (SILVERMAN; LUNDGREN, 1959)

Preparou-se solução composta pelos seguintes sais: 3,0 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 g/L KCl, 0,5 g/L K_2HPO_4 , 0,5 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01 g/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Após ajuste de pH em 2,0 com H_2SO_4 concentrado, a solução foi autoclavada a 121°C por 30 minutos.

- Meio 9K-Fe (SILVERMAN; LUNDGREN, 1959)

Solução A: Preparou-se uma solução concentrada do meio 9K. Os sais utilizados para preparação de 1 L de meio 9K foram diluídos em um volume de 700 mL de água destilada. O pH do meio foi ajustado para 2,0 com H_2SO_4 concentrado e a solução foi autoclavada a 121 °C por 30 minutos.

Solução B: Preparou-se solução de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 14,9% (m/v). Esta solução foi esterilizada por filtração em membrana Millipore, para evitar alguma oxidação do íon Fe^{2+} que ocorre durante a autoclavagem.

No momento do uso, as soluções A e B foram misturadas na proporção 7:3, respectivamente.

- Meio 9K-S (GARCIA, 1989)

Preparou-se uma solução de sais idêntica àquela do meio 9K, ajustou-se o pH para 3,0 com H_2SO_4 concentrado e a solução foi autoclavada a 121 °C por 30 minutos. Em um frasco *Erlenmeyer* de 125 mL foi adicionado 0,25 g de enxofre elementar. O frasco foi autoclavado a 110 °C por 60 minutos. No momento do uso, 25 mL do meio 9K-S foram adicionados ao frasco contendo enxofre.

4.4 ENRIQUECIMENTO MICROBIANO

Nos dias 19 e 20 de março de 2014 foram realizadas coletas de amostras sólidas (S) e líquidas (L) em diversos pontos da lagoa de rejeitos da Mina do Sossego e arredores (Figura 2). Essas amostras foram divididas em quatro grupos A, B, C e L, sendo:

- (A) Amostra sólida de coloração azulada, coletada próxima à pilha pulmão que alimenta a Usina;
- (B) Todas as amostras sólidas coletadas com exceção daquelas pertencentes aos grupos (A) e (C);
- (C) Amostra sólida de coloração azulada, coletada próxima ao Departamento de perfuração da Usina;
- (L) Todas as amostras líquidas.

Após homogeneização, 2 mL ou 2 g (para material sólido) de amostra de cada grupo (A, B, C e L) foram adicionados em frascos *Erlenmeyer* de 250 mL contendo 50 mL de meio de cultura e 2 g de concentrado de calcopirita, previamente autoclavados

a 121°C por 60 min. O mesmo procedimento descrito acima foi adotado para os controles negativos (C-), porém, sem a adição das amostras coletadas (A, B, C e L).

O meio de cultura escolhido para o enriquecimento microbiano foi o meio 9K (pH 2), pois este é um dos meios mais utilizados para isolamento de bactérias oxidantes de ferro e enxofre (GARCIA, 1989).

Figura 2. Lagoa de rejeitos da Mina do Sossego e arredores. Locais de coletas de amostras, posteriormente divididas em quatro grupos A, B, C e L.

Os frascos foram incubados em agitador rotativo a 130 rpm e 35°C. Amostras foram retiradas a cada quatro dias para análise de cobre, pH e observação microscópica.

Os parâmetros do ensaio foram adotados de acordo com os seguintes critérios:

- Velocidade de rotação: velocidade mínima suficiente para manter os sólidos em suspensão;
- Temperatura: média das temperaturas medidas nos pontos de amostragem, nos dias de coleta do material.

4.5 ADAPTAÇÃO EM CALCOPIRITA E MANUTENÇÃO DOS ENRIQUECIMENTOS MICROBIANOS

A partir do enriquecimento microbiano, 3 consórcios de microrganismos foram selecionados (A, B e L).

Para adaptação dos consórcios em calcopirita, foram realizados cultivos em frascos *Erlenmeyer* de 250 mL contendo 45 mL de meio 9K (pH 2), 2 g de concentrado de calcopirita (autoclavados a 121°C por 60 min) e 5 mL da cultura do consórcio selecionado. Os frascos foram mantidos em agitador rotativo a 130 rpm e 35°C, e as amostras foram subcultivadas a cada 12 dias. Após o sétimo subcultivo consecutivo dos três consórcios, foi realizado um novo cultivo utilizando como inóculo 5 mL de uma mistura de volumes iguais das culturas A, B, e L. Esse cultivo formou o consórcio de bactérias denominado ABL que foi utilizado nos ensaios de biolixiviação deste trabalho. Durante todo o período deste trabalho, a manutenção da cultura ABL foi realizada através de subcultivos em concentrado de calcopirita, como descrito anteriormente.

4.6 OXIDAÇÃO DE FERRO E ENXOFRE PELO CONSÓRCIO SELECIONADO

Após etapa de adaptação do consórcio ABL em concentrado de calcopirita, testou-se a capacidade oxidativa do consórcio bacteriano em 2 tipos de substratos: Fe^{2+} e S^0 .

Preparou-se os meios de cultura 9K-Fe e 9K-S como descrito no item 4.3. Frascos *Erlenmeyer* de 125 mL contendo 25 mL de meio 9K-Fe ou 9K-S foram inoculados com 10% v/v da cultura ABL previamente cultivada em concentrado de calcopirita. Os frascos foram incubados a 35°C sob agitação (130 rpm). A avaliação de crescimento foi realizada após 7 dias, por observação visual e microscópica. Para o meio 9K-S determinou-se o pH do meio, parâmetro indicativo de atividade bacteriana.

4.7 PREPARO DO INÓCULO PARA OS ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO

O inóculo foi preparado a partir de um subcultivo do consórcio ABL com 12 dias de crescimento. Foram adicionados 5 mL desse subcultivo em frascos *Erlenmeyer* 250 mL contendo 45 mL de meio 9K (pH 2) e 2 g de concentrado de calcopirita. O inóculo foi cultivado durante 12 dias nas mesmas condições de temperatura e agitação do subcultivo.

Para a obtenção das células do inóculo, o conteúdo do frasco foi transferido para um béquer esterilizado, e a cultura foi mantida em repouso por 4 horas para separação dos sólidos por decantação. Após esse período, a parte líquida contendo as células foi retirada cuidadosamente com auxílio de uma pipeta e transferida para um tubo tipo Falcon de 50 mL estéril. A suspensão foi centrifugada por 20 minutos a 15000 rpm. O sobrenadante foi descartado e as células obtidas no fundo do tubo foram lavadas, duas vezes, com solução de H_2SO_4 0,01M. Após as lavagens, centrifugou-se a solução novamente e as células foram ressuspensas em meio 9K (pH 2) e inoculadas nos ensaios de biolixiviação. A contagem das células do inóculo foi realizada utilizando-se Câmara de Neubauer.

4.8 ENSAIO DE BIOLIXIVIAÇÃO DE CALCOPIRITA

Foram empregados frascos *Erlenmeyer* de 250 mL contendo 2 g de concentrado de calcopirita previamente autoclavados (60 min a 121°C) e secos em estufa a 50°C. A esses frascos foram adicionados 45 mL de meio 9K (pH 2) e 5 mL de inóculo ($1 \cdot 10^7$ células/mL) preparado como descrito no item 0. Em seguida, os frascos foram pesados e colocados em incubador rotativo a 130 rpm e 35°C. Antes de cada amostragem, os frascos foram pesados e a água perdida por evaporação foi repostada com água destilada estéril. Uma amostra de 0,5 mL foi retirada a cada 4 dias para análise de cobre total e pH. Os frascos tiveram seus pesos registrados antes da reincubação.

Foram realizados controles negativos seguindo o mesmo procedimento descrito acima, porém sem adição de inóculo. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4.9 ESTUDO DO TEMPO DE CULTIVO DO INÓCULO

Foram preparados inóculos com diferentes tempos de crescimento: 4, 8 e 12 dias. Os inóculos foram empregados nos respectivos ensaios de biolixiviação conforme descritos no item 4.8.

4.10 ANÁLISE DO DECAIMENTO DE CARBONATO EM FUNÇÃO DA ADIÇÃO DE ÁCIDO SULFÚRICO

Utilizou-se o reator modelo Labfors 5 (Infors, Basel, Suíça), de volume total 3,6 L, ao qual foram adicionados 200 g de rejeito SCV seco e 1 L de água destilada. As seguintes condições de operação foram empregadas: agitação de 800 rpm, temperatura 35°C e pH controlado pela adição de H₂SO₄ 1M. Inicialmente, manteve-se o pH controlado em 7,0. Quando o pH atingiu esse valor, o controle de pH foi desligado e após 1 hora de agitação, uma amostra foi retirada. O controle de pH foi novamente acionado, porém, diminuiu-se o set-point do pH para um valor menor que o anterior. Ao atingir esse valor de pH, o controle foi desligado. Novamente, após 1 hora, uma amostra foi retirada. Esse procedimento foi realizado diversas vezes até que o set-point do pH atingisse o valor de 2,0.

As amostras retiradas foram centrifugadas e o sólido resultante foi seco em estufa a 50°C para posterior análise de carbonatos.

4.11 TRATAMENTO ÁCIDO DO REJEITO

Utilizou-se a metodologia desenvolvida por Magalhães (2016). Foram adicionados ao reator modelo Labfors 5 (Infors, Basel, Suíça) de volume total de 3,6 L, 200 g de rejeito seco, 1 L de água destilada e 1,24 mL de H₂SO₄ 96% (v/v). A agitação foi mantida em 800 rpm por 2 horas. Após esse período, a agitação foi desligada. O sólido foi separado do líquido por decantação, lavado com água destilada e seco em estufa 50°C. Uma amostra sólida foi retirada para análise de carbonato final.

4.12 ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO DE REJEITO SCAVENGER EM FRASCOS AGITADOS

Foram utilizados frascos *Erlenmeyer* de 250 mL contendo 45 mL de meio 9K e 40 % (m/v) de sólidos do rejeito (exceções para os ensaios de densidade de polpa e de adição de sólidos) e 5 mL de inóculo com concentração celular 1.10^7 células/mL. Os frascos com os sólidos foram previamente autoclavados a 121°C por 60 min e secos em estufa a 50°C. Após a montagem dos experimentos, os frascos foram pesados e seus pesos anotados. Seguiu-se o mesmo procedimento para os controles negativos, substituindo-se o inóculo por 5 mL de meio 9K. Os frascos foram incubados em incubador rotativo a 130 rpm (exceção para o ensaio de efeito da agitação) e 35°C (exceção para o ensaio de efeito da temperatura).

Antes de cada amostragem, os frascos foram pesados e água destilada estéril foi adicionada para repor a água perdida por evaporação. Uma amostra de 0,5 mL foi removida de cada frasco e os pesos foram registrados antes da reincubação. As amostras foram retiradas a cada quatro dias para análise de concentração de metais e pH. Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata.

O rejeito SCV foi dividido em três tipos:

- *SCV Sem Tratamento*: Rejeito *Scavenger* não fracionado e sem tratamento prévio, seco em estufa a 50°C;
- *SCV Tratado*: Rejeito *Scavenger* não fracionado, previamente tratado com ácido;
- *Finos Tratado*: Apenas a fração menor que 0,045 mm do rejeito *SCV Sem Tratamento*, posteriormente tratado com ácido. Separação realizada por peneiramento a úmido, seguindo a mesma metodologia descrita no Item 4.2.2 para estudo da granulometria.

Nos ensaios de biolixiviação de rejeito *Scavenger* em frascos agitados foram avaliados, separadamente, diferentes parâmetros e/ou condições. Os tipos de rejeito utilizados em cada ensaio são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Tipos de rejeito *Scavenger* utilizados nos ensaios de biolixiviação em frascos agitados

Ensaio	SCV Sem Tratamento	SCV Tratado	Finos Tratado
Biolixiviação de rejeito SCV Sem Tratamento	X		
Biolixiviação de rejeito SCV Tratado		X	
Biolixiviação de SCV Tratado utilizando líquido proveniente da acidificação do rejeito SCV Sem Tratamento	X		X
Tamanho da Partícula		X	X
Enriquecimento do inóculo			X
Ajuste de pH			X
Adição de Fe (II)			X
Agitação			X
Densidade de Polpa			X
Adição de sólidos			X
Temperatura		X	

- Biolixiviação de rejeito *SCV Sem Tratamento*

Foram avaliadas duas condições: 1) Ajuste diário de pH em 2; 2) Ajuste de pH em 2 apenas no tempo zero da biolixiviação. O pH foi corrigido com adição de solução de H₂SO₄ 10M. O mesmo volume de ácido adicionado nas amostras foi adicionado aos controles negativos, nos dois tipos de ensaio.

- Biolixiviação de rejeito *SCV Tratado*

Ensaio de biolixiviação de rejeito *SCV Tratado* sem ajuste de pH.

- Biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* utilizando líquido proveniente da acidificação do rejeito *SCV Sem Tratamento*.

Após adição do meio 9K (pH 2) ao rejeito *SCV Sem Tratamento*, o pH foi corrigido para 2 com adição de H₂SO₄ 10M. O conteúdo do frasco foi transferido para tubo Falcon 50 mL estéril e centrifugado a 15000 rpm por 20 minutos. A parte líquida (solução LI) foi utilizada na biolixiviação de rejeito

Finos Tratado (substituiu-se o meio de cultura pela solução LI). Foi realizado um ensaio de biolixiviação paralelo, denominado Controle positivo, com rejeito *Finos Tratado* e meio 9K.

- Efeito do tamanho da partícula

Foi realizado ensaio de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* (tamanho de partícula $<0,045$ mm). Um ensaio de biolixiviação com rejeito *SCV Tratado* (não fracionado) foi realizado paralelamente como controle positivo.

- Biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* utilizando inóculo enriquecido

O inóculo foi preparado conforme item 0, com algumas modificações: além de 2% (m/v) de concentrado de calcopirita, foi adicionado 1% (m/v) de enxofre elementar, e o meio 9K (pH 2) foi substituído pelo meio 9K-Fe. O cultivo foi mantido em incubador rotativo a 130 rpm e 35°C por 6 dias, quando a concentração de células atingiu o valor de $\sim 1.10^7$ células/mL.

- Efeito do ajuste do pH

Foram realizados dois ensaios de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado*, um com correção diária de pH em 2 e o outro sem correção de pH. O pH foi ajustado com solução H_2SO_4 10M e o mesmo volume de ácido adicionado aos frascos inoculados foi também adicionado aos controles negativos.

- Efeito da Adição de Fe^{2+}

Foram realizados dois ensaios de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* com adição de Fe^{2+} . No primeiro ensaio foram adicionados 2 mL de uma solução concentrada de $FeSO_4.7H_2O$ (25% m/v) no tempo zero. No segundo ensaio, 2 mL de $FeSO_4.7H_2O$ (25% m/v) foram adicionados após 4 dias de biolixiviação. O volume da solução de $FeSO_4.7H_2O$ adicionado equivale a um aumento da concentração de Fe^{2+} na solução de biolixiviação de 2 g Fe^{2+} /L. Um ensaio de biolixiviação sem adição de ferro foi realizado como controle positivo.

- Efeito da agitação

Foram realizados ensaios de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* em frascos agitados a 130 rpm e 170 rpm.

- Efeito da densidade de polpa

Foram realizados ensaios de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* com densidade de polpa de 20 % (m/v) e 40 % (m/v).

- Biolixiviação com adição de sólidos

Foi realizado ensaio de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* com 20% (m/v) de sólidos e após oito dias de cultivo, mais 10 g de rejeito Finos Tratado foram adicionados ao meio. A quantidade total de sólidos adicionada ao ensaio é equivalente àquela utilizada nos ensaios de biolixiviação com 40% (m/v) de densidade de polpa inicial.

- Efeito da Temperatura

Foram realizados ensaios de biolixiviação de rejeito *SCV Tratado* em diferentes temperaturas. Foram avaliados quatro valores de temperaturas: 32°C, 35°C, 38°C e 40°C.

4.13 ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO EM BIORREATOR TIPO BATELADA

Utilizou-se biorreator modelo Labfors 5 (Infors, Basel, Suíça) de volume total de 3,6 L e diâmetro interno de 150 mm (Figura 3). O biorreator possui chicanas internas, dois impelidores tipo turbina de Rushton e aspensor de ar em formato de “L”. Empregaram-se as seguintes condições nos cultivos em regime de batelada simples: 1,5 L de volume inicial, sendo 1,35 mL de meio 9K (pH 2) e 150 mL de inóculo com concentração celular 1.10^7 células/mL, vazão de aeração de 1 vvm, agitação 500 rpm e temperatura de 35°C. Não haveria material suficiente para realizar todos os ensaios em biorreator se a densidade de polpa de 40% (m/v) fosse utilizada. Por essa razão, os ensaios em biorreator (batelada e coluna de bolhas) foram realizados com polpa de 20% (m/v) de rejeito *SCV Tratado*. O ensaio foi realizado em triplicata.

Figura 3. Biorreator modelo Labfors 5 (Infors)

A cada quatro dias uma amostra de 10 mL foi retirada para análise de concentrações de metais, pH e potencial redox (ORP).

4.14 ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO EM BIORREATOR TIPO COLUNA DE BOLHAS

Foram construídas 3 colunas de altura 40 cm cada a partir de tubo de PVC de diâmetro interno 10 cm. Na base de cada coluna, foi acoplado um difusor circular de ar. Para manter a temperatura dos cultivos próxima ao valor desejado, foram construídas camisas em torno das colunas a partir de tubos de PVC de 15 cm de diâmetro. As camisas de cada coluna foram conectadas em série por mangueiras, por onde a água circulava. Um banho termostático foi utilizado para aquecer a água das camisas e manter a temperatura interna das colunas de biolixiviação em aproximadamente 35°C. Um esquema representativo do ensaio é apresentado na Figura 4.

Figura 4. Esquema do sistema de biorreatores tipo coluna de bolhas
Fonte: Autoria própria

As seguintes condições foram utilizadas nos ensaios de coluna: 1,5 L de volume inicial de meio 9K (pH 2) (10% v/v de inóculo com concentração celular $\sim 1.10^7$ células/mL), 20% (m/v) de rejeito SCV *Tratado*, vazão de ar de 6 L/min e altura inicial de líquido de 24 cm (medida feita com o ar ligado).

A cada 4 dias uma amostra de 10 mL foi retirada para análise de concentrações de metais, pH e ORP. As amostras foram retiradas utilizando-se uma pipeta de vidro, tomando-se o cuidado de posicionar a pipeta numa mesma altura nas 3 colunas. Utilizou-se um termopar para medição da temperatura interna das colunas.

A altura de líquido da coluna de biolixiviação foi estimada com auxílio de um bastão de vidro de 0,5 cm de diâmetro e 50 cm de altura. O bastão limpo e seco foi introduzido na coluna até sua base tocar o fundo da mesma. Como o líquido do cultivo é escuro (devido aos sólidos suspensos no meio), uma marca se formou no bastão. A medida em centímetros da base do bastão até a marca formada foi considerada como a altura de líquido dentro da coluna.

O valor da altura de líquido foi registrado após cada amostragem. Assim, nos dias de retirada de amostra, a altura de líquido da coluna foi medida e água destilada estéril foi adicionada até que a altura de líquido atingisse aquela registrada após a retirada da amostra anterior.

4.15 MÉTODOS ANALÍTICOS

A concentração de carbonato de cálcio nos sólidos foi realizada utilizando-se Calcímetro (EIJKELKAMP 08.53).

Nos ensaios de biolixiviação em frascos agitados, o pH das amostras foi analisado utilizando-se tiras indicadoras de pH (MColorpHast/ Merck Millipore), a fim de evitar contaminação pela introdução do eletrodo de pH em diferentes frascos. O pH final de cada ensaio foi medido com pHmetro de bancada (QUALXTRON - modelo QX1500). Nos ensaios que exigiam a medida exata do pH (ensaio com ajuste de pH em 2), utilizou-se o pHmetro de bancada apenas para medição do pH do primeiro frasco de cada ensaio. Logo, o pH deste frasco foi ajustado com solução de H_2SO_4 10 M e o volume de ácido utilizado foi replicado nos outros frascos. O eletrodo de pH foi deixado de molho em solução de etanol 70% por pelo menos 1 hora antes da análise do pH.

Nos ensaios em biorreator (batelada e coluna), as análises de pH e potencial redox (ORP) foram feitas através de pHmetro de bancada (QUALXTRON - modelo QX1500). Para medição do potencial redox utilizou-se eletrodo combinado de platina com eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado).

As concentrações de cobre, ferro total e cálcio nas amostras líquidas foram determinadas através de análise de espectrometria de absorção atômica (SHIMADZU, AA7000). As concentrações de outros metais foram realizadas por análise de espectrometria óptica de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES/VARIAN, 720-ES). As concentrações iônicas de sulfato e fluoreto foram determinadas por cromatografia iônica (METROHM, 850 Professional IC).

Os teores de cobre das amostras sólidas foram determinados por ICP-OES, utilizando-se a digestão multiácidos para preparação das amostras, como descrito no item 4.2.1. Essas análises foram efetuadas pelo LCT-USP.

A determinação de íons férricos em solução foi realizada por método colorimétrico baseado na metodologia desenvolvida por Karamanev et al. (2002). Em tubos de ensaio foram misturados 0,1 mL da amostra, 0,3 mL de solução de ácido sulfosalicílico (SSA) 10% e 9,6 mL de água destilada. Após 20 minutos, a absorbância da amostra foi lida a 500 nm. A leitura de absorbância foi realizada em relação a um branco no qual a amostra foi substituída por água destilada. A concentração de íons ferrosos foi determinada indiretamente através da diferença entre as concentrações de ferro total e íons férricos.

Para os ensaios realizados em triplicata, os valores das análises são apresentados como a média ($n=3$) $\pm$ desvio padrão.

4.16 CÁLCULO DA EXTRAÇÃO DE COBRE

A taxa de extração de cobre (Cu%) foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$Cu\% = \frac{Cu_{solução}}{(Cu_{sólido} \cdot M/V)} \cdot 100$$

Onde $Cu_{solução}$ é a concentração de cobre na solução (mg/L), $Cu_{sólido}$ é a concentração de cobre inicial no sólido (mg/g), M é a quantidade de sólido utilizada (g) e V é o volume experimental (L).

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA DO CONCENTRADO E REJEITO DE FLOTAÇÃO

5.1.1 Análise elementar dos materiais sólidos

Os resultados das análises de composição química realizadas por espectroscopia de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) para as amostras de concentrado de calcopirita e rejeito *Scavenger* são apresentados na Tabela 2.

Dentre os elementos dosados, o ferro é o mais abundante na amostra de rejeito *Scavenger*, seguido por alumínio e cálcio. A concentração de cobre no rejeito é de 0,73% em massa.

Tabela 2. Análise de composição química por ICP-OES

Elemento	Teor (% em massa)	
	Concentrado de calcopirita	Rejeito Scavenger
Al	0,53	6,5
Ca	1,3	5,1
Cu	28,9	0,73
Fe	29,4	10,9
K	0,35	1,8
Mg	0,49	1,9
Na	0,18	2,6
Ni	0,14	0,09
S	31,7	2,3

Foi efetuada análise química semi-quantitativa por fluorescência de raio-X (FRX) para a amostra de rejeito *Scavenger*. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Análise de composição química do rejeito *Scavenger* por FRX

Composto/Elemento	Teor (% em massa)
SiO ₃	45,9
Fe ₂ O ₃	14,1
Al ₂ O ₃	11,0
CaO	7,68
MgO	5,77
SO ₃	3,91
Na ₂ O	2,93
P ₂ O ₅	1,96
K ₂ O	1,21
CuO	1,01
TiO ₂	0,54
NiO	0,151
Cl	0,139
MnO	0,062
Cr ₂ O ₃	0,059
PF	3,53

Observa-se que no rejeito *Scavenger* a sílica é predominante, sendo a concentração de SiO₃ igual a 45,9%. O Fe₂O₃ é o segundo composto mais abundante seguido pelo Al₂O₃, com teores de 14,1% e 11%, respectivamente. Pela análise de FRX, o teor de CuO é de 1,01%, o que equivale a uma concentração do elemento cobre de aproximadamente 0,8% em massa.

Ressalta-se que o método utilizado para a análise por FRX é semi-quantitativo e, portanto, os resultados representam concentrações aproximadas dos elementos na amostra. Para os cálculos de taxa de extração de cobre realizados nesse trabalho foram considerados os teores determinados pelo método de digestão multiácidos seguido de análise por ICP-OES (Tabela 2).

5.1.2 Fração granulométrica

A análise granulométrica do rejeito *Scavenger* apresentou o seguinte resultado:

Tabela 4. Granulometria do rejeito *Scavenger*, teor de cobre de cada fração (ICP-OES) e porcentagem de cobre de cada fração no rejeito total.

Fração (mm)	Massa Retida (%)	Teor de Cu (%)	%Cu no Rejeito Total
+0,106	4,5	2,3	14,2
-0,106+0,075	3,3	0,84	3,8
-0,075+0,045	10,1	0,51	7,2
-0,045	82,1	0,66	74,9

Analisando a Tabela 4 é possível observar que cerca de 82% das partículas do rejeito *Scavenger* encontram-se com granulometria igual ou menor que 0,045 mm. O teor de cobre em massa dessa fração (fração Finos) encontra-se em torno de 0,66%, ou seja, essa fração contém 74,9% do cobre total do rejeito.

5.2 ENRIQUECIMENTO E ADAPTAÇÃO DOS CONSÓRCIOS MICROBIANOS

Três dos quatro grupos formados a partir de sólidos e líquidos coletados na mina de Sossego apresentaram crescimento microbiano após o enriquecimento das culturas em concentrado de calcopirita (Tabela 5).

Tabela 5. Utilização de calcopirita pelo enriquecimento microbiano

Grupo	CuFeS ₂
A	+
B	+
C	-
L	+

'+' = crescimento; '-' = não crescimento

A Figura 5 apresenta a concentração de cobre em função do tempo de cultivo para os ensaios de enriquecimento microbiano.

Figura 5. Cobre dissolvido em função do tempo para os cultivos de microrganismos presentes nos grupos A, B, C e L enriquecidos em meio 9K (pH 2) com 4% (m/v) de concentrado de calcopirita.

O aumento da concentração do cobre em solução indica lixiviação e, portanto, presença de microrganismos lixiviantes nos grupos A, B e L. Observou-se que para essas culturas, o pH se manteve ácido enquanto que para a cultura C, em que não foram observados crescimento microbiano e lixiviação de calcopirita, o pH aumentou para 5 (Tabela 6).

Tabela 6. Valor de pH no final dos ensaios de enriquecimento microbiano

Grupo	A	B	C	L	C-
pH final	2,5	2	5	2	2,5

Devido ao potencial dos grupos A, B e L para biolixiviação de calcopirita, esses grupos foram escolhidos para dar continuidade aos estudos de seleção do consórcio de microrganismos lixiviantes.

Após adaptação dos consórcios A, B e L em calcopirita, foi realizada uma mistura proporcional dos três cultivos, formando o consórcio denominado ABL.

O consórcio ABL foi subcultivado em concentrado de calcopirita a cada 12 dias para manutenção da cultura. A Figura 6 apresenta a concentração de cobre no tempo zero e no tempo 12 dias para seis subcultivos consecutivos do consórcio ABL.

Figura 6. Concentração de cobre no tempo zero e após 12 dias para seis subcultivos consecutivos do consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com 4% (m/v) de concentrado de calcopirita.

Observou-se que após os sucessivos subcultivos em calcopirita, o consórcio ABL não perdeu a sua capacidade de lixiviar cobre. Após 12 dias de cultivo, os valores de concentração de cobre variaram entre 1000 mg/L e 1600 mg/L. Durante todo o

período desse trabalho, as concentrações de cobre dos subcultivos do consórcio ABL apresentaram o mesmo comportamento observado na Figura 6.

5.3 OXIDAÇÃO DE DIFERENTES SUBSTRATOS PELO CONSÓRCIO ABL

Para verificar a presença no consórcio ABL de microrganismos capazes de oxidar ferro e/ou enxofre foram realizados cultivos utilizando como substrato formas reduzidas desses compostos.

Foi feita uma avaliação visual para verificar indício de crescimento de bactérias oxidantes de ferro (II) na solução composta pelo meio 9K-Fe.

Figura 7. Cultivo do consórcio ABL em meio 9K-Fe. Esquerda: Amostra controle, não inoculada. Direita: Amostra inoculada.

Após 7 dias de cultivo, observou-se variação da cor do meio de cultura, de cor verde-claro para vermelho-tijolo (Figura 7). A mudança de cor acontece devido à oxidação de Fe (II) para Fe (III) pelas bactérias, e, portanto, indica qualitativamente a presença de microrganismos oxidantes de Fe (II) na solução (GARCIA, 1989).

Já para as bactérias oxidantes de enxofre, além da visualização da turbidez, a diminuição do pH é um indício de crescimento microbiano já que a oxidação de S^0 produz H_2SO_4 (GARCIA, 1989). Foi observado diminuição do pH do cultivo em meio 9K-S de 3,0 para 0,7 após 7 dias de incubação.

O crescimento microbiano também foi verificado pela observação em microscópio óptico, sendo constatado aumento da concentração de células após 7 dias tanto para o cultivo em meio 9K-Fe quanto para o cultivo em meio 9K-S.

5.4 ENSAIO DE BIOLIXIVIAÇÃO DE CALCOPIRITA PELO CONSÓRCIO ABL

Com o objetivo de verificar a capacidade de biolixiviação de calcopirita pelo consórcio selecionado ABL, realizou-se um cultivo em meio mineral 9K (pH 2) suplementado com concentrado de calcopirita.

Os resultados de cobre dissolvido ao longo do tempo de cultivo são apresentados na Figura 8, assim como os valores de pH do meio.

Figura 8. Cobre dissolvido e variação de pH na biolixiviação de concentrado de calcopirita 4% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (Bio) ensaio inoculado; (C-) controle negativo, sem inóculo.

Observa-se maior taxa de lixiviação de cobre nos quatro primeiros dias de cultivo, sendo que após esse período a concentração de cobre do meio líquido foi de 1150 (± 2) mg/L. A taxa de lixiviação de cobre após esse ponto diminui, mas a extração prossegue praticamente de forma linear durante o resto do ensaio. Após 28 dias de cultivo, a concentração de cobre dissolvido alcançada foi de 1792 (± 73) mg/L, o que

corresponde à uma extração de cobre de aproximadamente 15%. Menos de 1,5% de cobre foi solubilizado no controle negativo.

A reação de biolixiviação de concentrado de calcopirita apresentou inicialmente um consumo de ácido, indicado pelo aumento do pH de 2,0 para 2,5 após 4 dias de cultivo. Posteriormente, observou-se queda do pH que apresentou o valor de 2,1 no final do ensaio.

5.5 EFEITO DO TEMPO DE CULTIVO DO INÓCULO NA BIOLIXIVIAÇÃO DE CALCOPIRITA

A influência do tempo de cultivo do inóculo na eficiência de extração de cobre pelo consórcio ABL foi estudada através de ensaios de biolixiviação utilizando inóculos com diferentes tempos de crescimento: 4, 8 e 12 dias. Os resultados estão apresentados na Figura 9.

Figura 9. Biolixiviação de concentrado de calcopirita 4% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) inoculado com cultura de 4, 8 e 12 dias de crescimento.

O tempo de crescimento do inóculo não resultou em diferenças na cinética de biolixiviação de concentrado de calcopirita pelo consórcio ABL. A partir desse

resultado foi estabelecido o tempo de cultivo de 4 dias para o inóculo utilizado nos ensaios de biolixiviação.

5.6 BIOLIXIVIAÇÃO DO REJEITO SCAVENGER EM FRASCOS AGITADOS

5.6.1 Biolixiviação do rejeito SCV *Sem tratamento*

A biolixiviação de rejeito SCV *Sem tratamento* pelo consórcio ABL foi avaliada através de dois ensaios. No primeiro, ajustou-se o pH do meio para 2,0 com H_2SO_4 10 M apenas no início do cultivo (Ensaio S/pH). No segundo, o pH foi ajustado para 2,0 diariamente (Ensaio pH2).

Os resultados de cobre dissolvido e pH são apresentados na Figura 10.

Figura 10. Concentração de cobre dissolvido e valores de pH durante biolixiviação de rejeito SCV *Sem tratamento* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (pH2) Ensaio com ajuste diário de pH em 2,0; (S/pH) Ensaio com ajuste de pH em 2,0 apenas no tempo zero; (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.

Observa-se que no tempo zero ocorre lixiviação química pela adição de ácido em ambos os ensaios, sendo solubilizados aproximadamente 220 mg/L de cobre. Foi

necessária adição de 1,08 mL de H_2SO_4 10 M para ajuste do pH da solução inicial em 2.

Observou-se baixa taxa de extração de cobre para o ensaio sem ajuste de pH diário (S/pH), apresentando o mesmo comportamento do ensaio da amostra controle, não inoculada. Após 28 dias de cultivo, o valor de cobre dissolvido foi de 316 (± 22) mg/L. Observa-se que o pH desse ensaio aumentou para 3,5 após 4 dias de cultivo e se manteve nesse valor até o final.

Já para o ensaio com ajuste diário de pH em 2,0 (pH2) foi observado aumento linear da concentração de cobre no líquido durante os 28 dias. A concentração final de cobre foi 733 (± 49) mg/L. Os resultados indicam pouca ou até mesmo nenhuma diferença na lixiviação de cobre entre o ensaio inoculado (pH2) e o ensaio não inoculado (C- pH2). Ao todo, 2 mL de H_2SO_4 10M foram adicionados durante o ensaio para manutenção do pH em 2.

Após 28 dias, analisaram-se as culturas finais em microscópio óptico e não foi observada presença de bactérias, em ambos os ensaios.

5.6.2 Tratamento ácido do rejeito *Scavenger*

A análise do rejeito SCV em calcímetro mostrou que o material contém em média 10 g de carbonatos por quilo de amostra. O aumento de pH durante o ensaio de biolixiviação pode estar associado a essa quantidade de carbonatos. Assim, foi realizado um ensaio avaliando-se o decaimento de carbonatos na amostra sólida em função da massa de ácido sulfúrico adicionada em reator agitado, contendo 1 L de água destilada e 200 g de rejeito sólido. Os resultados foram expressos como gramas de carbonato de cálcio por quilo de amostra (Figura 11). Observa-se que a concentração de carbonatos diminui linearmente em função da adição de ácido sulfúrico na amostra.

Figura 11. Concentração de CaCO_3 no sólido em função da massa de H_2SO_4 adicionada em reator com 20% (m/v) de teor de polpa de rejeito SCV.

Tendo como base esses resultados, Magalhães (2016) realizou um estudo avaliando a biolixiviação de rejeito SCV em função da concentração inicial de carbonatos no sólido. Esse estudo mostrou que a concentração inicial máxima de carbonatos para que ocorra a biolixiviação pelo consórcio ABL em meio 9K (pH2), sem adição complementar de ácido sulfúrico durante o ensaio, deve ser de aproximadamente 3 g CaCO_3 /kg de amostra. Assim, adotou-se a metodologia desenvolvida por Magalhães (2016) para a realização do tratamento ácido do rejeito SCV.

Os teores de cobre e carbonatos antes e depois do tratamento ácido do rejeito SCV são indicados na Tabela 7.

Tabela 7. Concentrações de carbonatos e cobre no rejeito SCV antes e depois do tratamento ácido.

Tratamento Ácido	CaCO ₃ (g/kg sólido)	Cobre (% em massa)
Antes	9,5 ± 0,3	0,73*
Depois	1,59 ± 0,01	0,69 ± 0,02

*Resultado em unicata

5.6.3 Biolixiviação do rejeito *Scavenger* previamente tratado

A biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* pelo consórcio ABL foi avaliada durante 28 dias e os resultados são apresentados na Figura 12.

Figura 12. Concentração de cobre dissolvido e valores de pH durante biolixiviação de Rejeito SCV *Tratado* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (Bio) ensaio inoculado; (C-) controle negativo, sem inóculo.

Nos quatro primeiros dias do ensaio de biolixiviação, 1025 (± 10) mg/L de cobre foram solubilizados. Após esse período, a taxa de biolixiviação diminuiu bruscamente, sendo a concentração de cobre final igual a 1505 (± 11) mg/L, que representa 55 % de cobre extraído em solução.

Observa-se que o pH inicial do meio aumentou no tempo zero, de 2,0 para 2,5. Após 8 dias, o pH diminuiu, estabilizando-se em 2,0.

No controle negativo ocorreu lixiviação de 245 ($\pm$ 24) mg/L de cobre. O pH do meio aumentou para 4 nos primeiros dias e se manteve nesse valor ao longo do ensaio. A análise com pHmetro de bancada mostrou que o valor final do pH do meio foi de 3,7.

A Tabela 8 apresenta a quantidade de H₂SO₄ utilizado durante a realização dos ensaios de biolixiviação de rejeito SCV *Sem Tratamento* e de rejeito SCV *Tratado* (não está incluso o ácido presente no meio de cultura 9K).

Tabela 8. Quantidade de ácido utilizada nos ensaios de biolixiviação

Ensaio	H ₂ SO ₄ concentrado (mL)	massa de rejeito (g sólidos)	massa de H ₂ SO ₄ (g/kg sólidos)
Biolixiviação SCV sem tratamento	pH 2	1,10	20
	S/pH	0,60	20
Biolixiviação SCV Tratado (Tratamento ácido)	1,24	200	11

Nos ensaios com rejeito SCV *Sem Tratamento* foram adicionados 53 g de H₂SO₄ por quilo de rejeito para ajuste inicial do pH tanto nos frascos do ensaio S/pH quanto nos frascos do ensaio pH 2. No caso do ensaio pH 2, foram acrescentados 45 g de H₂SO₄ por quilo de rejeito para manutenção do pH em 2 ao longo do ensaio, totalizando 98 g de H₂SO₄ por quilo de rejeito após 28 dias. Enquanto para o ensaio com rejeito SCV *Tratado*, em que o ácido foi adicionado somente na etapa anterior à biolixiviação (isto é, no tratamento ácido de 200 g de rejeito), foram utilizados 11 g de H₂SO₄ por quilo de sólido, 89 % a menos que na biolixiviação de rejeito SCV *Sem Tratamento* com pH mantido em 2 (ensaio pH 2).

5.6.4 Biolixiviação de *Finos Tratado* utilizando líquido proveniente da acidificação do rejeito SCV *Sem Tratamento*

O objetivo deste ensaio foi verificar se o ácido adicionado para redução do pH a 2, no tempo zero do ensaio de biolixiviação de rejeito SCV *Sem tratamento* (item 5.6.1) resulta em uma solução (Solução LI) com efeito inibitório sobre o processo de biolixiviação.

São apresentados na Figura 13 os resultados da biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* utilizando-se a solução LI (Ft + LI), e os resultados da biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* utilizando-se apenas meio de cultura 9K (Ft + 9K).

Figura 13. Concentração de cobre dissolvido e pH durante biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* 40% (m/v) pelo consórcio ABL. (Ft + LI) Rejeito *Finos Tratado* e solução LI; (Ft + 9K) Rejeito *Finos Tratado* e meio 9K (pH 2).

A dissolução de cobre durante a biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* é baixa quando utilizada a solução LI. O valor de cobre dissolvido no ensaio (Ft + LI) aumentou de 364 (± 34) mg/L no dia zero para 610 (± 14) mg/L após 28 dias. Observa-se que o pH do meio aumentou para 3,5 após 4 dias e se manteve nesse valor até o final do ensaio. Já para o ensaio (Ft + 9K), o cobre lixiviado alcançou a concentração de 1771

(± 38) mg/L e o pH se manteve abaixo de 3 durante todo o cultivo. Não foi observada presença de microrganismos no final do ensaio (Ft + LI).

A Tabela 9 mostra a composição elementar das soluções LI, resultante da adição de 1,08 mL de H₂SO₄ 10 M em 20 g de rejeito *SCV Sem Tratamento* e 45 mL de meio 9K, e da solução denominada LT, resultante da adição de 45 mL de meio 9K em 20 g de rejeito *Finos Tratado*.

De acordo com a Tabela 9, as principais diferenças estão nas concentrações de: alumínio, cálcio, cobre, ferro, sódio e silício.

Tabela 9. Composição elementar das soluções LI e LT por ICP-OES

Elemento	Concentração (mg/L)	
	LI	LT
Alumínio	155 $\pm$ 9	38 $\pm$ 5
Cálcio	1466 $\pm$ 50	411 $\pm$ 27
Cobre	452 $\pm$ 53	96 $\pm$ 2
Ferro	223 $\pm$ 12	17,2 $\pm$ 0,1
Potássio	292 $\pm$ 13	275 $\pm$ 3
Magnésio	112 $\pm$ 10	89 $\pm$ 3
Sódio	81 $\pm$ 6	24 $\pm$ 2
Níquel	27 $\pm$ 3	27,4 $\pm$ 0,3
Silício	176 $\pm$ 7	6,5 $\pm$ 0,2

Já a Tabela 10 indica a composição de íons fluoreto e sulfato para as mesmas soluções, e para a solução do meio 9K.

Tabela 10. Concentração de fluoreto e sulfato por Cromatografia Iônica

Ânion	Concentração (mg/L)		
	LI	LT	9K
Fluoreto	36,6	3,39	n.d.
Sulfato	3858	4526	4398

'n.d.' = não detectado

Observa-se que a concentração de fluoreto da solução LI é mais de 10 vezes maior que a da solução LT. A concentração de sulfato da solução LT é próxima da apresentada pelo meio 9K. Já para a solução LI, observou-se diminuição da concentração de sulfato em relação ao meio 9K.

Para os próximos ensaios em frascos agitados descritos neste trabalho (com exceção do ensaio em que foi estudado o efeito do pH), os resultados de pH não serão mostrados dado que esse parâmetro apresentou o mesmo comportamento em todos os ensaios com rejeito tratado. Para as amostras inoculadas, depois de um pequeno aumento, o pH diminui para 2,0. Já para as amostras não inoculadas, o pH aumenta no início para 4,0 e permanece nesse patamar.

5.6.5 Efeito do tamanho da partícula

Foi realizado peneiramento a úmido do rejeito *SCV Sem Tratamento* para separação da fração < 0,045 mm, denominada *Finos Tratado*. Como reportado no item 5.1.2, 82% da massa de rejeito *SCV Sem tratamento* possui tamanho de partícula inferior a 0,045 mm.

A análise de teor de cobre dos sólidos após tratamento ácido mostrou que o rejeito *Finos Tratado* contém 0,64% em massa de cobre contra 0,69% do rejeito *SCV Tratado*.

Foram realizados ensaios de biolixiviação com rejeito *SCV Tratado* e com o rejeito *Finos Tratado*. Como as condições utilizadas nos dois ensaios foram iguais e as concentrações de cobre iniciais dos sólidos são próximas, foi possível avaliar o

efeito do tamanho da partícula na biolixiviação. Os resultados estão apresentados na Figura 14.

Figura 14. Concentração de cobre dissolvido durante biolixiviação de rejeito *Scavenger* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (Finos) Rejeito *Finos Tratado*, fração do rejeito SCV com tamanho de partícula menor que 0,045 mm; (Total) rejeito *SCV Tratado*, não fracionado; (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.

Após 28 dias, o valor de cobre dissolvido na biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* foi maior do que aquele da biolixiviação de rejeito *SCV Tratado*, 1790 (± 18) mg/L contra 1500 (± 10) mg/L. Observa-se que a taxa de biolixiviação do ensaio (Finos) no período de 0 a 12 dias é ligeiramente maior do que a do ensaio (Total). A extração de cobre do ensaio de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* foi de 70% em massa.

5.6.6 Enriquecimento do inóculo

O objetivo desse ensaio foi verificar o efeito do enriquecimento do inóculo com outras fontes oxidáveis como ferro e enxofre, além da calcopirita, na biolixiviação de rejeito *Finos Tratado*.

Nos primeiros 4 dias, o ensaio com inóculo cultivado com 3 substratos diferentes (C+Fe+S) apresentou uma biolixiviação mais lenta em comparação ao ensaio com inóculo cultivado apenas com calcopirita (Conc). Após esse período, a taxa de lixiviação do ensaio (C+Fe+S) aumentou, e com 20 dias, as curvas de concentração de cobre de ambos os ensaios se encontraram em torno de 1650 mg/L (Figura 15).

Figura 15. Concentração de cobre dissolvido durante biolixiviação de Rejeito *Finos Tratado* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2), utilizando inóculos cultivados previamente em diferentes substratos. (Conc) Inóculo cultivado em concentrado de calcopirita (4% m/v); (C+Fe+S) Inóculo cultivado em mistura de concentrado de calcopirita (4% m/v), FeSO₄ (4,5% m/v) e enxofre elementar (1% m/v); (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.

5.6.7 Efeito do pH

O efeito do controle do pH foi estudado através de ensaios de biolixiviação seguindo a mesma metodologia dos ensaios do item 5.6.1, porém com sólido previamente tratado (rejeito *Finos Tratado*). Assim, enquanto em um ensaio o pH do meio foi ajustado em 2,0 diariamente com solução de H₂SO₄ 10M, no outro ensaio o pH não foi ajustado. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 16.

Figura 16. Concentração de cobre dissolvido e valores de pH durante biolixiviação de resíduo *Finos Tratado* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (pH2) Ensaio com ajuste diário de pH em 2,0; (S/pH) Ensaio sem ajuste de pH; (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.

Após 28 dias de cultivo, as concentrações de cobre atingiram valores de 1910 (± 11) mg/L e 1118 (± 29) mg/L para os ensaios de biolixiviação sem ajuste de pH (S/pH) e com ajuste de pH em 2 (pH2), respectivamente. Os controles negativos apresentaram lixiviação química de 293 (± 3) mg/L de cobre para o ensaio sem ajuste de pH, e 965 (± 3) mg/L de cobre para o ensaio com ajuste de pH em 2.

O comportamento do ferro (Fe^{2+} e Fe^{3+}) em solução foi avaliado e os resultados são apresentados na Figura 17.

Figura 17. Concentração de (A) Fe^{2+} e (B) Fe^{3+} durante biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2). (pH2) Ensaio com ajuste diário de pH em 2,0; (S/pH) Ensaio sem ajuste de pH; (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.

Observou-se que no ensaio sem ajuste de pH (S/pH) as concentrações de Fe^{2+} foram baixas. Já a concentração de Fe^{3+} aumentou rapidamente nos doze primeiros dias atingindo 1320 (± 36) mg/L, permaneceu constante por um período de 8 dias e

depois diminuiu. O controle negativo apresentou concentrações de Fe^{2+} e Fe^{3+} praticamente nulas.

No caso do ensaio com ajuste de pH 2 (pH2), a concentração de Fe^{2+} aumentou gradativamente e alcançou o valor de 1450 (± 19) mg/L após 28 dias. Durante todo o período, o ensaio apresentou baixas concentrações de Fe^{3+} . As concentrações de Fe^{2+} e Fe^{3+} das amostras inoculadas (pH2) apresentaram praticamente os mesmos valores dos controles negativos (C- pH2).

5.6.8 Efeito da adição de ferro (II)

Como apontado pelos resultados do item 5.6.7, a concentração de Fe^{2+} do ensaio de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* sem ajuste de pH é baixa. Assim, foi realizado um ensaio com o objetivo de avaliar a influência da adição de íons Fe^{2+} em diferentes tempos durante a biolixiviação desse mesmo rejeito pelo consórcio ABL. Os resultados de cobre dissolvido são apresentados na Figura 18.

A adição de ferro no tempo zero (Fe t0) contribuiu para o aumento da biolixiviação inicial de zero a dois dias. Porém, após esse período, a lixiviação diminuiu resultando em um valor menor de cobre dissolvido para esse ensaio. A adição de ferro no tempo 4 dias (Fe t4) não teve efeito sobre a biolixiviação e a taxa de cobre dissolvido, apresentando a mesma performance que o ensaio sem adição de ferro (C+).

Já para os controles negativos, a adição de ferro resultou em diferentes taxas de lixiviação química. Uma maior lixiviação foi observada para o ensaio (C- Fe t0), seguida pelo ensaio (C- Fe t4).

Figura 18. Concentração de cobre dissolvido em função do tempo durante biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com adição de 2g/L de Fe^{2+} no tempo zero (Fe t0), após 4 dias (Fe t4) e sem adição de ferro (C+). (C-) Controle negativo, sem adição de inóculo.

As concentrações de Fe^{2+} e Fe^{3+} durante a biolixiviação são apresentadas na Figura 20 e Figura 19, respectivamente.

Observa-se que a concentração de Fe^{2+} diminui rapidamente após a adição da solução de FeSO_4 tanto para o ensaio (Fe t0) em que o ferro foi adicionado no dia zero, quanto para o ensaio (Fe t4) em que o ferro foi adicionado no tempo 4 dias. Já para os controles negativos, o decaimento da concentração de Fe^{2+} é gradual (Figura 19).

Figura 19. Concentração de íons ferrosos em função do tempo durante biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com adição de 2g/L de Fe^{2+} no tempo zero (Fe t0), no tempo quatro dias (Fe t4) e sem adição de ferro (C+). (C-) Controle negativo, não inoculado.

Pela análise da Figura 20 verifica-se que as concentrações de Fe^{3+} dos ensaios inoculados apresentaram comportamentos similares. Foi observado que a concentração de Fe^{3+} aumenta rapidamente no início dos ensaios e depois diminui gradualmente após aproximadamente 16 dias. Para o ensaio (Fe t0) a concentração de Fe^{3+} aumenta a partir do dia zero, enquanto para os ensaios (Fe t4) e (C+), essa concentração começa a aumentar após 4 dias. Os controles negativos apresentaram baixas concentrações de íons férricos.

Figura 20. Concentração de íons férricos em função do tempo durante biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com adição de 2g/L de Fe^{2+} no tempo zero (Fe t0), no tempo quatro dias (Fe t4) e sem adição de ferro (C+). (C-) Controle negativo, não inoculado.

A Figura 21 exibe a concentração de ferro total dissolvido nas amostras, soma dos resultados de concentrações de Fe^{2+} e Fe^{3+} apresentados nas figuras anteriores.

Tem-se que após a adição de Fe^{2+} no dia zero para o ensaio (Fe t0) e no dia 4 para o ensaio (Fe t4) há precipitação de ferro, representada pela diminuição da concentração de ferro total após 2 e 8 dias, respectivamente.

Após 16 dias, a concentração de ferro total dissolvido diminui para os três ensaios (Figura 21).

Figura 21. Concentração de ferro total em função do tempo durante biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com adição de 2 g/L de Fe^{2+} no tempo zero (Fe t0), no tempo quatro dias (Fe t4) e sem adição de ferro (C+). (C-) Controle negativo, não inoculado.

5.6.9 Efeito da agitação

Com a finalidade de avaliar o efeito de agitação nos ensaios de biolixiviação de rejeito em frascos agitados, foi realizado um ensaio aumentando a velocidade de agitação de 130 rpm para 170 rpm.

Os resultados apresentados na Figura 22 mostram que o aumento da velocidade de agitação de 130 para 170 rpm não teve efeito sobre a biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* pelo consórcio ABL.

Figura 22. Concentração de cobre dissolvido em função do tempo durante biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em frascos agitados com velocidade de rotação de 130 rpm ou 170 rpm.

5.6.10 Efeito da densidade de polpa

Foi realizado um ensaio de biolixiviação com 20 e 40 % de polpa de rejeito com a finalidade de avaliar o efeito da densidade de polpa sobre o processo de biolixiviação (Figura 23).

Os resultados mostraram que a biolixiviação aumentou proporcionalmente com o aumento da densidade de polpa. Após 28 dias de cultivo, 913 (± 8) mg/L e 1819 (± 32) mg/L de cobre dissolvido foram obtidos com 20% e 40% de densidade de polpa, respectivamente. Os controles negativos também mostraram resultados proporcionais, ou seja, o dobro de sólidos gerou o dobro de cobre dissolvido em solução.

Figura 23. Concentração de cobre dissolvido em função do tempo durante biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com densidades de polpa de 20% e 40% (m/v).

5.6.11 Ensaio com adição de sólidos

Este ensaio foi realizado com o objetivo de analisar a viabilidade da execução de um ensaio de biolixiviação em batelada alimentada.

A Figura 24 mostra que a cinética de biolixiviação segue o mesmo padrão de ensaios anteriores, ou seja, a lixiviação aumenta rapidamente nos quatro primeiros dias e em seguida diminui. Esse comportamento é observado independentemente de quando o sólido é adicionado ao meio, seja no dia 0 ou no dia 8. Observa-se que as taxas de biolixiviação de 0 a 4 dias e de 8 a 12 dias são parecidas.

No final dos 28 dias de ensaio, 1740 (± 25) mg/L de cobre foram dissolvidos na biolixiviação. Resultado semelhante ao apresentado na biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* com densidade de polpa inicial de 40% (item 5.6.5).

Figura 24. Concentração de cobre dissolvido em função do tempo durante biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) com densidade de polpa inicial de 20% (m/v) e alimentação (↓) de mais 20% (m/v) de sólidos após 8 dias de cultivo.

5.7 ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO EM BIORREATOR TIPO BATELADA

Os ensaios em biorreator foram realizados com o objetivo de avaliar a ampliação de escala dos ensaios de biolixiviação de rejeito *Scavenger*. Além disso, a amostragem de um volume maior do que aquele dos ensaios em frascos agitados permitiu a análise de parâmetros como pH e potencial redox, além de outros compostos em solução.

Após 28 dias, 811 mg/L de cobre foram dissolvidos na biolixiviação pelo consórcio ABL de 20% de polpa de rejeito *SCV Tratado*, em biorreator tipo batelada. O pH que começou em 2,6, subiu para 2,7 após 4 dias e depois diminuiu, estabilizando-se em aproximadamente 2,1 após 12 dias de cultivo (Figura 25).

Figura 25. Cobre dissolvido e pH em função do tempo durante biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo batelada.

Os resultados de ferro total dissolvido e potencial redox são apresentados na Figura 26.

A concentração de ferro total aumentou rapidamente de 0 a 8 dias, e depois diminuiu gradualmente. A análise do estado de oxidação do ferro mostrou que, assim como nos ensaios em frascos agitados, o ferro total dissolvido durante a biolixiviação encontra-se na forma iônica Fe^{3+} (dados não mostrados). O potencial redox aumentou no início do ensaio, alcançou o valor aproximado de 550 mV após 4 dias e permaneceu nesse patamar até 28 dias.

Figura 26. Ferro total dissolvido e potencial redox (ORP) em função do tempo durante biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo batelada.

Além de cobre e ferro em solução, foram analisadas as concentrações de outros metais dissolvidos (cálcio, potássio e níquel) por ICP-OES (Figura 27).

Os resultados mostram que a concentração de cálcio diminuiu ao longo do ensaio de biolixiviação, de 294 mg/L no tempo zero para 56 mg/L após 28 dias. Após aumento nos quatro primeiros dias, a concentração de potássio diminuiu, atingindo o valor zero após 16 dias de cultivo. Observou-se lixiviação de 106 mg/L de níquel, o que equivale à uma extração de 53% desse metal (o teor de níquel inicial no rejeito SCV *Tratado* é 0,10 ($\pm 0,01$) % em massa, resultado obtido por ICP-OES).

Figura 27. Concentração de cálcio, potássio e níquel em solução durante biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo batelada.

As concentrações iônicas de sulfato e fluoreto durante o ensaio de biolixiviação em biorreator tipo batelada foram obtidas por análises de cromatografia iônica (Figura 28).

Após 28 dias de biolixiviação, a concentração de fluoreto foi de 12 mg/L. Já a concentração de sulfato aumentou a partir do dia 4, alcançando o valor de ~14000 mg/L no final do ensaio. Observa-se que o período em que houve maior aumento da concentração de sulfato, de 4 a 8 dias (Figura 28), coincide com o período de maior queda do pH (Figura 25).

Figura 28. Concentração iônica de sulfato e fluoreto durante biolixiviação de rejeito SCV *Tratado 20%* (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo batelada.

5.8 ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO EM BIORREATOR TIPO COLUNA DE BOLHAS

Logo no início dos ensaios, o sistema de aquecimento externo montado para as colunas apresentou um problema de vazamento que foi solucionado após quatro dias. Assim, durante este período, as camisas de aquecimento não funcionaram corretamente, o que dificultou o desenvolvimento inicial dos ensaios de biolixiviação.

A Tabela 11 exibe os resultados de temperatura interna média das 3 colunas (C1, C2 e C3) durante os 4 primeiros dias e de 5 a 28 dias de ensaio.

Tabela 11. Temperatura interna média das colunas durante a biolixiviação

Coluna	$T_{\text{média}}$ 0 a 4 d (°C)	$T_{\text{média}}$ 5 a 28 d (°C)
C1	34	37
C2	32	35,5
C3	31	34

A Tabela 11 mostra que durante os quatro primeiros dias, a temperatura interna média da coluna C1 foi a que mais se aproximou da temperatura de trabalho (35°C), sendo que as colunas C2 e C3 apresentaram temperaturas mais baixas. De 5 a 28 dias, houve variação de 1,5 °C de uma coluna para a outra, sendo que a coluna C1 apresentou a maior temperatura, 37°C, a C3 a menor, 34 °C, e a C2, a temperatura intermediária de 35,5 °C.

Os resultados da biolixiviação pelo consórcio ABL de rejeito SCV *Tratado* em biorreator tipo coluna de bolhas são apresentados na Figura 29.

Devido às dificuldades mencionadas, os resultados obtidos apresentaram diferentes comportamentos no início da biolixiviação. De 0 a 8 dias, a biolixiviação de cobre da coluna C1 foi maior que a das outras duas colunas. Em doze dias, ~ 670 mg/L de cobre foram solubilizados na coluna C1, valor que se manteve até o final do ensaio. As taxas de biolixiviação das colunas C2 e C3 diminuíram após 4 dias de cultivo, aumentaram de 8 a 12 dias para C2 e de 8 a 16 dias para C3, e tornaram a declinar após estes períodos. Em 28 dias de ensaio, aproximadamente 520 mg/L de cobre foram lixiviados tanto na coluna C2 quanto na coluna C3.

Figura 29. Cobre dissolvido e pH em função do tempo durante biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo coluna de bolhas.

Também foi observado que o pH da coluna C1 subiu para 3,5 após 4 dias e depois diminuiu, estabilizando-se em 2,2 após 12 dias. Já para as colunas C2 e C3, o pH aumentou para 3,7 nos primeiros 8 dias e depois foi diminuindo, atingindo o valor de 2,2 em 16 dias. Observa-se que a queda do pH para a coluna C2 tem maior velocidade de 8 a 12 dias, enquanto para a coluna C3, a velocidade é maior de 12 a 16 dias (Figura 29). Essa maior velocidade de redução do pH está relacionada com a taxa de biolixiviação de cobre, que também é maior nos intervalos de 8 a 12 dias e 12 a 16 dias para as colunas C2 e C3, respectivamente.

A concentração de ferro total aumentou de 8 a 16 dias para a coluna C1, de 8 a 20 dias para a coluna C2 e de 12 a 24 dias para a coluna C3 (Figura 30). Após esses intervalos, observou-se diminuição da concentração de ferro dissolvido nas três colunas. Durante todo o ensaio, o ferro apresentou-se no estado oxidado +3 (dados não mostrados). O potencial redox teve o mesmo comportamento para as três colunas, aumentou de 320 mV para aproximadamente 570 mV em quatro dias e se manteve neste patamar até o final do ensaio.

Figura 30. Ferro total dissolvido e potencial redox (ORP) em função do tempo durante biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo coluna de bolhas.

Ao finalizar o ensaio, verificou-se que parte do material sólido se depositou no fundo das três colunas, obstruindo os orifícios dos difusores de ar. Esse material foi separado, secado e posteriormente pesado. Os resultados dessa análise mostraram que dos 300 g de sólidos iniciais, 46 g, 57,2 g e 61,2 g ficaram acumulados no fundo das colunas C1, C2 e C3, respectivamente. Ou seja, para a coluna em que foi observada maior dissolução de cobre, a quantidade de sólido sedimentada foi menor.

5.9 EFEITO DA TEMPERATURA

Decidiu-se realizar ensaio para avaliar se as pequenas variações de temperatura observadas entre os ensaios em biorreator tipo coluna de bolhas podem alterar significativamente os resultados da biolixiviação pelo consórcio ABL.

Os resultados apresentados na Figura 31 mostraram que quanto maior a temperatura, maior a concentração de cobre dissolvido, comportamento verificado tanto nas amostras inoculadas quanto nos controles negativos. No final do experimento, 1447 (± 11) mg/L, 1523 (± 9) mg/L, 1607 (± 7) mg/L e 1670 (± 7) mg/L de cobre foram dissolvidos nos ensaios de biolixiviação a 32°C, 35°C, 38°C e 40°C, respectivamente.

Figura 31. Concentração de cobre em função do tempo durante biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em diferentes temperaturas (T32: 32°C; T35: 35°C; T38: 38°C; T40: 40°C).

Por outro lado, a quantidade total de ferro total dissolvido foi maior nos ensaios realizados em temperaturas menores. Observa-se que a concentração de ferro aumenta rapidamente de 0 a 8 dias para os ensaios a 38°C e 40°C, e depois diminui gradativamente em uma velocidade maior para o ensaio a 40°C. Já para os ensaios a 32°C e 35°C, a liberação de ferro é maior de 4 a 12 dias. Nesses ensaios, a precipitação de ferro é mais lenta em relação aos ensaios com temperaturas de 38°C e 40°C. Assim, tem-se que quanto maior a temperatura, mais acentuada foi a precipitação de ferro após 28 dias de ensaio (Figura 32).

Figura 32. Concentração de ferro total em função do tempo durante biolixiviação de resíduo SCV Tratado 40% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em diferentes temperaturas. (T32: 32°C; T35: 35°C; T38: 38°C; T40: 40°C).

5.10 EXTRAÇÃO DE COBRE DO REJEITO

A Tabela 12 apresenta as porcentagens de extração de cobre (Cu%) dos ensaios de biolixiviação em frascos agitados com os resíduos SCV Tratado e Finos Tratado e do ensaio em biorreator tipo batelada com resíduo SCV Tratado.

Tabela 12. Extração de cobre final (Cu%) para os ensaios de biolixiviação de resíduo

Ensaio	Tipo de resíduo	M (g)	V (L)	Cu _{sólido} (%)	Cu _{solução} (mg/L)	Cu% (%)
Frascos Agitados	SCV Tratado	20	0,05	0,69	1505	55
	Finos Tratado	20	0,05	0,64	1790	70
Biorreator tipo batelada	SCV Tratado	300	1,5	0,69	811	59

Cu_{sólido}: concentração de cobre inicial no sólido; Cu_{solução}: concentração de cobre final na solução; M: massa de sólido utilizada; V: volume experimental

Verificou-se que a extração de cobre dos ensaios de biolixiviação de rejeito *SCV Tratado* em frascos agitados e em biorreator tipo batelada foram parecidas, 55% e 59% em massa, respectivamente. A extração de cobre para o ensaio com rejeito *Finos Tratado* foi de 70% em massa (Tabela 12).

5.11 BALANÇO DE MASSA DE COBRE

Foram realizados balanços de massa de cobre para o tratamento ácido do rejeito e para o ensaio de biolixiviação do rejeito *SCV Tratado* em biorreator tipo batelada (Figura 33 e 34, respectivamente). Observa-se que os balanços de massa de cobre para os dois processos não necessariamente fecham, porém, os valores de entrada e saída são próximos. Isso ocorre provavelmente devido ao erro das análises químicas para determinação das concentrações de cobre no líquido e no sólido, além dos erros experimentais como o erro da balança e das vidrarias volumétricas (não calculados).

Figura 33. Balanço de massa de cobre para o tratamento ácido do rejeito *Scavenger*.

*Em *preto*: dados do processo e resultados das análises químicas. Em *vermelho*: dados calculados.

Figura 34. Balanço de massa de cobre para a biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* 20% (m/v) pelo consórcio ABL em meio 9K (pH 2) em biorreator tipo batelada.
*Em *preto*: dados do processo e resultados das análises químicas. Em *vermelho*: dados calculados.

6 DISCUSSÃO

6.1 SELEÇÃO DE CONSÓRCIO DE MICRORGANISMOS E BIOLIXIVIAÇÃO DE CONCENTRADO DE CALCOPIRITA PELO CONSÓRCIO ABL

Os microrganismos lixiviadores utilizados neste trabalho foram selecionados a partir de amostras sólidas e líquidas coletadas nos arredores da lagoa de rejeitos de uma mina de cobre. Em tais minas são desenvolvidos e adaptados nichos microbianos acidófilos que são conhecidos por serem responsáveis pela drenagem ácida de minas (COLMER; HINKLE, 1947; JOHNSON; HALLBERG, 2003; MARHUAL et al., 2008). A Mina de Sossego está localizada em Canaã dos Carajás, sudeste do Pará, onde a temperatura nos meses mais quentes (julho e agosto) passa dos 30°C. Assim, foi antecipado que os microrganismos de biolixiviação de tal local seriam acidófilos, adaptados a temperaturas moderadas e a uma elevada concentração de cobre. Isto provou ser verdadeiro, pois a partir da metodologia de enriquecimento de microrganismos em calcopirita foi obtido um consórcio microbiano mesófilo acidófilo capaz de biolixiviar cobre, o qual foi denominado consórcio ABL.

Xia et al. (2013) mostraram a importância da aplicação do enriquecimento e adaptação, antes de inocular e lixiviar a calcopirita, para garantir uma elevada extração de cobre. A partir de testes de biolixiviação de calcopirita, os autores demonstraram que uma menor porcentagem de extração de cobre é obtida quando utilizada a cultura original, sem adaptação, comparada aos testes em que as culturas foram previamente enriquecidas e adaptadas a calcopirita. Neste trabalho, a adaptação do consórcio ABL ao crescimento em concentrado de calcopirita assegurou a manutenção da atividade dos microrganismos de biolixiviação, uma vez que o consórcio manteve sua capacidade de biolixiviar esse substrato após os sucessivos subcultivos (Figura 6, p. 55).

Para aplicação na biolixiviação, um consórcio de microrganismos deve preferencialmente incluir pelo menos um microrganismo ferro-oxidante (para gerar íons férricos, o principal oxidante dos sulfetos minerais em licores ácidos) e um microrganismo sulfo-oxidante (para gerar a acidez necessária) (RAWLINGS; JOHNSON, 2007), características que foram observadas no consórcio ABL (item 5.3).

No ensaio de biolixiviação de concentrado de calcopirita pelo consórcio ABL, o resultado de extração de cobre de 15% após 28 dias de cultivo (Figura 8, p. 57) está de acordo com estudos da literatura que mostraram baixas taxas de extração de cobre (entre 10% - 30%) em experimentos realizados em condições de cultivo semelhante a este trabalho (% polpa, temperatura e agitação) com microrganismos mesófilos como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans* (HALLBERG; JOHNSON, 2001; KONISHI et al., 2001; BEVILAQUA et al., 2002; RODRÍGUEZ et al., 2003; MURHUAL et al., 2008; ZHAO et al., 2013).

Como o pH é um parâmetro importante para a biolixiviação, muitos autores optaram por controlá-lo durante os ensaios através da adição de ácido. Assim, além do cobre gerado pela biolixiviação, os autores incluíram o cobre lixiviado quimicamente em seus resultados de extração de cobre total, o que dificulta a comparação de trabalhos da literatura com os obtidos neste trabalho. Por exemplo, Vakylabad (2011) reportou extração de 35% de cobre em ensaios de biolixiviação de concentrado de calcopirita (5% m/v) com microrganismos mesófilos em frascos agitados (150 rpm) a 35 °C. Entretanto, durante todo o período do ensaio, o pH do meio foi controlado em 1,5 pela adição de ácido sulfúrico, resultando em 20% de cobre extraído no ensaio de controle negativo (não inoculado). Ou seja, do total de cobre dissolvido na biolixiviação, mais da metade foi resultado da lixiviação química.

Observou-se que a velocidade de biolixiviação de cobre pelo consórcio ABL diminui com o aumento do tempo de incubação (Figura 8, p. 57). A literatura atribui este comportamento à precipitação de compostos como jarosita e enxofre que formam uma camada na superfície do mineral causando a passivação de calcopirita (STOTT et al. 2000; WATLING, 2006).

O valor de pH durante o processo de biolixiviação de calcopirita depende de quatro diferentes reações: lixiviação ácida, oxidação do ferro, precipitação de hidróxidos férricos e oxidação do enxofre. A oxidação do ferro e a lixiviação ácida são reações que consomem íons H^+ , o que pode ser o principal motivo para o rápido aumento de pH no início da biolixiviação de calcopirita pelo consórcio ABL, de 0 a 4 dias. Por outro lado, a oxidação de enxofre e a precipitação de hidróxidos de ferro (como a formação de jarosita) são reações que produzem íons H^+ , podendo assim explicar o decaimento do pH após 4 dias de biolixiviação (Figura 8) (SCHIPPERS; SAND, 1999; FU et al., 2008; XIA et al., 2013).

Ao utilizarem culturas mistas de microrganismos na biolixiviação de calcopirita, muitos trabalhos reportaram mudanças ao longo do tempo nas comunidades de microrganismos, devido às diferenças de características fisiológicas das espécies presentes nos consórcios e aos parâmetros químicos que estão em constante mudança durante as várias etapas da biolixiviação (WANG et al., 2014b; FENG; YANG; WANG, 2015). Como o consórcio ABL tem composição desconhecida e o inóculo foi preparado utilizando-se como substrato o próprio concentrado de calcopirita, pressupunha-se que diferentes tempos de crescimento do inóculo resultassem em comunidades diversificadas e, portanto, em diferentes performances de biolixiviação de concentrado de calcopirita. Porém, isto não foi observado já que a variação do tempo de crescimento do consórcio ABL resultou em iguais taxas de dissolução de cobre (Figura 9, p. 58).

6.2 BIOLIXIVIAÇÃO DO REJEITO SCAVENGER EM FRASCOS AGITADOS

Uma vez desenvolvido um consórcio capaz de biolixiviar calcopirita, seguiu-se com os ensaios de biolixiviação de rejeito *Scavenger* pelo consórcio ABL em frascos agitados.

Baseado em experimentos preliminares que mostraram que o rejeito SCV contém minerais que consomem ácido e em análises de calcímetro que indicaram concentração de aproximadamente 10 g de carbonatos por quilo de amostra de rejeito SCV, presumia-se a necessidade de contínua adição de ácido durante os processos de biolixiviação desse rejeito para que o pH desejado fosse mantido.

Porém, os resultados dos ensaios de biolixiviação de rejeito SCV *Sem tratamento* com ajuste diário de pH em 2 mostraram que a lixiviação foi exclusivamente química, provocada pela adição de ácido, e não biológica. Já para o ensaio com ajuste de pH em 2 apenas no tempo zero, a lixiviação praticamente não ocorreu, e a baixa concentração de cobre dissolvido foi resultado da adição inicial de ácido ao processo (Figura 10, p. 59). Além disso, observou-se morte celular em ambos os ensaios provavelmente devido à inibição dos microrganismos por compostos liberados no meio líquido após reação com o ácido sulfúrico, como confirmado posteriormente nos ensaios de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* utilizando a

solução LI (solução proveniente do ajuste do pH a 2 com H₂SO₄ 10M no tempo zero dos ensaios de biolixiviação de rejeito SCV *Sem tratamento*) (Item 0).

A análise da solução LI, em ICP-OES (Tabela 9, p. 65), mostrou maiores concentrações de alumínio, cálcio, cobre, ferro, sódio e silício, em relação à solução LT (tempo zero dos ensaios de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* utilizando-se apenas meio de cultura 9K). Shimizu (2012) reportou a presença de silicatos em amostras de minério de cobre da Mina do Sossego, principalmente na forma de quartzo. A dissolução de silicatos pode resultar na liberação de elementos traços tóxicos para a biolixiviação, além do aumento do pH (DOPSON; LÖVGREN; BOSTRÖM, 2008). Já foi demonstrado que o silício pode causar impacto na biolixiviação. Esse elemento quando solubilizado aumenta a viscosidade do licor de lixiviação e, portanto, reduz as taxas de transferência de oxigênio, prejudicando o crescimento dos microrganismos (PIETROBON et al., 1997; DOPSON; LÖVGREN; BOSTRÖM, 2008).

A análise de cromatografia iônica (Tabela 10, p. 66) mostrou que a solução LI contém maior quantidade de íons fluoreto do que a solução LT, 36,6 mg/L contra 3,4 mg/L. Sabe-se que o fluoreto é um potencial agente tóxico para os microrganismos de biolixiviação (BRIERLEY; KUHN, 2010). Razzell e Trussell (1963) reportaram que a adição de 17 mg de NaF por litro (7,6 mg F⁻/L) causou 30% de inibição da oxidação de ferro por *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Já o aumento da concentração para 67 mg de NaF por litro (30 mg F⁻/L) resultou em inibição completa da oxidação microbiana de íons ferrosos.

Além disso, a solução LI apresenta menor concentração de sulfato quando comparada à solução LT, 3858 mg/L contra 4526 mg/L. A concentração de sulfato da solução LI é menor inclusive do que aquela apresentada pela solução do meio 9K, 4398 mg/L. Como a solução LI é formada pelo meio 9K (pH2) mais a adição de 1,08 mL de H₂SO₄ 10M, esperava-se uma concentração maior de íons sulfato. O resultado inferior indica que houve precipitação. Luszczkiewicz e Chmielewski (2008) reportaram que durante a reação de carbonato de cálcio e ácido sulfúrico na lixiviação química, o ânion sulfato liga-se a um cátion de cálcio e precipita sob a forma de sulfato de cálcio hidratado. Esse produto sólido pode formar uma camada de passivação, diminuindo a disponibilidade da superfície mineral para a solução de lixiviação

(TSHILOMBO; OJUMU, 2013). A concentração de cálcio da solução LI é superior a 1400 mg/L, possibilitando a formação do sulfato de cálcio hidratado.

Para minimizar os efeitos gerados pela dissolução de minerais de ganga durante o ensaio de biolixiviação, foi realizado um tratamento prévio do rejeito com ácido sulfúrico. Os resultados indicam que a quantidade de carbonatos no rejeito diminuiu em 83 % após o tratamento, de 9,5 ($\pm 0,3$) para 1,59 ($\pm 0,01$) gramas de CaCO_3 por quilo de sólido. Já a concentração de cobre no rejeito foi reduzida de 0,73 % para 0,69 ($\pm 0,02$) % sugerindo que pouco cobre foi lixiviado durante o tratamento ácido (Tabela 7, p. 62).

Luszczkiewicz e Chmielewski (2008) realizaram a decomposição de carbonatos de um minério de cobre a partir do tratamento com ácido sulfúrico. Os autores reportaram que o tratamento foi muito seletivo, não lixiviou cobre, e resultou em uma aparente liberação de partículas de sulfetos minerais, melhorando os resultados de recuperação de cobre de um processo de flotação. Logo, além de contribuir com a remoção de elementos tóxicos, o tratamento ácido pode aumentar a área de superfície exposta dos minérios de interesse na reação de biolixiviação.

Durante a biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* não foi observada inibição das bactérias e a lixiviação foi biológica uma vez que os resultados indicaram grandes diferenças na dissolução de cobre entre os ensaios inoculados e não inoculados (controles negativos). O tratamento ácido suprimiu a necessidade de adição de ácido sulfúrico ao longo do processo de biolixiviação, sendo que o pH do meio se manteve abaixo de 3 durante os 28 dias de ensaio.

Assim, o consumo total de ácido da biolixiviação de rejeito SCV foi reduzido após o tratamento ácido. Os resultados mostraram que a lixiviação de cobre do ensaio com rejeito SCV *Sem tratamento* com ajuste de pH em 2 foi 51,3% menor, sendo o consumo de ácido deste ensaio quase 9 vezes superior ao ensaio com rejeito SCV *Tratado* (Tabela 8, p. 63). Esses resultados demonstram as vantagens do tratamento ácido prévio do sólido.

A biolixiviação de cobre para o ensaio com rejeito SCV *Tratado* apresentou o mesmo comportamento observado nos ensaios de biolixiviação com concentrado de calcopirita: maior taxa de dissolução de cobre de zero a quatro dias e queda brusca da taxa após esse período. De acordo com os resultados, o cobre dissolvido após os

primeiros 4 dias representa 68% do total de cobre dissolvido durante todo o ensaio (Figura 12, p. 62).

Visando o aumento dos resultados de dissolução de cobre, diferentes efeitos e condições foram estudados para os ensaios de biolixiviação de rejeito SCV *Tratado*.

Observou-se que a dissolução de cobre aumentou com a diminuição do tamanho de partícula, como reportado na literatura. A extração de cobre foi maior quando utilizada apenas a fração Finos do rejeito (100% das partículas com tamanho inferior a 0,045 mm) do que quando utilizado o sólido não fracionado, Total (82% das partículas com tamanho inferior a 0,045 mm) (Figura 14, p. 67).

Apesar de alguns autores afirmarem que uma maior extração de cobre pode ser obtida na biolixiviação de calcopirita quando utilizado culturas enriquecidas com outras fontes de energia como ferro e enxofre (XIA et al., 2013), o enriquecimento do inóculo com esses substratos não favoreceu os resultados de biolixiviação de rejeito SCV *Tratado*. Pelo contrário, os ensaios realizados com inóculo enriquecido em calcopirita, enxofre e ferro apresentaram uma cinética de biolixiviação mais lenta do que aquela dos ensaios com inóculo enriquecido apenas em calcopirita (Figura 15, p. 68). Os mesmos resultados foram observados em ensaios de biolixiviação de concentrado de calcopirita realizados pelo nosso grupo de pesquisa, utilizando-se inóculos enriquecidos com enxofre e ferro. Portanto, esses resultados mostraram que não foi necessário enriquecer o inóculo com outras fontes além da calcopirita para melhorar a biolixiviação com o consórcio ABL.

O ajuste do pH em 2 durante os ensaios de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* foi prejudicial para a dissolução de cobre e crescimento dos microrganismos. A dissolução de cobre foi 62% maior para o ensaio em que não houve ajuste do pH em comparação ao ensaio em que o pH foi mantido em 2 (Figura 16, p. 69). Para o ensaio sem ajuste de pH, observou-se um aumento deste parâmetro nos 4 primeiros dias e depois uma queda do pH, provavelmente, pela produção de ácido via oxidação biológica do enxofre ou precipitação de compostos férricos, como discutido anteriormente para os ensaios de concentrado de calcopirita (Item 6.1). Portanto, o ácido produzido durante o ensaio foi suficiente para a biolixiviação acontecer.

Assim como ocorreu durante a biolixiviação de rejeito SCV *Sem tratamento* com ajuste do pH em 2, foi observado diminuição da população de microrganismos durante a biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* com ajuste de pH em 2. Provavelmente, a

constante adição de ácido acelerou a dissolução de silicatos, aumentando a concentração de elementos tóxicos para a biolixiviação (DOPSON; LÖVGREN; BOSTRÖM, 2008). A maior parte do cobre dissolvido no ensaio com ajuste de pH em 2 foi resultante da lixiviação química por prótons, uma vez que existe pouca diferença das concentrações de cobre entre a cultura bacteriana e o controle negativo.

A ausência da atividade de microrganismos de biolixiviação é também demonstrada pela análise de ferro em solução. Observou-se que para os ensaios em que não houve inibição dos microrganismos (ensaio sem ajuste de pH), o ferro lixiviado apresentou-se na forma oxidada +3, provavelmente produto da oxidação bacteriana de Fe^{2+} . Já para os ensaios em que foi verificada morte celular (Ensaio com ajuste de pH em 2), não ocorreu bio-oxidação de ferro e, portanto, o ferro lixiviado apresentou-se na forma oxidada +2 (Figura 17, p. 70).

Muitos autores sugerem a contínua adição de ácido para controlar o pH do ensaio no valor desejado e assim manter a atividade das bactérias durante a biolixiviação, principalmente quando utilizado minérios de baixo teor e rejeitos (PLUMB; MCSWEENEY; FRANZMANN, 2008; MUTCH; WATLING; WATKIN, 2010; AHMADI et al., 2015). A comparação dos resultados obtidos neste trabalho com a literatura torna-se difícil dados os resultados conflitantes que muitas vezes se devem às diferentes condições de estudo, correspondentes a diferentes tipos de minérios e linhagens de bactérias.

Song et al. (2011) reportaram que o pH da solução de lixiviação afetou significativamente a eficiência da biolixiviação em estudos com minério de calcopirita de baixo teor (0,5% Cu) em frascos agitados. A diminuição do pH de 1,8 para 1,0 aumentou a solubilização de cobre e o crescimento celular de seis cepas acidófilas estudadas. Os ensaios com *A. ferrooxidans* em pH 1,8 e 28 °C resultaram em 2,7 vezes mais cobre lixiviado do que o controle abiótico. Já para os ensaios com *L. ferriphilum* no mesmo pH, a 37 °C, a biolixiviação não foi eficiente quando comparada ao controle não inoculado.

Em experimentos em colunas de biolixiviação de minério de baixo teor de cobre, Halinen et al. (2009) demonstraram que o consumo de ácido sulfúrico aumenta com a diminuição do pH. Apesar de uma maior biolixiviação de metais ser alcançada a pH 1,5, a dissolução de minerais de ganga também é significativa nesse pH, interferindo na recuperação dos metais. Baseado na otimização entre a biolixiviação

de metais, o consumo de ácido e a lixiviação de metais indesejados (tóxicos), os autores recomendam o controle do pH em 2,0.

Os estudos citados acima somados aos resultados encontrados neste trabalho demonstram que nem sempre o controle do pH em um determinado valor resulta em benefícios para a biolixiviação de metais. Muitas vezes, a adição contínua de ácido para o controle do pH pode mascarar os resultados da biolixiviação, colocando em questão o papel dos microrganismos na lixiviação de metais.

A adição de 2 g/L Fe^{2+} no tempo zero da biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* acelerou a dissolução de cobre nos dois primeiros dias de cultivo, porém reduziu o total de cobre lixiviado (Figura 18, p. 72). Observou-se que os microrganismos rapidamente oxidaram o Fe^{2+} a Fe^{3+} (Figura 20 e Figura 19, p. 73). Além disso, os resultados indicam que houve precipitação de ferro logo após a adição de íons ferrosos tanto no tempo zero da biolixiviação quanto no tempo quatro dias, e a partir de 16 dias de cultivo para todos os ensaios de biolixiviação, após aumento da dissolução de Fe^{3+} (Figura 21, p. 75).

Os resultados estão de acordo com estudos da literatura que mostraram que a adição de íons ferrosos, apesar de aumentar a taxa inicial de lixiviação de calcopirita, pode ser prejudicial pois aumenta a concentração de íons férricos em solução, beneficiando a formação de precipitados de ferro. Third, Cord-Ruwisch e Watling (2000) reportaram que a adição de 100 mM Fe^{2+} (5,6 g/L Fe^{2+}) favorece a lixiviação de calcopirita, porém a formação de Fe^{3+} devido à oxidação bacteriana suprime a dissolução desse minério. Como sugerido por Córdoba et al. (2008b), o aumento da concentração de Fe^{3+} produz uma “instabilidade química” no sistema que favorece a precipitação, sobretudo pelo aumento do potencial redox. Nessas circunstâncias, os autores presumem que a precipitação de íon férrico como jarosita é responsável pela passivação da calcopirita.

Os resultados mostraram que a adição de Fe^{2+} favoreceu a lixiviação química uma vez que os controles negativos dos ensaios com adição de Fe^{2+} apresentaram maior dissolução de cobre do que o controle negativo sem adição de Fe^{2+} . A gradual precipitação de ferro observada para esses ensaios (Figura 21) provavelmente se deve ao aumento do pH (RODRIGUEZ et al., 2003; DAOUD; KARAMANEV, 2006), que foi verificado em todos os controles negativos dos ensaios de biolixiviação de rejeito pelo consórcio ABL.

Um outro fator que não mostrou efeito significativo na dissolução de cobre foi a velocidade de agitação. O aumento da velocidade de agitação de 130 rpm para 170 rpm não foi suficiente para observar alguma alteração na biolixiviação de cobre do rejeito pelo consórcio ABL (Figura 22, p. 76).

Geralmente, as taxas de dissolução de metais diminuem com o aumento da densidade de polpa como reportado por vários autores (NEMATİ; HARRISON, 2000; AKCIL; CIFTCI; DEVECI, 2007; ABHILASH; MEHTA; PANDEY, 2013; WANG et al., 2014b). Porém, neste trabalho, as taxas de dissolução de cobre não foram influenciadas pela diminuição da densidade de polpa de 40% para 20% (m/v) de rejeito *Finos Tratado* (Figura 23, p. 77). A taxa de extração de cobre foi a mesma para as duas densidades de polpas estudadas. Esse resultado é relevante uma vez que a densidade de polpa deve ser a mais alta possível, a fim de melhorar o potencial de aplicação comercial da biolixiviação desse tipo de rejeito (NORRIS, 1997 apud WANG et al., 2014b)¹.

6.3 BIOLIXIVIAÇÃO DO REJEITO SCAVENGER EM BIORREATOR

Os resultados da biolixiviação de cobre do rejeito SCV *Tratado* (20% m/v) em biorreator tipo batelada a 500 rpm foram parecidos com aqueles dos ensaios em frascos agitados a 130 rpm. Isto mostra que pelo aumento de escala (biorreator tipo batelada) foi possível alcançar a mesma extração de cobre apresentada nos ensaios em escala inferior (frascos agitados) (Figura 25, p. 79).

A curva de pH apresentou o mesmo comportamento reportado nos ensaios em frascos agitados: aumento do pH no início, possivelmente devido ao consumo de ácido por minerais de ganga, seguido de diminuição, provavelmente pela bio-oxidação de enxofre e formação de precipitados de ferro (Figura 25, p. 79).

Após quatro dias, observou-se aumento do potencial redox de 300 mV para 550 mV (vs. Ag/AgCl). Esse resultado condiz com o aumento da proporção de íons Fe^{3+} em relação aos íons Fe^{2+} , observado nesse mesmo período (Figura 26, p. 80).

¹ NORRIS; P.R. **Thermophiles and bioleaching**. In: Rawlings, D.E. (Ed.), *Biomining—Theory, Microbes and Industrial Processes*. Springer, Berlim, p. 247–258, 1997.

A partir do dia quatro foi observada queda brusca da taxa de biolixiviação de cobre. Nesse momento, o potencial redox já se apresentava no seu maior valor, 550 mV (Pt vs. Ag/AgCl). Esses resultados estão de acordo com estudos da literatura que mostraram que a passivação de calcopirita ocorre em potenciais redox elevados, geralmente acima de 450 mV (vs. Ag/AgCl) (THIRD; CORD-RUWISCH; WATLING, 2002; CÓRDOBA et al., 2008a; GERICKE; GOVENDER; PINCHES, 2010).

Além da diminuição do pH, foi observado aumento da concentração de sulfato de quatro a oito dias, resultado que pode ser atribuído à bio-oxidação do enxofre (Figura 28, p. 82).

Com 8 dias, a concentração de Fe^{3+} atingiu seu valor máximo, 750 mg/L, e logo em seguida começou a diminuir (Figura 26, p. 80). A partir desse momento, também foi observada diminuição da velocidade de formação de sulfatos (Figura 28, p. 82). Provavelmente, a alta concentração de Fe^{3+} em conjunto com o elevado valor de potencial redox favoreceu a formação de jarosita, como apontado no item 6.2. Esta, por sua vez, pode ter contribuído com a queda do pH observada durante esse período. Além disso, foi observada diminuição da concentração de íons potássio em solução a partir de 4 dias, corroborando a hipótese de formação de jarosita.

Já a diminuição da concentração de cálcio em solução observada desde o início do ensaio, provavelmente se deve a formação de sulfato de cálcio hidratado (LUSZCZKIEWICZ; CHMIELEWSKI, 2008), como citado no item 6.2. O que pode ter contribuído para a aparente diminuição da velocidade de formação de sulfatos.

A concentração de fluoreto atingiu o valor de 12 mg.L^{-1} após 28 dias de cultivo. Como citado anteriormente, essa concentração pode ser tóxica para os microrganismos de biolixiviação (RAZZELL; TRUSSELL, 1963).

A partir dos ensaios em biorreator, foi possível analisar a lixiviação de níquel contido no rejeito *SCV Tratado*. Após 28 dias, 53% desse metal foi extraído do sólido (Figura 27, p. 81). Como não foi realizado um controle negativo (não inoculado) para os ensaios em biorreator tipo batelada, não é possível afirmar que a dissolução de níquel tem participação dos microrganismos presentes no consórcio ABL. Em condições experimentais semelhantes (20% de polpa em tanque agitado), Watling et al. (2013) reportaram recuperação de 55% de níquel a partir biolixiviação de minério contendo 0,032% deste metal.

Os ensaios em biorreator tipo coluna de bolhas apresentaram falhas experimentais e, por consequência, os resultados de dissolução de cobre das três colunas exibiram diferenças entre si.

Os resultados de pH, dissolução de ferro e potencial redox apresentaram os mesmos comportamentos daqueles observados em biorreator tipo batelada. Entretanto, as performances de biolixiviação para as colunas foram inferiores. Observaram-se cinéticas de lixiviação de cobre mais lentas para as colunas do que aquelas apresentadas pelos biorreatores tipo batelada (Figura 29, p. 83), resultando em menores taxas de extração.

A temperatura foi o parâmetro que exibiu maior diferença entre as três colunas, principalmente nos 4 primeiros dias de ensaio (Tabela 11, p. 82). Observou-se que para a coluna C1, que apresentou a maior temperatura inicial, a dissolução total de cobre foi maior do que aquela alcançada pelas outras duas colunas (C2 e C3). Além disso, o decaimento do pH (Figura 29, p. 83) e a dissolução de ferro (Figura 30, p. 84) foram observados primeiramente na coluna C1, logo após na coluna C2 e por último na coluna C3, sendo que coluna C1 apresentou a maior temperatura média de 4 a 28 dias (37°C) e a coluna C3, a menor (34°C)

Como se está trabalhando com um consórcio de microrganismos de composição desconhecida, se torna difícil a discussão de alguns resultados, uma vez que a variação de um parâmetro (como por exemplo, a temperatura) pode causar mudanças na dinâmica da população do consórcio (FENG; YANG; WANG, 2015).

Assim, foi realizado um ensaio para avaliar qual o efeito de pequenas variações de temperatura para a biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* pelo consórcio ABL. Os resultados mostraram que a dissolução do cobre aumenta com a temperatura, mesmo esta variando apenas 2 ou 3 °C (Figura 31, p. 86). Esse resultado foi observado tanto para as amostras inoculadas, quanto para as amostras não inoculadas. Além disso, quanto maior a temperatura, mais cedo verificou-se a precipitação de ferro.

Estes resultados estão de acordo com estudos da literatura que mostraram que o aumento da temperatura contribui com uma maior dissolução química do mineral, além de aumentar a oxidação microbiana de Fe^{2+} , gerando maiores concentrações de íons férricos em solução (RODRIGUEZ et al., 2003; KINNUNEN et al., 2006; VAKYLABAD; 2011). Boxall et al. (2017) reportaram que a elevação da temperatura aumenta a bio-oxidação de enxofre que, por sua vez, está associada à produção de

ácido sulfúrico. Como já citado anteriormente, o aumento da concentração de Fe^{3+} (produto da bio-oxidação de ferro), em conjunto com o aumento da concentração de sulfato (produto da bio-oxidação de enxofre) e elevados potenciais redox provocam a formação de precipitados de ferro, como a jarosita (CORDOBA et al., 2008; WATLING et al., 2014).

6.4 EXTRAÇÃO DE COBRE DO REJEITO

A Tabela 13 apresenta um sumário de estudos encontrados na literatura sobre biolixiviação de rejeito e minério de baixo teor. Informações como teor de cobre no sólido, densidade de polpa, pH, temperatura, condições de cultivo, consumo de ácido e extração de cobre do sólido foram compiladas e comparadas com os resultados obtidos neste trabalho.

Entre os trabalhos que utilizam rejeito em frascos agitados, o presente estudo apresentou a maior taxa de extração de cobre, 70% após 28 dias para o ensaio de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* (Tabela 13). Yang et al. (2011) realizaram biolixiviação de calcopirita de baixo teor, e reportaram que 70% de cobre foi recuperado em 68 dias, sendo que nos primeiros 18 dias a lixiviação foi ácida, provocada pela adição de ácido sulfúrico para controle de pH entre 0,8 e 1,6.

A densidade de polpa utilizada neste trabalho é uma das maiores reportadas na literatura. Ressalta-se que as limitações na densidade de polpa podem aumentar o capital e os custos operacionais da biolixiviação em reatores agitados, restringindo assim seu uso a minerais ou concentrados de alto valor (RAWLINGS et al., 2003).

Outros fatores como baixo teor de cobre no sólido e agitação mecânica inviabilizam a aplicação de biorreatores tipo batelada. Provavelmente, por essa razão, não foram encontrados muitos trabalhos reportando recuperação de cobre de rejeito ou minério de baixo teor nesse tipo de sistema. Duarte et al. (1990) atingiram uma extração de cobre de 82% em experimentos de biolixiviação em batelada de rejeito contendo 1,2% de cobre, com densidade de polpa de 15%. Porém, a temperatura utilizada foi de 70°C, o que acarreta em aumento dos custos de operação do processo.

Alguns trabalhos utilizaram colunas de percolação simulando um processo de biolixiviação em pilha. Como observado na Tabela 13, a quantidade de ácido utilizada nesses ensaios é claramente alta para que o processo seja econômico (HALINEN et

al., 2009; ZHEN et al., 2009; KONDRAT'EVA et al., 2012). Observa-se que o consumo de ácido destes trabalhos é de 14 a 43 vezes maior do que o consumo de ácido reportado no presente estudo.

Tabela 13. Comparação dos resultados deste trabalho com estudos da literatura de biolixiviação de rejeito ou minério de baixo teor de cobre

Referência	Tipo de Sólido	Teor Cu (%)	% Polpa (m/v)	pH	T (°C)	Condições	Consumo H ₂ SO ₄ (g/kg sólido)	Extração Cu (%)
Este trabalho	Rejeito	0,64	40	2,0	35	Frascos agitados 100% partículas < 0,045 mm 35°C, 130 rpm	11	70
DONG et al. (2011)	Rejeito	0,20	5	2,0	30	Frascos agitados 85% partículas < 0,25 mm 30°C, 160 rpm	184	30,8
AHMADI et al. (2015)	Rejeito	0,16	5	1,8	45	Frascos agitados 80% partículas < 0,05 mm 45°C, 150 rpm	n.r.	55
YANG et al. (2011)	Minério de baixo teor	0,18	10	0,8-1,6	35	Frascos agitados 90% partículas < 0,074 mm 35°C, 180 rpm	n.r.	70
PLUMB; MUDDLE; FRANZMANN (2008)	Minério de baixo teor	0,50	5	1,8	45	Frascos agitados 100% partículas < 0,075mm 45°C, 150 rpm	n.r.	40
Este trabalho	Rejeito	0,69	20	2,0	35	Biorreator Batelada 82% partículas < 0,045 mm 35°C, 500 rpm, 1 vvm	11	59
DUARTE et al. (1990)	Rejeito	1,20	15	2,0	70	Biorreator Batelada 100% partículas < 0,1 mm 70°C, Mecanicamente agitado, 1,5 vvm	n.r.	82
KONDRATEVA et al. (2012)	Rejeito	0,29	---	1,6-1,8	20-24	Colunas de percolação 80% partículas < 0,071 mm 20-24°C, 300 g sólido	150	51
HALINEN et al. (2009)	Minério de baixo teor	0,20	---	1,5	25	Colunas de percolação 100% partículas < 8 mm 25°C, 9 kg de sólido/5 L	160	12
ZHEN et al. (2009)	Minério de baixo teor	0,30		1,8	30-40	Colunas de percolação 100% partículas < 10 mm 30-40°C, 200 kg de sólido/40 L	470	30

'n.r.'= dado não reportado.

7 CONCLUSÕES

A biolixiviação de rejeito de processo de flotação de calcopirita da mina de Sossego (PA) foi investigada empregando-se um consórcio de microrganismos selecionados a partir da microbiota local, e as seguintes conclusões foram obtidas:

- A partir de amostras sólidas e líquidas coletadas ao redor da mina de Sossego foi possível selecionar um consórcio de microrganismos, denominado consórcio ABL, capaz de biolixiviar concentrado de calcopirita com a mesma eficiência de extração de cobre daquela reportada na literatura.
- Na ausência de um tratamento ácido, a biolixiviação do rejeito *Scavenger* não ocorre. Os resultados sugerem que a adição de ácido sulfúrico, para correção do pH inicial do ensaio de biolixiviação de rejeito SCV *Sem Tratamento* em 2,0, pode gerar a dissolução de carbonatos e silicatos em solução. Por sua vez, a dissolução desses minerais afetará a química da solução durante a biolixiviação, aumentando o pH da solução e liberando compostos inibidores como fluoreto, silício, alumínio e cálcio.
- O tratamento ácido é uma etapa importante para o processo de biolixiviação de rejeito *Scavenger* uma vez que esse reduz a quantidade de carbonatos no sólido, diminuindo significativamente o total de ácido empregado nos ensaios de biolixiviação.
- O tamanho de partícula é um fator importante para a otimização do processo de biolixiviação. A utilização de 100% de sólidos com tamanho de partícula inferior a 0,045 mm aumentou a dissolução de cobre do rejeito nos ensaios em frascos agitados. A extração de cobre para os ensaios de biolixiviação de rejeito SCV *Tratado* e rejeito *Finos Tratado* foi de 55% e 70% em massa, respectivamente.

- O enriquecimento do inóculo com outros substratos como enxofre e ferro, além de calcopirita, o aumento da agitação de 130 rpm para 170 rpm e a diminuição da densidade de polpa de 40 para 20 % (m/v), não melhoraram a biolixiviação de rejeito *Scavenger*. O que, por um lado, foi positivo, uma vez que a implementação de qualquer um desses fatores aumentaria os custos do processo.
- O controle de pH em 2,0 pela adição de ácido não é necessário para que o processo de biolixiviação de rejeito *SCV Tratado* aconteça. Os resultados mostram que durante a biolixiviação desse rejeito pelo consórcio ABL ocorre produção de ácido, provavelmente pela bio-oxidação de enxofre e formação de precipitados de ferro, que reduzem o pH, mantendo o meio ácido. Além disso, a adição de ácido provoca a lixiviação química, reduzindo a influência dos microrganismos na biolixiviação.
- A adição de 2 g/L de Fe^{2+} para aceleração do processo de biolixiviação, como sugerido pela literatura (FENG; YANG; WANG, 2015), não é uma estratégia adequada para os ensaios de biolixiviação de rejeito *Finos Tratado* pelo consórcio ABL. Os dados sugerem que a adição de ferro aumenta a concentração de Fe^{3+} em solução que por sua vez, propicia a formação de precipitados como a jarosita, acelerando o processo de passivação.
- É possível obter a mesma eficiência dos ensaios de biolixiviação de rejeito *SCV Tratado* em frascos agitados, nos ensaios em biorreator tipo batelada. A extração de cobre neste sistema foi de 59% em massa.
- É necessária uma otimização do sistema desenvolvido para os ensaios em biorreator tipo coluna de bolhas. O método de operação do sistema de aquecimento das colunas deve ser repensado, uma vez que as diferenças de temperaturas observadas para as três colunas podem influenciar os resultados de biolixiviação. Além disso, foi observado precipitação de sólidos

no fundo da coluna, provavelmente, devido à obstrução da passagem de ar pelos orifícios do difusor circular de ar.

- Os resultados de extração de cobre obtidos neste trabalho estão entre os mais altos reportados na literatura de biolixiviação de rejeito e minério de baixo teor, sendo que os resultados de consumo de ácido estão entre os mais baixos. Conclui-se que a biolixiviação de rejeitos da etapa *Scavenger* do processo de flotação da mina de Sossego, acompanhada do tratamento prévio ácido dos sólidos, é uma tecnologia promissora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABHILASH; MEHTA, K.D.; PANDEY, B.D. Bacterial leaching kinetics for copper dissolution from a lowgrade Indian chalcopyrite ore. **Rem: Revista Escola de Minas**, v. 66, n. 2, p. 245-250, 2013.
- ACEVEDO, F. The use of reactors in biomining processes. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 3, 2000.
- AHMADI, A.; KHEZRI, M.; ABDOLLAHZADEH, A.A.; ASKARI, M. Bioleaching of copper, nickel and cobalt from the low grade sulfidic tailing of Golgohar Iron Mine, Iran. **Hydrometallurgy**, v. 154, p. 1-8, 2015.
- AHONEN, L; TUOVINEN, O.H. Bacterial leaching of complex sulfide ore samples in bench-scale column reactors. **Hydrometallurgy**, v. 37, p. 1-21, 1995.
- 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.
- ANDERSEN, K.J.; LUNDGREN, D.G. Enzymatic studies of the iron-oxidizing bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*: evidence for a glycolytic pathway and Krebs cycle. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 15, n. 73–79, 1969.
- ASAI, S.; KONISHI, Y.; YOSHIDA, K. Kinetic model of batch bacterial dissolution of pyrite particles by *Thiobacillus ferrooxidans*. **Chemical Engineering Science**, 47 (1), 133-139, 1992.
- BERGERMAN, M.; DELBONI, H.; NANKRAN, M. Estudo de variabilidade e otimização do circuito de moagem SAG da Usina do Sossego. **Rem: Revista Escola de Minas**, v. 62, n. 1, p. 93-97, 2009.
- BEVILAQUA, D.; LEITE, A.L.L.C.; GARCIA Jr., O.; TUOVINEN, O.H. Oxidation of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 587–592, 2002.
- BOSECKER, K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 20, p. 591-604, 1997.
- BOSWELL, C.D.; NIENOW, A.W.; HEWITT, C.J. Studies on the effect of mechanical agitation on the performance of brewing fermentation: fermentation rate, yeast physiology, and development of flavor compounds. **American Society of Brewing Chemists**, v. 60, n. 3, p. 101-106, 2002.
- BOXALL, N.J.; REA, S.M.; LI, J.; MORRIS, C; KAKSONEN, A.H. Effect of high sulfate concentrations on chalcopyrite bioleaching and molecular characterisation of the bioleaching microbial community. **Hydrometallurgy**, v. 168, p. 32-39, 2017.

- BRIERLEY, J.A. Response of microbial systems to thermal stress in biooxidation heap pre-treatment of refractory gold ores. **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 13–19, 2003.
- BRIERLEY, J.A.; BRIERLEY, C.L. Present and future commercial application of biohydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 233–239, 2001.
- BRIERLEY, J.A.; KUHN, M.C. Fluoride toxicity in a chalcocite bioleach heap process. **Hydrometallurgy**, v. 104, p. 410–413, 2010.
- COLMER, A.R.; HINKLE, M.E. The role of microorganisms in acid mine drainage, a preliminary report. **Science**, v. 106, p. 253–256, 1947.
- CÓRDOBA, E.M.; MUNÓZ, J.A.; BLÁZQUEZ, M.L.; GONZÁLEZ, F.; BALLESTER, A. Leaching of chalcopyrite with ferric iron. Part I: general aspects. **Hydrometallurgy**, v. 93, p. 81–87, 2008a.
- CÓRDOBA, E.M.; MUNÓZ, J.A.; BLÁZQUEZ, M.L.; GONZÁLEZ, F.; BALLESTER, A. Leaching of chalcopyrite with ferric ion. Part II: effect of redox potential. **Hydrometallurgy**, v. 93, n. 3, p. 88–96, 2008b.
- DAOUD, J.; KARAMANEV, D. Formation of jarosite during Fe²⁺ oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Minerals Engineering**, v. 19, p. 960–967, 2006.
- DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL. (2015). **Sumário Mineral** / Coordenadores Thiers Muniz Lima, Carlos Augusto Ramos Neves. Brasília: DNPM, 141 p.
- DEVASIA, P.; NATARAJAN, K.A.; RAO, G.R. Role of bacterial growth conditions and adhesion in the bioleaching of chalcopyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. **Minerals and Metallurgical Processing**, v. 13, n. 2, p. 82–86, 1996.
- DEVECI, H. Effect of solids on viability of acidophilic bacteria. **Minerals Engineering** v. 15, p. 1181–1189, 2002.
- DIXON, D.G. Analysis of heat conservation during copper sulphide heap leaching. **Hydrometallurgy**, v. 58, p. 27–41, 2000.
- DONG, Y. B.; LIN, H.; WANG, H.; MO, X.; FU, K.; WEN, H. Effects of ultraviolet irradiation on bacteria mutation and bioleaching of low-grade copper tailings. **Minerals Engineering**, v. 24, p. 870–875, 2011.
- DONG, Y. B.; LIN, H.; ZHOU, S.; XU, X.; ZHANG, Y. Effects of quartz addition on chalcopyrite bioleaching in shaking flasks. **Minerals Engineering**, v. 46–47, p. 177–179, 2013.
- DOPSON, M.; HALINEN, A.K.; RAHUNEN, N.; ÖZKAYA, B.; SAHINKAYA, E.; KAKSONEN, A.H.; LINDSTRÖM, E.B.; PUHAKKA, J.A. Mineral and iron oxidation at low temperatures by pure and mixed cultures of acidophilic

- microorganisms. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 97, p. 1205-1215, 2007.
- DOPSON, M.; LÖVGREN, L.; BOSTRÖM, D. Silicate mineral dissolution during heap bioleaching. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 99, p. 811–820, 2008.
- DUARTE, J. C.; ESTRADA, P.; BEAUMONT, H.; SITIMA, M.; PEREIRA, P. Biotreatment of tailings for metal recovery. **International Journal of Mine Water**, v. 9, n. 1-4, p. 193-206, 1990.
- FENG, S; YANG, H.; WANG, W. Improved chalcopyrite bioleaching by *Acidithiobacillus* sp. via direct step-wise regulation of microbial community structure. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 75-82, 2015.
- FENG, S; YANG, H.; XIN, Y; ZHANG, L.; KANG, W.; WANG, W. Isolation of an extremely acidophilic and highly efficient strain *Acidithiobacillus* sp. for chalcopyrite bioleaching. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 39, p. 1625–1635, 2012.
- FRANZMANN, P.D.; HADDAD, C.M.; HAWKES, R.B.; ROBERTSON, W.J.; PLUMB, J.J. Effects of temperature on the rates of iron and sulfur oxidation by selected bioleaching Bacteria and Archaea: application of the Ratkowsky equation. **Minerals Engineering**, v. 18, p. 1304–1314, 2005.
- FU, B.; ZHOU, H.; ZHANG, R.; QIU, G. Bioleaching of chalcopyrite by pure and mixed cultures of *Acidithiobacillus* spp. and *Leptospirillum ferriphilum*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 62, p. 109–115, 2008.
- GARCIA Jr., O. **Estudo da biolixiviação de minérios de urânio por *Thiobacillus ferrooxidans***. 1989. 261 p. Tese (Doutorado em ciências) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.
- GERICKE, M.; GOVENDER, Y.; PINCHES, A. Tank bioleaching of low-grade chalcopyrite concentrates using redox control. **Hydrometallurgy**, v. 104, n. 3, p. 414–419, 2010.
- HAGHSHENAS, D.; ALAMDARI, E.K.; TORKMAHALLEH, M.A.; BONAKDARPOUR, B., NASERNEJAD B. Adaptation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* to high grade sphalerite concentrate. **Minerals Engineering**, v. 22, p. 1299–1306, 2009.
- HALINEN, A.; RAHUNEN, N.; KAKSONEN, A. H.; PUHAKKA, J. A. Heap bioleaching of a complex sulfide ore Part I: Effect of pH on metal extraction and microbial composition in pH controlled columns. **Hydrometallurgy**, v. 98, p. 92–100, 2009.
- HALLBERG, K.B.; JOHNSON, D.B. Biodiversity of acidophilic prokaryotes. **Advances in Applied Microbiology**, v. 49, p. 37-84, 2001.

- HIROYOSHI, N.; HIROTA, M.; HIRAJIMA, T.; TSUNEKAWA, M. A case of ferrous sulfate addition enhancing chalcopryrite leaching. **Hydrometallurgy**, v. 47, p. 37-45, 1997.
- HIROYOSHI, N.; KUROIWA, S.; MIKI, H.; TSUNEKAWA, M.; HIRAJIMA, T. Synergistic effect of cupric and ferrous ions on active–passive behavior in anodic dissolution of chalcopryrite in sulfuric acid solutions. **Hydrometallurgy**, v. 74, p. 103–116, 2004.
- HIROYOSHI, N.; MIKI, H.; HIRAJIMA, T.; TSUNEKAWA, M. A model for ferrous-promoted chalcopryrite leaching. **Hydrometallurgy**, v. 57, p. 31–38, 2000.
- HIROYOSHI, N.; MIKI, H.; HIRAJIMA, T.; TSUNEKAWA, M. Enhancement of chalcopryrite leaching by ferrous ions in acidic ferric sulfate solutions. **Hydrometallurgy**, v. 60, p. 185–197, 2001.
- HIROYOSHI, N.; TSUNEKAWA, M.; OKAMOTO, H.; NAKAYAMA, R.; KUROIWA, S. Improved chalcopryrite leaching through optimization of redox potential. **Canadian Metallurgical Quarterly**, v. 47, p. 253–258, 2008.
- ICSG (INTERNATIONAL COPPER STUDY GROUP). **Release of ICSG 2016 Statistical Yearbook**. Dezembro, 2016. Disponível em: <<http://www.icsg.org/index.php/press-releases/viewcategory/170-publications-press-releases>>. Acesso em: 31 jan. 2017.
- JOHNSON, D.B; HALLBERG, K.B. The microbiology of acidic mine waters. **Research in Microbiology**, v. 154, p. 466–473, 2003.
- JONGLERTJUNYA, W. **Bioleaching of chalcopryrite**. 2003. 265 p. Thesis (Doctor of Philosophy) - School of Engineering, The University of Birmingham, Reino Unido, Abril, 2003.
- KAMETANI, H.; AOKI, A. Effect of suspension potential on the oxidation rate of copper concentrate in a sulfuric acid solution. **Metallurgical Transactions B**, v. 16, p. 695–705, 1985.
- KARAMANEV, D. G.; NIKOLOV, L. N.; MAMATARKOVA, V. Rapid simultaneous quantitative determination of ferric and ferrous ions in drainage waters and similar solutions. **Minerals Engineering**, v. 15, p. 341-346, 2002.
- KEELING, S.E.; DAVIES, K.L.; PALMER, M.L.; TOWNSEND, D.E.; WATKIN, E.; JOHNSON, J.A.; WATLING, H.R. Utilisation of native microbes from a spent chalcocite test heap. **Hydrometallurgy**, v. 83, p. 124–131, 2006.
- KINNUNEN, P.H.M.; HEIMALA, S.; RIEKKOLA-VANHANEN, M.L.; PUHAKKA, J.A. Chalcopryrite concentrate leaching with biologically produced ferric sulphate. **Bioresource. Technology**, v. 97, p. 1727–1734, 2006.

- KLAUBER, K.; PARKER, A.; BRONSWIJK, W.; WATLING, H.R. Sulphur speciation of leached chalcopyrite surfaces as determined by Xray photoelectron spectroscopy. **Internacional Journal of Mineral Processing**, v. 62, n. 1–4, p. 65–94, 2001.
- KONDRAT'EVA, T. F.; PIVOVAROVA, T.A.; BULAEV, A. G.; MELAMUD, V. S.; MURAVYOV, M. I.; USOLTSEV, A. V.; VASIL'EV, E. A. Percolation bioleaching of copper and zinc and gold recovery from flotation tailings of the sulfide complex ores of the Ural region, Russia. **Hydrometallurgy**, v. 111-112, p. 82–86, 2012.
- KONISHI, Y.; TOKUSHIKO, M.; ASAI, S.; SUSUKI, T. Copper recovery from chalcopyrite concentrate by acidophilic thermophile *Acidianus brierleyi* in batch and continuous-flow stirred tank reactor. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 271–282, 2001.
- LEAHY, M.J.; SCHWARZ, P. Modelling jarosite precipitation in isothermal chalcopyrite bioleaching columns. **Hydrometallurgy**, v. 98, p. 181–191, 2009.
- LIMA, R. B. **Biolixiviação de concentrado de flotação de sulfetos de cobre, em coluna, utilizando consórcios de micro-organismos mesófilos e termófilos**. 2011. 150 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2011.
- LUSZCZKIEWICZ, A.; CHMIELEWSKI, T. Acid treatment of copper sulfide middlings and rougher concentrates in flotation circuit of carbonate ores. **International Journal of Mineral Processing**, v. 88, p. 45-52, 2008.
- MAGALHÃES, V.M.A. **Remoção de carbonatos para otimizar a biolixiviação de rejeito calcopirítico empregando consórcio de microrganismos**. 2016. 72f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2016.
- MARHUAL, N.; PRADHAN, N.; KAR, R.; SUKLA, L.; MISHRA, B. Differential bioleaching of copper by mesophilic and moderately thermophilic acidophilic consortium enriched from same copper mine water sample. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8331–8336, 2008.
- MUTCH, L.A.; WATLING, H.R.; WATKIN, E.L.J. Microbial population dynamics of inoculated low-grade chalcopyrite bioleaching columns. **Hydrometallurgy**, v. 104, p. 391–398, 2010.
- NANKRAN, M.A.; BERGERMAN, A.; MIRANDA, J.; SOUZA, M.; BATISTA FILHO, J.; CARDOSO, W. **Controle Operacional da Usina do Sossego**. In: XXII ENTMME, Ouro Preto, MG, 2007.

- NEMATİ, M.; HARRISON, S.T.L. Effect of solid loading on thermophilic bioleaching of sulphide minerals. **Journals of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 75, p. 526-532, 2000.
- NURMI, P.; ÖZKAYA, B.; SASAKI, K.; KAKSONEN, A.H.; TUOVINEN, O.H.; RIEKKOLA-VANHANEN, M.L.; TUOVINEN, O.H.; PUHAKKA, J.A. Biooxidation and precipitation for iron and sulfate removal from heap bioleaching effluent streams. **Hydrometallurgy**, v. 101, p. 7–14, 2010.
- OLIVEIRA, D. M. **Influência do Tensoativo Biológico Ramnolipideo na Biolixiviação de Minério Primário de Cobre**. 2009, 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.
- PETERSEN, J.; DIXON, D.G. Competitive bioleaching of pyrite and chalcopyrite. **Hydrometallurgy**, v. 83, p. 40-49, 2006
- PIETROBON, M.C.; GRANO, S.R.; SOBIERAJ, S.; RALSTON, J. Recovery mechanisms for pentlandite, and MgO-bearing gangue minerals in nickel ores from Western Australia. **Minerals Engineering**, v. 10, p. 775–786, 1997.
- PLUMB, J.J.; MCSWEENEY, N.J.; FRANZMANN, P.D. Growth and activity of pure and mixed bioleaching strains on low grade chalcopyrite ore. **Minerals Engineering**, v. 21, p. 93-99, 2008.
- PLUMB, J.J.; MUDDLE, R; FRANZMANN, P.D. Effect of pH on rates of iron and sulfur oxidation by bioleaching organisms. **Minerals Engineering**, v. 21, n. 1, p. 76–82, 2008.
- PRADHAN, N.; NATHSARMA, K.C.; SRINIVASA RAO, K.; SUKLA, L.B.; MISHRA, B.K. Heap bioleaching of chalcopyrite: A review. **Minerals Engineering** v. 21, p. 355–365, 2008.
- QIU, M.; XIONG, S.; ZHANG, W.; WANG, G. A comparison of bioleaching of chalcopyrite using pure culture or a mixed culture. **Minerals Engineering**, v. 18, p. 987–990, 2005.
- RAWLINGS, D.E. Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates. **Microbial Cell Factories**, v. 4, n. 13, 2005.
- RAWLINGS, D.E.; DEW, D.; PLESSIS, S. Biomineralization of metal-containing ores and concentrates. **TRENDS in Biotechnology**, v. 21, n. 1, 2003.
- RAWLINGS, D.E.; JOHNSON, D.B. The microbiology of biomining: development and optimization of mineral-oxidizing microbial consortia. **Microbiology**, v. 153, n. 2, p. 315–324, 2007.

- RAZZELL, W.E.; TRUSSELL, P.C. Isolation and properties of an iron-oxidizing *Thiobacillus*. **Journal of Bacteriology**, v. 85, p. 595–603, 1963.
- RIEKKOLA-VANHANEN, M. Talvivaara Black Schist Bioheapleaching Demonstration Plant. **Advanced Materials Research**, v. 20–21, p. 30–33, 2007.
- RODRIGUEZ, Y.; BALLESTER, A.; BLAZQUEZ, M.L.; GONZALEZ, F.; MUNOZ, J.A. New information on the chalcopyrite bioleaching mechanism at low and high temperatures. **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 47–56, 2003.
- ROHWERDER, T.; GEHRKE, T.; KINZLER, K.; SAND, W. Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 63, p. 239–248, 2003.
- SANDSTRÖM, A.; SHCHUKAREV, A.; PAUL, J. XPS characterisation of chalcopyrite chemically and bio-leached at high and low redox potential. **Minerals Engineering**, v. 18, p. 505–515, 2004.
- SCHIPPERS, A.; SAND, W. Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by the indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 1, p. 319 – 321, 1999.
- SHIMIZU, V. K. **Classificação e caracterização de tipos de minérios de cobre da mina do Sossego – Região de Carajás**. 2012. 121f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mineral) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2012
- SILVERMAN, M.P.; LUNDGREN, D.G. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*. i. an improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields. **Journal of Bacteriology**, v. 77, p. 642–647, 1959.
- SONG, J.; FRANZMANN, P.D.; LIN, J.; LIN, J. HAKSONEN, A.H. Respirometry studies of bioleaching of low-grade chalcopyrite ore using six acidophilic strains. **Minerals Engineering**, v. 24, p. 1139–1145, 2011.
- STOTT, M.B.; SUTTON, D.C.; WATLING, H.R.; FRANZMANN, P.D. Comparative leaching of chalcopyrite by selected acidophilic Bacteria and Archaea. **Geomicrobiology Journal**, v. 20, p. 215–230, 2003.
- STOTT, M.B.; WATLING, H.R.; FRANZMANN, P.D.; SUTTON, D. The role of iron-hydroxy precipitates in the passivation of chalcopyrite during bioleaching. **Minerals Engineering**, v. 13, p. 1117–1127, 2000.
- THIRD, K.A.; CORD-RUWISCH, R.; WATLING, H. Control of the redox potential by oxygen limitation improves bacterial leaching of chalcopyrite. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 78, p. 433–441, 2002.

- THIRD, K.A.; CORD-RUWISCH, R.; WATLING, H.R. The role of iron-oxidizing bacteria in stimulation or inhibition of chalcopyrite bioleaching. **Hydrometallurgy**, v. 57, p. 225–233, 2000.
- TSHILOMBO, O. M.; OJUMU, T.V. Investigation of the effect of pH operating conditions on bioleaching of low-grade chalcopyrite in column reactors. **Advanced Materials Research**, v. 825, p. 401-405, 2013.
- UBALDINI, S.; VEGLIÓ, F.; TORO, L.; ABBRUZZESE, C. Biooxidation of arsenopyrite to improve gold cyanidation: study of some parameters and comparison with grinding. **International Journal of Mineral Processing**, v. 52, p. 65-80, 1997.
- VAKYLABAD, A.B. A comparison of bioleaching ability of mesophilic and moderately thermophilic culture on copper bioleaching from flotation concentrate and smelter dust. **International Journal of Mineral Processing**, v. 101, p. 94–99, 2011.
- VILCÁEZ, J.; YAMADA, R.; INOUE, C. Effect of pH reduction and ferric ion addition on the leaching of chalcopyrite at thermophilic temperatures. **Hydrometallurgy**, v. 96, p. 62–71, 2009.
- WANG, H.; BIGHAM, J.M.; JONES, S.J.; TUOVINEN, O.H. Synthesis and properties of ammoniumjarosites prepared with iron-oxidizing acidophilic microorganisms at 22–65 °C. **Geochimica Cosmochimica Acta**, v. 71, p. 155–164, 2006.
- WANG, Y.; SU, L.; ZENG, W.; WANA, L.; CHEN, Z.; ZHANG, L.; QIU, G.; CHEN, X.; ZHOU, Z. Effect of pulp density on planktonic and attached community dynamics during bioleaching of chalcopyrite by a moderately thermophilic microbial culture under uncontrolled conditions. **Minerals Engineering**, v. 61, p. 66–72, 2014a.
- WANG, Y.; ZENG, W.; QIU, G.; CHEN, X.; ZHOU, H. A Moderately Thermophilic Mixed Microbial Culture for Bioleaching of Chalcopyrite Concentrate at High Pulp Density. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 2, p. 741–750, 2014b.
- WATLING, H. The bioleaching of nickel–copper sulfides. **Hydrometallurgy**, v. 91, n. 1, p. 70–88, 2008.
- WATLING, H.; ELLIOT, A.D.; MALEY, M.; VAN BRONSWIJK, W.; HUNTER, C. Leaching of a lowgrade, copper–nickel sulfide ore. 1. Key parameters impacting on Cu recovery during column bioleaching. **Hydrometallurgy**, v. 97, n. 3, p. 204–212, 2009.
- 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.; COLLINSON, D.M.; FJASTAD, S.; KAKSONEN, A.H.; LI, J.; MORRIS, C.; PERROT, F.A.; REA, S.M.; SHIERS, D.W. Column bioleaching of

- a polymetallic ore: Effects of pH and temperature on metal extraction and microbial community structure. **Minerals Engineering**, v. 58, p. 90–99, 2014.
- WATLING, H.R.; COLLINSON, D.M.; SHIERS, D.W.; BRYAN, C.G.; WATKIN, E.L.J. Effects of pH, temperature and solids loading on microbial community structure during batch culture on a polymetallic ore. **Minerals Engineering**, v. 48, p. 68–76. 2013.
- WU, A.; YIN, S.; WANG, H.; QIN, W.; QIU, G. Technological assessment of a mining-waste dump at the Dexing copper mine, China, for possible conversion to an in situ bioleaching operation. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 1931–1936, 2009.
- XIA, L.; URIBE, P.; LIU, X.; YU, C.; CHAI, L.; LIU, J.; QIU, W.; QIU, G. Comparison of chalcopyrite bioleaching after different microbial enrichment in shake flasks. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, p. 275–280, 2013.
- 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.
- YANG, C.; QIN, W.; LAI, S.; WANG, J.; ZHANG, Y.; JIAO, F.; CHANG, Z. Bioleaching of a low grade nickel–copper–cobalt sulfide ore. **Hydrometallurgy**, v. 106, n. 1, p. 32–37, 2011.
- ZHANG, Y.; QIN, W.; WANG, J.; ZHEN, S.; YANG, C.; ZHANG, J.; NAI, S.; QIU, G. Bioleaching of chalcopyrite by pure and mixed culture, **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, v. 18, p. 1492 – 1496, 2008.
- ZHAO, X.; WANG, R.; LU, X.; LU, J.; LI, C.; LI, J. Bioleaching of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Minerals Engineering**, v. 53, p. 184–192, 2013.
- ZHEN, S.; YAN, Z.; ZHANG, Y.; WANG, J.; CAMPBELL, M.; QIN, W. Column bioleaching of a low-grade nickel-bearing sulfide ore containing high magnesium as olivine, chlorite and antigorite. **Hydrometallurgy**, v. 96, p. 337–341, 2009.
- ZHOU, H.B.; ZENG, W.M.; YANG, Z.F.; XIE, Y.J.; QIU, G.Z. Bioleaching of chalcopyrite concentrate by a moderately thermophilic culture in a stirred tank reactor. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 515–520, 2009.