



REDEMAT

REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

UFOP – CETEC – UEMG



Dissertação de Mestrado

**“Biolixiviação de sulfetos secundários de cobre por
micro-organismos mesófilos em diferentes reatores
agitados”**



Autor: Flávio Luciano dos Santos Cruz

Orientador: Prof. Versiane Albis Leão

Coorientador: Prof. Victor de Alvarenga Oliveira

Fevereiro de 2017



REDEMAT

REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

UFOP – CETEC – UEMG

Flávio Luciano dos Santos Cruz

“Biolixiviação de sulfetos secundários de cobre por micro-organismos mesófilos em diferentes reatores agitados”

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

Área de concentração: Processos de fabricação

Orientador: Prof. Versiane Albis Leão

Coorientador: Prof. Victor de Alvarenga Oliveira

Ouro Preto, fevereiro de 2017

C957b

Cruz, Flávio Luciano dos Santos.

Biolixiviação de Sulfetos Secundários de Cobre por Micro-Organismos Mesófilos em Diferentes Reatores Agitados [manuscrito] / Flávio Luciano dos Santos Cruz. - 2017.

55f.: il.: color; grafs; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Versiane Albis Leão.

Coorientador: Prof. MSc. Victor de Alvarenga Oliveira.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. REDEMAT. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais.

Área de Concentração: Processos de Fabricação.

1. Biolixiviação. 2. Cobre. 3. Acidithiobacillus ferrooxidans. 4. Hidrometalurgia. I. Leão, Versiane Albis. II. Oliveira, Victor de Alvarenga. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 62-5

Catálogo: www.sisbin.ufop.br



REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

UFOP - UEMG

Pós-Graduação em Engenharia de Materiais



“Biolixiviação de Sulfetos Secundários de Cobre por Micro-Organismos Mesófilos em Diferentes Reatores Agitados”

Autor: Flávio Luciano dos Santos Cruz

Dissertação defendida e aprovada, em 22 de fevereiro de 2017, pela banca examinadora constituída pelos professores:

Versiane Albis Leão

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

Leonardo de Paiva Barbosa

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

Michael Leonardo M. Rodrigues

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

V. A. O.

Prof. Victor de Alvarenga Oliveira (Mestre) – Co-orientador
Universidade Federal de Ouro Preto

Dedico esta dissertação em especial, ao meu exemplo de vida, minha mãe por ser a grande responsável pela minha formação pessoal, pelo incentivo e apoio.

“A educação é a arma mais poderosa que você pode usar para mudar o mundo”.

Nelson Mandela

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força para realização desse trabalho.

Sinto-me uma pessoa de muita sorte, pois tenho pais (Mário Reis e Maria Aparecida) e irmãos (Maksuell e Makson) maravilhosos! Meus pais são grandes exemplos com consequente influência positiva sobre seus filhos. Com meu PAI (Mário Reis), aprendi que devemos dar valor a tudo que temos; que para prosperar temos que batalhar muito e não desistir diante dos obstáculos e que, não importa qual seja a dificuldade, devemos ser honestos e respeitar o próximo. Com minha MÃE (Maria Aparecida), aprendi a dar valor às pessoas próximas, a não ter vergonha das emoções que sinto, a reclamar quando necessário para fazer valer nossos direitos. Com ambos aprendi que devemos ter humildade sempre.

Aos meus professores orientadores Versiane Leão e Victor Alvarenga, pela dedicação, praticidade, honestidade e orientação na execução deste trabalho; pela amizade e apoio durante todo o curso e principalmente pela confiança em mim depositada.

Aos amigos do laboratório de Bio&Hidrometalurgia.

À Rede Temática em Engenharia de Materiais – REDEMAT.

À Vale, por ter fornecido gentilmente os minérios de cobre empregado nesse estudo.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

E à minha esposa Sabrina Cruz, que me ajudou a superar as dificuldades, por meio de incentivo e carinho.

Agradeço muito a todos!

RESUMO

A biolixiviação de cobre a partir de sulfetos secundários, tais como a calcocita e a bornita, é amplamente aplicada industrialmente em vários países do mundo. Isso ocorre porque esses sulfetos são facilmente oxidados pelo íon Fe^{3+} produzido por microorganismos de biolixiviação. No entanto, a biolixiviação pode ser severamente impactada se o minério portar impurezas solúveis que podem afetar o crescimento bacteriano. Este é o caso do fluoreto, que existe como HF nas condições ácidas aplicadas na biolixiviação de metais básicos. Este último pode atravessar membranas celulares e dissociar dentro da célula (por causa de seu pH neutro), reduzindo o crescimento bacteriano. Nesta dissertação foi investigada a influência da concentração de flúor sobre o crescimento de *Acidithiobacillus ferrooxidans* e revelou que $20 \text{ mg.L}^{-1} \text{ F}^-_{\text{total}}$ inibiram a biooxidação do íon Fe^{2+} . Tal inibição foi superada por adição de sulfato de alumínio ao meio de crescimento. Em seguida, foi estudada a biolixiviação de um minério de cobre secundário portador de flúor (contendo calcocita e bornita) pela cultura mesófila. Os efeitos do pH bem como as concentrações de Fe^{2+} , Al^{3+} e Mg^{2+} na extração de cobre foram determinados, os experimentos foram realizados em frascos Erlenmeyer (250 mL) contendo 100 mL de solução e porcentagem de sólidos a 5% (p/v) agitada a 150 min^{-1} . A cinética de lixiviação da amostra foi ligeiramente afetada pelo pH e concentrações do íon Fe^{2+} , sendo que as maiores extrações de cobre foram observadas para pH 1,6-1,8 e $5-10 \text{ g.L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$. As concentrações de alumínio (até 5 g.L^{-1}) melhoraram a cinética de extração do cobre à medida que os íons fluoreto foram complexados pelo elemento e a extração final de cobre atingiu 75%. Além disso, propondo uma adaptação ao programa de ensaios metalúrgicos visando uma futura aplicação industrial de lixiviação em pilhas, especificamente em sistemas agitados, a segunda parte da dissertação buscou comparar o perfil de lixiviação de três diferentes reatores (frascos Erlenmeyer, garrafas rotativas e um biorreator agitado mecanicamente) durante a biolixiviação de duas amostras de sulfetos secundários com diferentes teores de cobre e flúor. Na ausência de uma fonte externa de alumínio, os ensaios em Erlenmeyer não mostraram qualquer aumento no potencial da solução, independentemente da amostra de minério estudada. Concentrações de flúor e alumínio em torno de 300 mg.L^{-1} foram registradas neste reator e a razão Al/F em torno de 1 explicou o baixo potencial registrado. Por outro lado, nos ensaios em garrafa e biorreator, a amostra de minério com menor teor de cobre produziu alumínio (530 mg.L^{-1}) acima das concentrações de flúor (380 mg.L^{-1}), de modo que esse maior índice Al/F estimulou o crescimento bacteriano. Isto se justificou, pelo fato do potencial da solução ter atingido valores acima de 600 mV ao final do experimento, o que indicou o crescimento bacteriano nesses reatores. Quando o alumínio foi adicionado ao meio de crescimento, o potencial da solução aumentou exponencialmente, indicando boa atividade de biolixiviação e até 97% de extração de cobre foi observada nos três reatores, mas as garrafas rotativas apresentaram uma cinética de lixiviação mais rápida devido a altas populações bacterianas ($> 10^8$ células. mL^{-1}) proporcionada por uma melhor aeração da solução (6 mg.L^{-1} como a concentração de oxigênio dissolvido).

Palavras-chave: Biolixiviação; Cobre; *Acidithiobacillus ferrooxidans*; Programa de ensaios metalúrgicos; Erlenmeyer; Garrafas rotativas; Biorreator.

ABSTRACT

Copper bioleaching from secondary sulphides such as chalcocite and bornite is widely applied industrially in several countries worldwide. This is because these sulphides are easily oxidized by the ferric iron produced by bioleaching microorganisms. Notwithstanding, bioleaching can be severely hampered if the ore contains soluble impurities which can affect bacterial growth. This is the case of fluoride, which exists as HF in the acid conditions applied in the bioleaching of base metals. The latter can cross cell membranes and dissociate inside the cell (because of its neutral pH) reducing the bacterial growth. The current dissertation investigated initially the fluoride concentration which impaired the growth of *At. ferrooxidans* and revealed that $20 \text{ mg.L}^{-1} \text{ F}_{\text{tot}}$ inhibited ferrous iron bio-oxidation. Such inhibition was overcome by aluminium sulphate supplementation to the growth medium. Subsequently the bioleaching of a fluoride-bearing secondary copper ore (containing chalcocite and bornite) by the mesophile culture was studied. The effects of pH as well as the concentrations of Fe^{2+} , Al^{3+} and Mg^{2+} on copper extraction were determined in experiments performed in Erlenmeyer flasks (250 mL) containing 100 mL of a 5% (w/v) pulp stirred at 150 min^{-1} . The leaching kinetics of the sample was slightly affected by both pH and ferrous iron concentrations and the largest copper extractions were observed for pH 1.6-1.8 and $5\text{-}10 \text{ g.L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$. Aluminium concentrations (up to 5 g.L^{-1}) improved the copper extraction kinetics as fluoride ions were complexed by the element and the final copper extraction reached 75%. In addition, the metallurgical testwork proposed in feasibility studies for leaching projects comprise different type of reactor experiments such as rolling bottles whereas shaking flasks tests are of widespread use in academic research. Therefore the second part of the current dissertation sought to compare the leaching profile of three different reactors (Erlenmeyer flasks, rolling bottles and a mechanically stirred bioreactor) during bioleaching of two samples of the secondary sulphide ore with different copper and fluoride content. In the absence of an external aluminium source, the shaking flask experiments did not show any increase in the solution potential, regardless of the ore sample studied. Fluoride and aluminium concentrations around 300 mg.L^{-1} were recorded in this reactor and the Al/F ratio around 1 explained the low potential recorded. Conversely, the ore sample with the lower fluoride content produced aluminium (530 mg.L^{-1}) above fluoride (380 mg.L^{-1}) concentrations so that such higher Al/F ratio fostered bacterial growth. This justified the solution potential attaining values above 600 mV by the end of the experiment, which indicated bacterial growth in that reactor. When aluminium was added to the growth medium the solution potential increases exponentially indicating good bioleaching activity and up to 97% copper extraction was observed in the three reactors, but the rolling bottles depicted a faster leaching kinetics due to high bacterial populations ($>10^8 \text{ cells.mL}^{-1}$) provided by a better aeration of the solution (6 mg.L^{-1} as the dissolved oxygen concentration).

Keywords: Bioleaching; Copper; *At. ferrooxidans*; rolling bottle, bioreactor, shaking flasks, metallurgical testwork, copper bioleaching.

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	O Cobre	15
2.2	Biolixiviação de Cobre.....	16
2.2.1	Desenvolvimento de testes metalúrgicos para aplicação de lixiviação em pilhas	17
2.3	Micro-organismos empregados em biolixiviação e sua tolerância aos íons presentes em solução.....	19
3	MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1	Caracterização das amostras	24
3.2	Ensaio de biolixiviação com micro-organismos mesófilos.....	25
3.3	Programa de ensaios metalúrgicos.....	26
3.3.1	Ensaio em garrafas.....	27
3.3.2	Ensaio em biorreator	27
3.4	Acompanhamento dos ensaios.....	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	Biolixiviação de sulfetos secundários de cobre por <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	29
4.1.1	Viabilidade da bio-oxidação do íon Fe^{2+} - Efeito do flúor.....	29
4.1.2	Estudo do Efeito do pH na Extração do Cobre	31
4.1.3	Estudo do efeito da concentração inicial de Fe^{2+} na extração de cobre..	32
4.1.4	Efeito da concentração inicial de Mg^{2+} sobre a extração de cobre.....	34
4.1.5	Efeito da concentração inicial de Al^{3+} sobre extração de cobre	37
4.2	Comparação das diferentes técnicas de biolixiviação em sistemas agitados .	39
4.2.1	Cinética de liberação do flúor e alumínio.....	39
4.2.2	Ensaio de biolixiviação dos minérios nos três tipos de reatores.....	44
5	CONCLUSÕES	49
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	51
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Fluxograma básico de um processo hidrometalúrgico.	12
Figura 3.1: Ensaio de biolixiviação em garrafa.....	27
Figura 4.1: Efeito da concentração de F^- no Eh do sistema. Condições experimentais: Ensaio em Erlenmeyer; $2 \text{ g.L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$, meio de cultura Norris, volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1,8, 150 min^{-1} e $35 \text{ }^\circ\text{C}$. A seta na Figura indica o dia da adição de alumínio (Al/F = 2 em massa) ao sistema.....	30
Figura 4.2: Percentual de extração de cobre em função do tempo, com diferentes valores de pH nos experimentos realizados com o minério de baixo teor de cobre. Condições experimentais: $2 \text{ g.L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$, $0,5 \text{ g.L}^{-1} \text{ Al}^{3+}$, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, 10% (v/v) de inóculo, $-75 \mu\text{m} + 53 \mu\text{m}$, 150 min^{-1} , 35°C e timol (bactericida no ensaio controle).	32
Figura 4.3: Efeito da concentração inicial de sulfato ferroso sobre extração de cobre (a) e concentração de ferro total (b) nos ensaios com minério de baixo teor de cobre. Condições experimentais: $0,5 \text{ g.L}^{-1} \text{ Al}^{3+}$, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, 10% (v/v) de inóculo, $-75 \mu\text{m} + 53 \mu\text{m}$, pH inicial 1,8, 150 min^{-1} , 35°C e timol (bactericida no ensaio controle).....	34
Figura 4.4: Efeito da presença de magnésio sobre extração de cobre (a) e o potencial de oxidação (b) nos ensaios com minério de baixo teor de cobre. Condições experimentais: $2 \text{ g.L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$, $0,5 \text{ g.L}^{-1} \text{ Al}^{3+}$, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, 10% (v/v) de inóculo, $-75 + 53 \mu\text{m}$, pH inicial 1,8, 150 min^{-1} , 35°C e timol (bactericida no ensaio controle). ..	36
Figura 4.5: Efeito da presença de alumínio sobre a extração de cobre (a) e o potencial de oxidação (b) nos ensaios com minério de baixo teor de cobre. Condições experimentais: $2 \text{ g.L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, 10% (v/v) de inóculo, $-75 + 53 \mu\text{m}$, pH inicial 1,8, 150 min^{-1} , 35°C e timol (bactericida no ensaio controle).....	38
Figura 4.6: Evolução da concentração do fluoreto livre em solução, de Al^{3+} e do potencial eletroquímico com o tempo, nos experimentos realizados com as amostras de alto teor (a, c, e) e baixo teor de cobre (b, d, f), em Erlenmeyer (a e b), garrafa (c e d) e biorreator (e e f). Condições experimentais: $2 \text{ g.L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1,8, 150 min^{-1} e $35 \text{ }^\circ\text{C}$	41

Figura 4.7: Evolução do Eh nos ensaios em Erlenmeyer com o minério de alto teor (a) e o minério de baixo teor de cobre (b) com o tempo, em função da razão mássica alumínio/flúor. Condições experimentais: 2 g.L ⁻¹ Fe ²⁺ , 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1.8, 150 min ⁻¹ e 35°C.....	43
Figura 4.8: Evolução do Eh com o tempo, nos experimentos realizados com minério de alto teor (a) e com de baixo teor de cobre (b). Condições experimentais: 2 g.L ⁻¹ Fe ²⁺ , 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris alterado com 2 g.L ⁻¹ Al ³⁺ , volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1.8 e 35°C.....	45
Figura 4.9: Evolução do percentual de extração de cobre com o tempo, nos experimentos realizados com o minério de alto teor (a) e baixo teor de cobre (b). Condições experimentais: 2 g.L ⁻¹ Fe ²⁺ , 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris alterado com 2 g.L ⁻¹ Al ³⁺ , volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1.8 e 35°C.....	46
Figura 4.10: Evolução da concentração bacteriana e de oxigênio dissolvido com o tempo, nos experimentos realizados com minério de alto teor (a e b) e baixo teor de cobre (c e d). Condições experimentais: 2 g.L ⁻¹ Fe ²⁺ , 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1.8, 150 min ⁻¹ e 35 °C.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Análise química (%) das amostras de minério estudadas.	24
Tabela 3.2: Parâmetros investigados nos experimentos de biolixiviação. Condições experimentais: 5% sólidos, 2 g.L ⁻¹ Fe ²⁺ e 12 dias de experimento.	26

1 INTRODUÇÃO

É um objetivo permanente da indústria mineral o desenvolvimento de processos para o tratamento de minérios de baixo teor e rejeitos produzidos em suas operações (WANG *et al.*, 2008). Diante dessa dificuldade, surge a necessidade de se buscar novas alternativas para processamento de tais materiais e, nesse caso, o tratamento hidrometalúrgico é uma opção economicamente viável em comparação com as rotas pirometalúrgicas. Isto porque os processos pirometalúrgicos normalmente, não são viáveis economicamente para esses tipos de materiais, pois não há conteúdo metálico suficiente para amortizar os custos operacionais e de equipamentos. A menor dependência em termos do tamanho das reservas em comparação com a pirometalurgia dá uma vantagem competitiva à hidrometalurgia, isto é, reservas de pequeno porte onde o conteúdo metálico é baixo. Dessa forma, essa tecnologia tem sido aplicada com sucesso no tratamento de rejeitos de mineração ou minérios de baixo teor. O tratamento hidrometalúrgico de minérios sulfetados, em especial, se mostra também bastante atrativo no que tange a eliminação das emanações gasosas, quando comparada às operações pirometalúrgicas, uma vez que não há emissão de SO₂, pois nesse tratamento o enxofre presente na forma de sulfeto é convertido a sulfato ou enxofre elementar (WANG *et al.*, 2008).

Especificamente, a hidrometalurgia é a área da metalurgia extrativa onde estudam-se os processos unitários, que utilizam de soluções aquosas para a produção de metais. A figura 1.1 apresenta o fluxograma básico de um processo hidrometalúrgico, que inclui as operações unitárias de: (i) preparação (adequação de propriedades físico e químicas do material); (ii) lixiviação (dissolução do metal de interesse e de impurezas); (iii) separação sólido-líquido (para remoção de resíduos sólidos); (iv) purificação (remoção de impurezas solúveis e usualmente enriquecimento da solução) e (v) recuperação do metal ou composto metálico de interesse, como apresentado por Ciminelli (2005).



Figura 1.1: Fluxograma básico de um processo hidrometalúrgico.

Adaptado de (CIMINELLI, 2005).

A lixiviação é considerada a etapa mais importante do fluxograma mostrado na figura 1.1 e pode ser conduzida em meio ácido, básico, redutor ou oxidante. Quando a lixiviação é feita na presença de micro-organismos, é chamada de biolixiviação (KONDRATYEVA *et al.*, 1999). Tal biotecnologia é aplicada em escala industrial em processos de extração de metais como cobre, urânio e ouro (MOUSAVI *et al.*, 2005; WATLING, 2006). Mais especificamente, a biolixiviação de sulfetos de cobre, especialmente a calcopirita (CuFeS_2) tem sido muito estudada. Apesar dessa última ser o sulfeto mineral de cobre mais abundante na natureza, outros sulfetos minerais, como a calcocita (Cu_2S), covelita (CuS) e a bornita (Cu_5FeS_4) também possuem grande importância econômica (DIMITRIJEVIC *et al.*, 2009).

Uma das bactérias mais estudadas em processo de biolixiviação é a *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Esses micro-organismos podem obter energia através da utilização de diferentes substratos, como: (i) íons Fe^{2+} e (ii) espécies inorgânicas e reduzidas de enxofre (incluindo sulfetos metálicos). Através da oxidação dos íons de ferro e das espécies reduzidas de enxofre, ocorre a produção de substâncias extracelulares que ajudam na dissolução de sulfetos

minerais. Dessa forma, o metal contido nesses é solubilizado (JENSEN e WEBB, 1995; BRIERLEY e BRIERLEY, 2001; WATLING, 2006).

Uma das particularidades essenciais apresentada pela *Acidithiobacillus ferrooxidans* é a sua grande resistência às concentrações elevadas de íons metálicos, o que torna possível a sua aplicação nos processos de biolixiviação de sulfetos metálicos (DE *et al.*, 1997; PINA, 2006). Frequentemente, é possível adaptar linhagens individuais a altas concentrações de metais ou a substratos específicos pelo aumento gradual da concentração do metal ou do substrato no sistema de biolixiviação (YANG *et al.*, 2011). Entretanto, tais bactérias apresentam baixa tolerância aos ânions como o íon fluoreto, que é um potente inibidor do crescimento microbiano nas condições de pH dos processos de biolixiviação. O fluoreto de sódio em concentração igual a 20 mg.L⁻¹ de F⁻ provoca a completa inibição da oxidação bacteriana do íon Fe²⁺. Estudos mostram que, em sistemas de biolixiviação (meio ácido), este íon é convertido a HF, que atravessa a membrana celular da bactéria e, posteriormente, dissocia-se na forma dos íons H⁺ e F⁻. A presença do íon H⁺ reduz o pH interno da célula (que é neutro) o que resulta na morte da mesma (RODRIGUES *et al.*, 2016). O efeito deletério do íon fluoreto pode ser minimizado pela adição de sais de alumínio, os quais complexam o ânion e reduzem a concentração de HF no sistema (SICUPIRA *et al.*, 2011).

As operações industriais de biolixiviação de minérios de cobre são normalmente conduzidas em pilhas, em países como Chile, Austrália e China, com recuperações metálicas de até 80% (BRIERLEY e BRIERLEY, 2013). Para a implantação desses empreendimentos, é necessário realizar um programa de ensaios visando verificar se o metal de interesse pode ser extraído de um determinado material (minério/concentrado/resíduo) e em caso afirmativo, em que condições, a que taxa e quais os custos operacionais envolvidos, definindo-se assim, os parâmetros ótimos do processo (MCCLELLAND, 1988). No caso específico da lixiviação em pilhas, o programa completo de ensaios de lixiviação normalmente envolve uma sequência de ensaios em sistemas agitados (frascos, garrafas e tanque), colunas (usualmente, 1m e 6m) e pilha(s) piloto, com duração e custos crescentes (VAN STADEN *et al.*, 2009; MCCLELLAND, 1988). As fases subsequentes dos ensaios centram-se no desenvolvimento dos critérios de processos para o processamento hidrometalúrgico do material (ROBERTSON e VAN STADEN,

2009). Os ensaios em frascos agitados (Erlenmeyers) são usados extensivamente em estudos acadêmicos enquanto a indústria normalmente solicita a realização de ensaios em garrafa, dada o maior volume de material utilizado. Eventualmente, ensaios em biorreator são também encontrados na literatura científica.

Nesse contexto, a presente dissertação objetivou primeiramente o estudo da biolixiviação de um minério secundário de cobre com micro-organismos mesófilos e determinou os parâmetros ideais para uma mais rápida extração do metal. Em seguida, foi investigado o efeito do tipo de reator (frascos Erlenmeyers, garrafas e um biorreator) na cinética de extração de cobre e liberação de impurezas a partir do mesmo minério.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O Cobre

O cobre, metal de cor avermelhada e de brilho metálico, é um ótimo condutor de calor e eletricidade, sendo também dúctil e facilmente maleável. Apresenta elevada resistência à corrosão e é utilizado em inúmeras ligas de grande aplicabilidade industrial (CARNEIRO, 2005; DIMITRIJEVIC *et al.*, 2009).

O cobre em estado puro ou cobre nativo, raramente é encontrado na crosta terrestre (CARNEIRO, 2005). Esse, normalmente, está associado a outros elementos em várias formas e combinações, como os minerais sulfetados (calcopirita (CuFeS_2), bornita (Cu_5FeS_4), covelita (CuS) e calcocita (Cu_2S)) e os oxidados (cuprita (Cu_2O) e tenorita (CuO)). Em menores proporções esse pode também ser encontrado na forma de carbonatos (malaquita ($\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$)) e azurita ($2\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$)) e também como silicatos (crisocola ($\text{CuSiO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)) (DIMITRIJEVIC *et al.*, 2009).

A obtenção de cobre metálico é definida pelo tipo de mineral onde esse elemento se encontra (GHORBANI *et al.*, 2016; Veloso, 2011). A concentração desses minerais em minérios é baixa e os teores encontrados estão na média de 1% a 2% de cobre. Os minerais sulfetados, por exemplo, são processados por rotas pirometalúrgicas, onde os valores de recuperação, normalmente, são superiores a 95%. Nesse processo, o fluxograma típico envolve as etapas de concentração, fusão a mate e refino. Cerca de 80% da produção mundial desse metal tem sua origem em sulfetos de cobre, que em sua maioria é realizada via pirometalurgia (RODRIGUES, 2015; WATLING, 2006). A rota pirometalúrgica apresenta restrições do ponto de vista ambiental devido à elevada emissão de material particulado e de SO_2 o qual, por ser um poluidor clássico, precisa ser convertido em ácido sulfúrico (DIMITRIJEVIC *et al.*, 2009). Desta forma, para sua implantação, essa rota requer a existência de um mercado consumidor para o ácido produzido (VELOSO, 2011).

Nesse contexto, as rotas hidrometalúrgicas surgem como uma alternativa ao processamento pirometalúrgico de sulfetos metálicos (WATLING, 2006). O estudo da hidrometalurgia de sulfetos de cobre recebeu grande atenção nas décadas de 1970 e 1980 como uma forma de se estabelecer uma alternativa à pirometalurgia (DIMITRIJEVIC *et al.*, 2009) e muitos estudos foram realizados investigando a lixiviação química na presença de oxigênio e íons Fe^{3+} como agentes oxidantes do mineral. A partir dos anos 1980, consolidaram-se os processos bio-hidrometalúrgicos aplicados aos minérios de cobre (GHORBANI *et al.*, 2016; BRIERLEY, 2010).

A biolixiviação apresenta vantagens em relação aos processos pirometalúrgicos tradicionais (RODRIGUES *et al.*, 2016; VELOSO, 2011; ZHAO *et al.*, 2013). Entre tais vantagens, podem-se citar (i) a possibilidade de se tratar minérios de baixo teor, rejeitos, e minérios marginais (DONG *et al.*, 2013; GHORBANI *et al.*, 2016; WATLING, 2006; ZHAO *et al.*, 2013); (ii) a geração de efluentes líquidos, mais facilmente tratáveis; além da (iii) possibilidade de processar minérios de natureza complexa e contendo impurezas (GHORBANI *et al.*, 2016; BRIERLEY, 2010; SICUPIRA *et al.*, 2011).

2.2 Biolixiviação de Cobre

A biolixiviação é uma tecnologia madura (OLSON *et al.*, 2003), amplamente utilizada na lixiviação de minérios, concentrados e resíduos principalmente de cobre e ouro (GHORBANI *et al.*, 2016; RODRIGUES, 2015; VELOSO, 2011). Essa tecnologia pode ser aplicada industrialmente em tanques e em pilhas de minério e de rejeito (ROBERTSON e VAN STADEN, 2009). Particularmente, a biolixiviação em pilhas de sulfetos de cobre de baixo teor é aplicada em larga escala no caso de minerais secundários (WATLING, 2006). Um indicativo indireto da importância da produção de cobre por esta rota foi o aumento da capacidade das usinas de eletro-obtenção do metal, colaborando para que a hidrometalurgia contribua com 20% da produção mundial (MALEY *et al.*, 2009; WATLING, 2006).

O processo de biolixiviação é baseado na capacidade de certos micro-organismos suprirem suas necessidades energéticas com a oxidação de íons Fe^{2+} e compostos reduzidos de enxofre. O resultado desse tipo de metabolismo é a solubilização dos metais presentes nos sulfetos

metálicos (VELOSO, 2011; WITNE e PHILLIPS, 2001). Os micro-organismos utilizados nos sistemas de biolixiviação podem ser classificados de acordo com suas temperaturas ótimas de crescimento em (i) mesófilos, apresentam crescimento em temperaturas da ordem de 30°C; (ii) termófilos moderados, apresentam crescimento máximo em temperaturas da ordem de 50°C e (iii) termófilos extremos, com crescimento máximo em temperaturas acima de 65°C (GHORBANI *et al.*, 2016). Vários estudos sobre a dissolução de sulfetos minerais com a utilização de bactérias têm sido realizados utilizando micro-organismos mesófilos, especialmente *Acidithiobacillus ferrooxidans* (BRIERLEY, 2010; WATLING, 2006). Os sulfetos secundários de cobre, como calcocita, bornita e covelita podem ser biolixiviados com eficiência por esse micro-organismo (ZHAO *et al.*, 2013) uma vez que são facilmente atacadas pelo íon férrico biologicamente produzido. No entanto, a biolixiviação da calcopirita, um sulfeto mineral primário, ainda é um desafio devido à cinética lenta e a baixa extração (SICUPIRA *et al.*, 2011; WATLING *et al.*, 2009; ZHAO *et al.*, 2013).

Como a lixiviação em pilhas é a técnica mais aplicada aos minérios de cobre (Sicupira, 2011), deve-se conduzir o programa de testes visando determinar o potencial de biolixiviação, como discutido a seguir.

2.2.1 Desenvolvimento de testes metalúrgicos para aplicação de lixiviação em pilhas

Durante o desenvolvimento de um programa de ensaios de lixiviação visando uma futura aplicação industrial, verifica-se se o metal de interesse pode ser extraído de um determinado material (minério/concentrado/resíduo) e em caso afirmativo, em que condições, a que taxa e quais os custos operacionais envolvidos, definindo-se assim, os parâmetros ótimos do processo (MCCLELLAND, 1988). No caso específico da lixiviação em pilhas, o programa completo de ensaios de lixiviação normalmente envolve uma sequência de etapas, em sistemas agitados (frascos, garrafas e tanque), colunas (usualmente, 1m e 6m) e pilha(s) piloto, com tempos de experimentos crescentes (ROBERTSON E VAN STADEN, 2009; VAN STANDEN *et al.*, 2009).

Ensaios em frascos Erlenmeyer seguidos por ensaios em garrafa e em biorreator são normalmente executados na primeira etapa de um programa de ensaios de lixiviação (ROBERTSON E VAN STADEN, 2009), de modo a estimar a extração máxima atingível e o consumo de ácido. As fases subsequentes dos ensaios centram-se no desenvolvimento dos critérios de processos para o processamento hidrometalúrgico do material (VAN STANDEN *et al.*, 2009).

Especificamente os ensaios em Erlenmeyer constituem um procedimento padrão em estudos de biolixiviação, sendo que esses são de baixo custo e um elevado número de variáveis e experimentos podem ser realizados simultaneamente, especialmente quando se pretende determinar os parâmetros ideais de biolixiviação, tais como pH e tamanho de partícula (RODRIGUES, 2015). Devido à pequena massa de material sólido utilizada, a preparação do material deve ser cuidadosamente realizada, garantindo assim que uma amostra representativa esteja sendo testada. No entanto, experimentos subsequentes com maior massa de sólidos são necessários para confirmar os resultados obtidos durante os ensaios em Erlenmeyer (VAN STANDEN *et al.*, 2009).

Na sequência do programa de ensaios de lixiviação, experimentos em garrafas são uma opção para os ensaios de biolixiviação, esses tem o objetivo de aumentar a massa de material estudada (ROBERTSON E VAN STADEN, 2009). Cabe ressaltar que este tipo de experimento é aplicado anteriormente aos estudos de biolixiviação em colunas (Van Standen *et al.*, 2009). O ensaio em biorreator é etapa alternativa no programa de testes (ROBERTSON E VAN STADEN, 2009). Esse reator é geralmente um tanque agitado mecanicamente que possibilita aeração forçada, a qual pode ser aplicada para ultrapassar as limitações de difusão de oxigênio observadas durante os ensaios em Erlenmeyer (VELOSO, 2011).

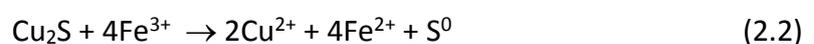
Em geral, estes três tipos diferentes de ensaios são concebidos para: (i) estabelecer recuperações máximas de metal e consumo de reagentes e (ii) determinar os parâmetros ótimos de lixiviação (ROBERTSON E VAN STADEN, 2009). No entanto, em comparação com ensaios em Erlenmeyer, a produtividade dos ensaios em garrafa e em biorretor é menor, porque um número menor de experimentos pode ser realizado simultaneamente. Portanto,

ensaios em Erlenmeyers são necessários para fornecer os parâmetros ótimos para os experimentos em garrafa e biorreator (VAN STANDEN *et al.*, 2009).

Devido aos custos crescentes, é vantajoso definir o maior número possível de parâmetros de lixiviação logo no início do programa de ensaios (MCCLELLAND, 1988; ROBERTSON E VAN STADEN, 2009; VAN STANDEN *et al.*, 2009). Estes incluem: (i) o efeito da granulometria, (ii) da concentração de ácido na solução de lixiviação, (iii) da temperatura, (iv) da necessidade ou não de manutenção de condições oxidantes, (v) da necessidade ou não de aglomeração, e em caso afirmativo, com ou sem a adição de ligante, (vi) taxa de irrigação das colunas, entre outros (VAN STANDEN *et al.*, 2009). Os ensaios de lixiviação em frascos agitados normalmente são realizados para avaliar os parâmetros de (i) a (iv), uma vez que requerem pequenas quantidades de amostra e são de curta duração (Robertson e Van Staden, 2009). Resultados satisfatórios destes parâmetros (i a iv) indicariam que a biolixiviação em pilhas é potencialmente viável e que as etapas (v) e (vi) devem ser conduzidas (MCCLELLAND, 1988).

2.3 Micro-organismos empregados em biolixiviação e sua tolerância aos íons presentes em solução

Os micro-organismos mesófilos, como citado, são aqueles que se desenvolvem na faixa de temperatura, entre 20 e 35°C (ZHAO *et al.*, 2013) e são normalmente isolados a partir de depósitos minerais (SANTOS, 2006). Esses micro-organismos são catalisadores da dissolução dos sulfetos minerais devido à oxidação dos mesmos em meio ácido por oxigênio e/ou por íons férricos (RODRIGUES, 2015; MALEY *et al.*, 2009). Entretanto, o principal mecanismo que estas bactérias utilizam para catalisar a dissolução de sulfetos secundários de cobre e outros minerais, é baseado na produção do íon Fe^{3+} . Nesse processo, o oxigênio é o acceptor final de elétrons e, posteriormente, o íon férrico atua como oxidante do sulfeto metálico como, por exemplo, a calcocita (Cu_2S) (CRUNDWELL, 2003; WANG *et al.*, 2008). As equações químicas que descrevem o processo são:



A reação (2.1) é catalisada pelo micro-organismo.

Observa-se na equação 2.2 que o íon férrico (Fe^{3+}) formado na equação 2.1 reage quimicamente com o sulfeto metálico, o que acarreta a dissolução do metal. O íon Fe^{3+} é reduzido para íon Fe^{2+} , e esse é novamente re-oxidado pela bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, completando o ciclo (CRUNDWELL, 2003). O gênero *Acidithiobacillus* compreende espécies como: *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus caldus* e *Acidithiobacillus albertensis* (ROHWERDER *et al.*, 2009). Outros micro-organismos envolvidos na biolixiviação de sulfetos metálicos pertencem usualmente aos gêneros *Leptospirillum*, *Sulfolobus*, *Sulfobacillus* e *Acidianus* (KONDRATYEVA *et al.*, 1999; GHORBANI *et al.*, 2016; SANTOS, 2006; WATLING, 2006).

O gênero *Acidithiobacillus* é capaz de oxidar compostos inorgânicos contendo enxofre. Essa bactéria é quimioautotrófica (utiliza compostos inorgânicos como fontes energéticas e fixa CO_2 como fonte de carbono para a síntese de material celular), aeróbica (utiliza oxigênio comoceptor final de elétrons), mesófila e acidófila (crescem em pH entre 1,5 e 4,5) (JENSEN e WEBB, 1995; SANTOS, 2006; ZHAO *et al.*, 2013). Esses micro-organismos possuem resistência a concentrações elevadas de íons metálicos, o que viabiliza a sua aplicação nos processos de biolixiviação de sulfetos (RODRIGUES *et al.*, 2016), uma vez que é possível selecionar linhagens individuais a altas concentrações de metais ou a substratos específicos pelo aumento gradual da concentração do metal ou do substrato (YANG *et al.*, 2011).

Nos processos de biolixiviação em pilhas, é comum a prática de recirculação dos licores ricos (PLS) obtidos (GHORBANI *et al.*, 2016). Neste processo, a dissolução da ganga a partir de seus minérios, pode resultar principalmente, no aumento de sulfatos de magnésio e alumínio na PLS (OJUMU *et al.*, 2008; VELOSO, 2011). Esta dissolução é um dos principais fatores que afetam o desempenho da biolixiviação, pelo fato de que a presença de tais cátions em solução criam condições potencialmente adversas para o micro-organismo, desta forma, interferindo na atividade microbiana e na biooxidação, que é um subprocesso crítico na biolixiviação (AHORANTA *et al.*, 2017; OJUMU *et al.*, 2008).

Sicupira (2011) avaliou o efeito da concentração dos íons Mg^{2+} e Al^{3+} (0 g.L⁻¹, 2,5 g.L⁻¹, 5,0 g.L⁻¹ e 10,0 g.L⁻¹) na biolixiviação de minérios secundários de cobre na presença de *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. No caso do íon Mg^{2+} a velocidade de extração de cobre foi menor nos experimentos com 10,0 g.L⁻¹ de magnésio. Exemplificando 100% de extração de cobre foi alcançado para as concentrações de 0 g.L⁻¹, 2,5 g.L⁻¹ e 5,0 g.L⁻¹ de Mg^{2+} em 6 dias. Porém, para os ensaios com concentração de 10,0 g.L⁻¹ de Mg^{2+} foram necessários 14 dias para a completa dissolução do metal. Para o Al^{3+} , a velocidade de extração do cobre foi menor nos experimentos na ausência do cátion e na concentração máxima de 10 g.L⁻¹ de Al^{3+} , sendo necessários 14 dias para a dissolução completa do metal. Por outro lado, somente 6 dias foram necessários para se alcançar a mesma extração nas demais concentrações de alumínio.

Veloso (2011) estudou o efeito da concentração de íons Al^{3+} (0 g.L⁻¹ - 10 g.L⁻¹) e Mg^{2+} (0 g.L⁻¹ - 10 g.L⁻¹) em sistemas de biolixiviação de minérios secundários de cobre utilizando *Sulfolobus acidocaldarius*. A autora observou que a extração de cobre final foi próxima, independentemente da concentração de íons alumínio adicionada ao sistema, porém a cinética de lixiviação foi influenciada pela presença desse íon. A extração de cobre foi favorecida na presença do Al^{3+} , porém no ensaio com 10 g.L⁻¹ de Al^{3+} , a cinética de lixiviação do cobre foi afetada. Por outro lado, os experimentos conduzidos com diferentes concentrações de Mg^{2+} não tiveram influência na cinética de extração do metal. Por outro lado, Ahoranta *et al.* (2017) relataram que na presença de uma comunidade diversa contendo predominantemente a espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans*, concentrações abaixo de 12 g.L⁻¹ de Al^{3+} não afetaram a bio-oxidação e que concentrações abaixo de 6 g.L⁻¹ aumentaram as taxas de oxidação do íon Fe^{2+} .

Uma particularidade do Al^{3+} é sua capacidade de complexação do fluoreto presente nas amostras estudadas (RODRIGUES, 2015; SICUPIRA *et al.*, 2011; VELOSO, 2011), reduzindo sua toxicidade e contribuindo para a manutenção da atividade microbiana. A toxicidade é explicada pelo fato do fluoreto existir, principalmente, na forma protonada (HF) (pKa=3,2 a 25°C, I=0) na faixa de pH utilizada nos sistemas de biolixiviação (BRIERLEY e KUHN, 2010; SICUPIRA *et al.*, 2011; VELOSO, 2011). Tal espécie, ao atravessar a parede celular, dissocia-se dentro da célula em íons H^+ e F^- , visto que o pH no interior da célula é neutro. Assim o íon H^+

aumenta a acidez interna da célula, enquanto o ânion fluoreto afeta os processos enzimáticos (VELOSO, 2011), interferindo na oxidação do Fe^{2+} (BRIERLEY e KUHN, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2016). Peng *et al.* (2013) investigaram a inibição da oxidação de Fe^{2+} por *Acidithiobacillus ferrooxidans* na presença do íon fluoreto, demonstrando, após a terceira adaptação do micro-organismo ao meio, que uma concentração de 60 mg.L^{-1} de fluoreto, resultou em uma completa inibição da oxidação do íon Fe^{2+} . Brierley e Kuhn (2010) realizaram estudos em pilhas de biolixiviação contendo calcocita e reportaram baixas recuperações de cobre devido à presença de íons fluoreto em solução, mostrando ainda que a concentração bacteriana diminui com o tempo e que concentrações de fluoreto superiores a 15 g.L^{-1} foram inibidoras ao crescimento do micro-organismo *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Sicupira *et al.* (2011) estudaram a biolixiviação de duas amostras de minério de cobre, utilizando uma cepa de *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. Os autores observaram que a presença de fluoreto em ambos os minérios teve interferência negativa no processo de biolixiviação, uma vez que a oxidação do Fe^{2+} nos sistemas inoculados foi afetada, fato observado pelos baixos valores de potencial de oxidação medidos (em média 420mV). Os autores trabalharam com minérios que possuíam entre 0,53% e 1,00% de fluoreto, na forma de fluorita que é solúvel em meio ácido. Por isso, concentrações da ordem de $269,9 \text{ mg.L}^{-1}$ e $152,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de F^- em solução foram determinados. Sicupira *et al.* (2011), adicionaram alumínio ao meio de cultivo, com o objetivo de complexar o fluoreto liberado na PLS. Os autores destacaram que o alumínio é capaz de formar complexos estáveis com o fluoreto reduzindo a concentração da forma protonada do flúor (HF), que é tóxica para os micro-organismos. Os autores observaram um aumento significativo do potencial de oxidação dos sistemas inoculados (de 420mV para valores acima de 600mV) quando foi utilizada uma razão molar de alumínio/flúor igual a 1,40. Nessas condições, foram obtidos 100% de extração do metal, utilizando minério de cobre com tamanho de partícula menor que $-106\mu\text{m}$.

Veloso (2011), também trabalhando com sulfetos secundários de cobre, estudou a biolixiviação utilizando uma cepa do micro-organismo termófilo extremo, *Sulfolobus acidocaldarius*. Todas as amostras de minério estudadas apresentaram teores relativamente elevados de flúor: 0,30% para amostras de concentrado; 0,53% e 0,74% para duas amostras

de minério de cobre e após sete dias de biolixiviação, as concentrações de fluoreto na PLS foram de 0,725 g.L⁻¹, 0,345 g.L⁻¹, 0,488 g.L⁻¹ para o concentrado e as amostras de minério, respectivamente. A autora observou que a adição de Al³⁺ na solução lixiviante impactou positivamente a cinética de extração de cobre. Trabalhando com uma razão molar Al/F de 1:1, relatou extrações da ordem de 90%, mantendo-se o pH do sistema na faixa de 1,5-2,0. A autora também explicou o efeito do Al³⁺ pela sua capacidade de se complexar com os íons fluoreto.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Caracterização das amostras

Foram estudadas duas amostras de sulfetos secundários de cobre cedidas pela empresa Vale. A amostra de maior teor de cobre foi denominada alto teor e a de menor teor do metal, baixo teor. Essas amostras foram cominuídas e classificadas em duas faixas granulométricas ($-75\mu\text{m}$ e $-75\mu\text{m}+53\mu\text{m}$), segundo a série Tyler de peneiras. As técnicas analíticas utilizadas para determinação dos teores dos elementos presentes nas amostras foram: espectrometria de absorção atômica (*Perkim Elmer Modelo AAnalyst 100*) e espectrofotometria de emissão atômica com fonte de plasma (*Agilent, modelo 725*). A digestão ácida do material para as análises citadas foi feita utilizando-se ácido clorídrico, nítrico e fluorídrico. Os resultados para as primeiras 2 faixas granulométricas são mostrados na tabela 3.1.

Tabela 3.1: Análise química (%) das amostras de minério estudadas.

Elemento	Alto teor		Baixo teor	
	$-75\mu\text{m}$	$-75+53\mu\text{m}$	$-75\mu\text{m}$	$-75+53\mu\text{m}$
Cu (%)	1,61	1,69	1,02	1,43
Fe (%)	38,84	33,05	31,79	28,74
F (%)	0,99	0,73	0,63	0,63
Cl (%)	0,66	0,68	0,53	0,53
Al (%)	3,55	3,68	4,77	4,77
Mg (%)	0,71	0,74	0,98	0,99

A caracterização mineralógica é descrita na dissertação de Sicupira (2011) e por consequência apenas um resumo das principais características do minério é apresentado a seguir. A amostra de minério de baixo teor de cobre é constituída, principalmente, por biotita (34,9%) e magnetita (9,5%) e dos grupos mineralógicos anfibólios (25,2%) e granada (16,7%). Na amostra de minério de alto teor de cobre, predominam os minerais: biotita (42,3%), magnetita (21,5%) e o grupo mineralógico anfibólios (18,9%). Pode-se destacar nessa análise a presença de 1,5% de sulfetos de cobre (minério de alto teor) e 1,1%, no minério de baixo teor de cobre. Além disso, é importante destacar a presença da fluorita nos dois minérios. A presença do

flúor nos minérios também foi confirmada pela análise química, onde a porcentagem de flúor encontrada nas amostras variou de 0,63% a 1,0% (tabela 3.1). Em termos da partição de cobre, o elemento encontra-se predominantemente sob a forma de calcocita e bornita nas duas amostras, sendo que o minério de baixo teor de cobre também apresenta cerca de 6% de calcopirita.

Os resultados das análises de cobre solúvel para os minérios alto teor e baixo teor de cobre indicaram que a maior parte do cobre é solúvel em cianeto de potássio (aproximadamente 85%), seguido de ácido acético (4-8%). Os resultados também mostraram que 6,8% e 2,5% de cobre no minério de baixo e no de alto teor de cobre, respectivamente, estão em fases insolúveis. Logo o predomínio de sulfetos secundários foi confirmado (SICUPIRA, 2011).

3.2 Ensaios de biolixiviação com micro-organismos mesófilos

Os experimentos de biolixiviação foram conduzidos com uma cepa de micro-organismos mesófilos, composta predominante por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, isolados de uma mina de sulfetos, os quais foram cultivados em meio seletivo (contendo íons Fe^{2+} e pH igual a 1,8) (AZEVEDO, 2008).

Inicialmente, os experimentos foram realizados em batelada, em Erlenmeyers de 250 mL, contendo 100 mL de solução, 5% de sólidos (p/v) e volume de inóculo de 10% (v/v) contendo íons Fe^{2+} e população bacteriana na ordem de 10^8 células.mL⁻¹. Os frascos foram agitados a 150 min⁻¹ e mantidos a temperatura de 35°C em um “shaker” termostaticado (Equipamento *New Brunswick Scientific, INNOVA 44*). Foi empregado o meio de cultura Norris a 10% (v/v), com os seguintes sais nas seguintes concentrações: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 0,4 g.L⁻¹; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,8 g.L⁻¹ e K_2HPO_4 : 0,4 g.L⁻¹.

Foi avaliada a viabilidade do crescimento bacteriano na presença dos minérios de alto e baixo teor de cobre. Os ensaios foram realizados com volume de inóculo de 10% (v/v) e a condição de referência foi fixada para o valor de pH em 1,8, o tamanho de partícula em 75µm+53µm e a concentração de Fe^{2+} em 2 g.L⁻¹. Essa mesma condição foi utilizada nos

ensaios de controle químico (na ausência de micro-organismos), utilizando Timol como bactericida. Após a confirmação do crescimento bacteriano, foram estudados os efeitos da variação do pH e da concentração de íons Fe^{2+} , Al^{3+} e Mg^{2+} na biolixiviação dos minérios estudados, em ensaios em bancada (*Erlenmeyers*). Os valores de pH estudados foram: 1,4, 1,6, 1,8, 2,0 e 2,2 e as concentrações de Fe^{2+} estudadas foram: 0 g.L⁻¹, 2 g.L⁻¹, 5 g.L⁻¹ e 10 g.L⁻¹. O efeito dos íons Mg^{2+} e Al^{3+} sobre a extração final, foram avaliados, separadamente, utilizando os valores de 0 g.L⁻¹, 2 g.L⁻¹ e 5 g.L⁻¹.

A dissolução de íon fluoreto foi observada a partir das duas amostras estudadas, com impacto negativo nos ensaios de biolixiviação. Esse efeito foi contornado com a adição de íons alumínio ao sistema. Em função disso, a não ser em casos específicos, sulfato de alumínio foi adicionado ao sistema de biolixiviação para se atingir uma razão mássica Al/F igual a 2,5 no início dos ensaios com minério de alto teor ou 2,0, nos experimentos com o minério de baixo teor de cobre, como descrito por Sicupira *et al.* (2011).

3.3 Programa de ensaios metalúrgicos

Propondo uma adaptação ao programa de ensaios metalúrgicos (ROBERTSON e VAN STADEN, 2009) foram realizados ensaios em Erlenmeyer (frascos agitados) – como descrito no item 3.2., garrafa agitada e em biorreator (tanque agitado), utilizando a faixa granulométrica - 75µm. O resumo dos parâmetros estudados e os valores assumidos nos ensaios são apresentados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2: Parâmetros investigados nos experimentos de biolixiviação. Condições experimentais: 5% sólidos, 2 g.L⁻¹ Fe^{2+} e 12 dias de experimento.

Experimento	Volume de solução (L)	Taxa de agitação (min ⁻¹)	Modo de agitação
Erlenmeyer	0,1	150	Orbital (shaker)
Garrafa	3	80	Rotação (rolos)
Biorreator	2	600	Impelidor

3.3.1 Ensaio em garrafas

Os ensaios em garrafa de vidro de 10 L de capacidade (Figura 3.1) foram conduzidos em sala climatizada (35°C) sob agitação de 80 min⁻¹ (a agitação é proporcionada pela rotação da garrafa em torno do seu eixo na posição horizontal, em um sistema de rolos movimentados), contendo 3 L de solução, concentração de sólidos de 5% (p/v), população inicial bacteriana na ordem de 10⁸ células.mL⁻¹ e volume de inóculo de 10% (v/v). Os ensaios foram realizados nas melhores condições definidas e otimizadas nos ensaios em Erlenmeyer (faixa granulométrica -75µm, pH 1,8 e 35°C).

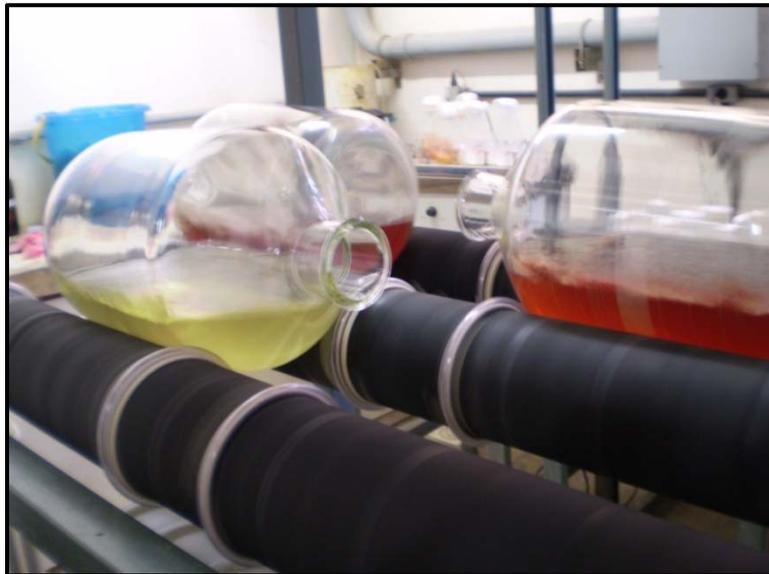


Figura 3.1: Ensaio de biolixiviação em garrafa.

3.3.2 Ensaio em biorreator

Os ensaios em biorreator foram realizados em um equipamento da marca *New Brunswick Scientific* – BioFlo 110 com volume de 3 L. Um volume de 200 mL de inóculo foi transferido para o biorreator e adicionou-se meio de cultivo, contendo 2 g.L⁻¹ Fe²⁺ para produzir uma solução final de 2 L, obtendo uma população inicial bacteriana na ordem de 10⁸ células.mL⁻¹. Posteriormente, o sólido foi adicionado para se atingir 5% (p/v) de densidade de polpa. A temperatura e a agitação foram mantidas constantes em 35°C e 600 min⁻¹ (impelidor duplo, Rushton de 5 cm de diâmetro) respectivamente, nas melhores condições definidas e

otimizadas nos ensaios em Erlenmeyer. O pH foi controlado durante os experimentos com a adição de ácido sulfúrico concentrado ou hidróxido de sódio.

3.4 Acompanhamento dos ensaios

O pH e o potencial eletroquímico (Eh) da suspensão foram avaliados diariamente. O pH foi avaliado (Equipamento Digimed DM22) e ajustado quando necessário pela adição de solução 1 mol.L⁻¹ de H₂SO₄ ou 6 mol.L⁻¹ de NaOH, enquanto que o Eh foi avaliado por eletrodo de Ag/AgCl (Equipamento Digimed DM20). As perdas por evaporação foram compensadas pela adição de água destilada.

A concentração dos íons Cu²⁺, Al³⁺, F⁻, Fe²⁺ e Fe³⁺ foram quantificadas em intervalos periódicos de tempo. A técnica analítica utilizada para determinação do teor de cobre, alumínio e ferro total (Fe²⁺ e Fe³⁺) em cada experimento foi por espectrofotometria de emissão atômica com fonte de plasma (equipamento ICP-OES varian 725). A concentração dos íons de Fe²⁺ foi obtida por titulação contra solução padrão de dicromato de potássio em um equipamento Schott titroline alpha; a concentração dos íons Fe³⁺ foi determinada por diferença entre a concentração de ferro total e a concentração dos íons Fe²⁺. Um cromatógrafo de íons (equipamento Metrohm) foi utilizado para a determinação da concentração do íon F⁻ pelo método de condutividade com diálise (Coluna METROSEP A SUPP 10 e fase móvel formada por solução de Na₂CO₃/NaHCO₃).

A concentração bacteriana em solução foi determinada utilizando uma câmara de Neubauer com auxílio de um microscópio com capacidade de aumento de até 1000 vezes (Leica). Através de um oxímetro (Digimed/modelo: DM-4) foi determinada a concentração de oxigênio dissolvido em solução.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Biolixiviação de sulfetos secundários de cobre por *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Nesta primeira parte do estudo, foi abordada a biolixiviação do minério de baixo teor por uma cepa *Acidithiobacillus ferrooxidans*, previamente identificada por técnicas moleculares (AZEVEDO, 2011). A viabilidade de oxidação do íon Fe^{2+} na presença do íon flúor (presente na amostra de minério estudada), como também o efeito dos parâmetros pH e a concentração dos cátions Fe^{2+} , Al^{3+} e Mg^{2+} sobre a extração de cobre foram avaliados.

4.1.1 Viabilidade da bio-oxidação do íon Fe^{2+} - Efeito do flúor

Para avaliar a toxicidade do íon fluoreto para a cepa de *Acidithiobacillus ferrooxidans* estudada, foram realizados ensaios em frascos agitados (Erlenmeyer) na ausência de minério. Para tal, o Eh foi usado como parâmetro de controle, conforme pode ser observado na Figura 4.1. Em sistemas de biolixiviação, os valores de Eh são determinados pelas concentrações dos íons Fe^{2+} e Fe^{3+} no sistema. Com a biooxidação do íon ferroso, a concentração desta espécie é reduzida (eq. 2.1) enquanto a de íon férrico é elevada, refletindo no aumento dos valores de Eh do sistema. Logo, o Eh é uma medida indireta do crescimento bacteriano. Como mostra a figura 4.1, durante a primeira semana do ensaio, observou-se um rápido aumento do potencial de oxidação para valores em torno de 650 mV, nos experimentos realizados para concentrações de fluoreto de até 15 mg.L^{-1} . Pode-se ainda observar na Figura 4.1 que uma concentração igual ou superior a 20 mg.L^{-1} de F_{total} em solução resultou em baixos valores de Eh (primeiros 10 dias de ensaio), indicando uma inibição da oxidação biológica do íon Fe^{2+} , quando comparado aos ensaios com concentrações menores de fluoreto solúvel. Esse comportamento é consistente com o observado por Peng et al. (2013), durante a oxidação de Fe^{2+} quando o micro-organismo não estava adaptado ao meio.

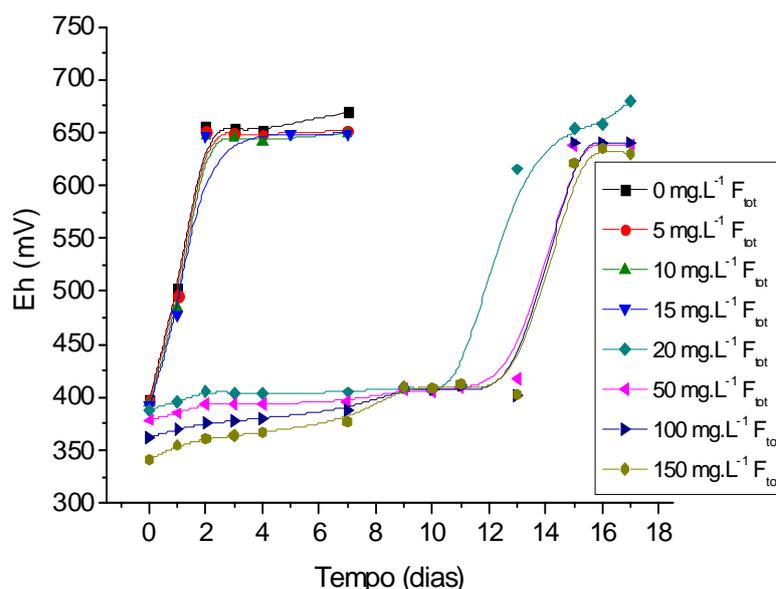


Figura 4.1: Efeito da concentração de F⁻ no Eh do sistema. Condições experimentais: Ensaios em Erlenmeyer; 2 g.L⁻¹ Fe²⁺, meio de cultura Norris, volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1.8, 150 min⁻¹ e 35 °C. No 10º dia de ensaio foi realizado a adição de alumínio (Al/F = 2 em massa) ao sistema.

Brierley e Kuhn (2010) reportaram que a formação de complexos entre o fluoreto e o íon Fe³⁺ contribuiu para a redução da toxicidade do íon fluoreto e o aumento no potencial de oxidação da solução. Não obstante, neste caso, o micro-organismo precisa antes oxidar o ferro ferroso, mas seu crescimento é afetado pela presença do flúor. Outra solução para reduzir a toxicidade do flúor, como proposto por Brierley e Kuhn (2010) e Veloso *et al.* (2012) é a adição de sais de alumínio, que também complexam o flúor e diminuem a concentração do HF (espécie predominante nos valores de pH usados em biolixiviação). O fluoreto é complexado pelo alumínio e uma razão Al/F no mínimo igual a 2, resultando no aumento no Eh e permitindo a formação de Fe³⁺ em solução o que também contribui para a redução da toxicidade (RODRIGUES, 2015; SICUPIRA *et al.*, 2011; VELOSO *et al.*, 2012).

De acordo com a relação Al/F proposta por Sicupira *et al.* (2011), no mesmo ensaio de avaliação da toxicidade do íon fluoreto na bio-oxidação do íon Fe²⁺ (Figura 4.1) foi adicionado, no 10º dia, sulfato de alumínio para produzir uma razão Al/F = 2 (em massa) nos experimentos onde a concentração de F⁻ era superior à 15 mg.L⁻¹. A Figura 4.1 mostra a elevação do Eh a

partir do 11º dia para tais concentrações de fluoreto, que atingiram valores semelhantes aos observados no ensaio sem o ânion. Com isto, pode-se sugerir que uma concentração igual ou superior a 20 mg.L⁻¹ de fluoreto total, inibe a atividade bacteriana, o que pode ser remediado pela adição (ou presença) de Al³⁺ no sistema. A partir deste resultado alumínio foi adicionado ao meio de cultura em todos os ensaios descritos a seguir.

4.1.2 Estudo do Efeito do pH na Extração do Cobre

Foram realizados ensaios para estudar a influência do pH, nos valores de 1,4 a 2,2, sobre o percentual de extração do cobre. A Figura 4.2 mostra o percentual de extração de cobre em função do tempo nos experimentos realizados. Não foi observado efeito significativo dessa variável na extração de cobre, sendo que os valores de pH 1,6 e 1,8 mostraram ligeiro aumento na velocidade de extração do metal. Em todos os casos, a extração biológica final de cobre foi de 75%, enquanto no ensaio químico apenas 20% de extração foi alcançado.

Os baixos valores de extração de cobre (75%) observados para o minério de baixo teor é devida, possivelmente, à presença da calcopirita na amostra. A calcopirita é um mineral de cobre muito refratário e, por isso, normalmente não é lixiviado nos processos hidrometalúrgicos. Sabe-se que a reação de oxidação da calcopirita utilizando íons férricos possui uma cinética lenta e sua taxa de oxidação diminui com o tempo. Isso é atribuído à formação de uma camada de passivação durante a lixiviação em condições oxidantes, o que inibe a reação (CARNEIRO e LEÃO, 2007).

Sicupira *et al.* (2011) demonstraram que o pH é uma importante variável na lixiviação química dos sulfetos de cobre, sendo que elevadas extrações são obtidas apenas em condições de acidez mais elevada (pH 1,4). Entretanto, como pode ser observado na Figura 4.2, extrações semelhantes de cobre podem ser obtidas em maiores valores de pH, tais como 1,6 e 1,8 nos experimentos bióticos. Esse fato permite inferir que é possível obter elevada extração de cobre acima de 90% com menor consumo de ácido em uma potencial operação em grande escala.

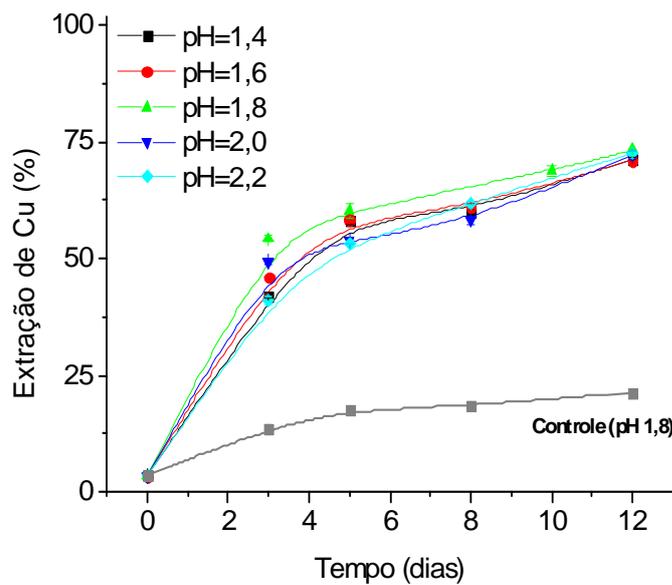


Figura 4.2: Percentual de extração de cobre em função do tempo, com diferentes valores de pH nos experimentos realizados com o minério de baixo teor de cobre. Condições experimentais: 2 g.L⁻¹ Fe²⁺, 0,5 g.L⁻¹ Al³⁺, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, 10% (v/v) de inóculo, -75µm+53 µm, 150 min⁻¹, 35°C e timol (bactericida no ensaio controle).

Muñoz *et al.* (1995) estudaram o efeito do pH (1,5-3,0) na extração de urânio e no consumo de ácido, utilizando micro-organismos mesófilos. Para os autores, a maior extração (80%) foi alcançada no valor de pH 2,5, onde obteve-se um consumo de ácido 5 g/Kg de minério. Para os valores de pH 1,5 e 2,0, a extração foi elevada, porém o consumo de ácido cresceu para 60 g/Kg de minério e 20 g/Kg de minério, respectivamente. Dopson *et al.* (2008) estudaram o consumo de ácido em colunas de biolixiviação de minério silicatado. Segundo os autores, após 293 dias de experimento, o consumo de ácido para os valores de pH nos ensaios iguais a 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 foi de 219,0; 79,0; 15,0, e 5,0g de H₂SO₄/kg de minério, respectivamente, o que também está de acordo com os resultados de Deveci *et al.* (2004). Logo, como esperado, a biolixiviação em valores de pH mais elevados requer um menor consumo de ácido.

4.1.3 Estudo do efeito da concentração inicial de Fe²⁺ na extração de cobre

Foram também realizados ensaios para avaliar o efeito da adição de sulfato ferroso sobre o percentual de extração de cobre nos sistemas de biolixiviação, uma vez que o íon ferroso é substrato para o crescimento bacteriano. As concentrações iniciais de Fe^{2+} estudadas foram: 0 g.L^{-1} ; $2,0 \text{ g.L}^{-1}$; $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $10,0 \text{ g.L}^{-1}$ (DEVECI *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2008).

A Figura 4.3 mostra o percentual de extração de cobre em função do tempo, para as diferentes concentrações iniciais de Fe^{2+} . Observa-se que a concentração inicial de Fe^{2+} não influenciou na extração de cobre, pois observou-se praticamente as mesmas extrações independentemente dos valores estudados, ou seja, 75% (semelhante às observadas quando o efeito do pH foi avaliado). O ensaio controle mostrou extração de apenas 40%, o que evidenciou a importância da presença de micro-organismos nesses sistemas. Por outro lado, a cinética de extração foi mais rápida, para as concentrações de $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $10,0 \text{ g.L}^{-1}$ uma vez que a máxima extração de cobre é atingida mais rapidamente do que para concentrações mais baixas do substrato.

Deveci *et al.* (2004) estudaram o efeito da concentração inicial de Fe^{2+} na extração de zinco de um minério que possuía 2,89% de ferro. O ensaio de controle químico e o experimento sem a adição de Fe^{2+} alcançaram extrações de 30% e 40%, respectivamente, enquanto os ensaios com concentração de Fe^{2+} na faixa 1 g.L^{-1} a 4 g.L^{-1} mostraram resultados de aproximadamente 100% de extração.

O aumento na concentração inicial de ferro total no sistema leva a uma maior precipitação de Fe^{3+} como jarosita (QIU *et al.*, 2006). Esse resultado pode ser visualizado na Figura 4.2(b). Para o ensaio com 10 g.L^{-1} de Fe^{2+} , a concentração de ferro reduz-se de cerca de 12 g.L^{-1} para valores em torno de 8 g.L^{-1} , enquanto a concentração final de ferro total situa-se abaixo de 4 g.L^{-1} nas outras condições estudadas. A formação de jarosita poderia formar uma barreira para posterior dissolução de sulfetos, mas não é considerado um fator limitante para dissolução de minerais sulfetados (PINA, 2006; WITNE e PHILLIPS, 2001). No presente trabalho, observa-se que apesar da formação de jarosita, tanto nos ensaios com valores de pH elevados (2,0 e 2,2), como nos experimentos com concentrações iniciais de Fe^{2+} elevadas (5 g.L^{-1} e 10 g.L^{-1}), a extração de cobre foi significativa. Isso aconteceu porque antes do Fe^{3+} (3º dia) ser precipitado

como jarosita, a extração de cobre já havia alcançado valores próximos à extração máxima (75%).

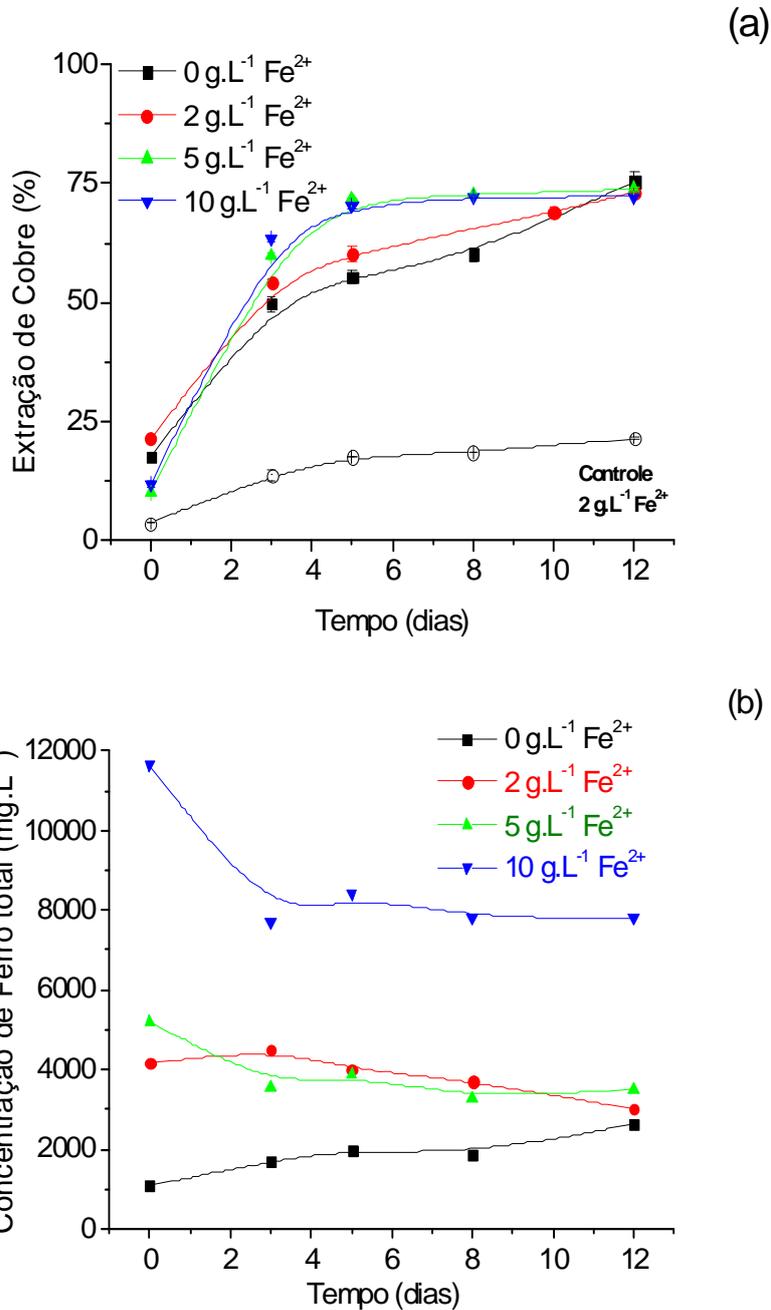


Figura 4.3: Efeito da concentração inicial de sulfato ferroso sobre extração de cobre (a) e concentração de ferro total (b) nos ensaios com minério de baixo teor de cobre. Condições experimentais: $0,5 \text{ g.L}^{-1} \text{ Al}^{3+}$, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, 10% (v/v) de inóculo, $75\mu\text{m}+53\mu\text{m}$, pH inicial 1,8, 150 min^{-1} , 35°C e timol (bactericida no ensaio controle).

4.1.4 Efeito da concentração inicial de Mg^{2+} sobre a extração de cobre

Foram realizados ensaios para estudar a influência da concentração de íons Mg^{2+} sobre o percentual de extração de cobre na presença de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. As concentrações dos íons Mg^{2+} estudadas foram: 0 g.L⁻¹, 2,0 g.L⁻¹ e 5,0 g.L⁻¹, determinadas de acordo com os estudos realizados por Rodrigues (2015), que indicaram necessidade de purga nas soluções dos ensaios em colunas quando as concentrações de alumínio e magnésio atingiam valores próximos a 5 g.L⁻¹.

A Figura 4.4(a) mostra o percentual de extração de cobre em função do tempo para as diferentes concentrações iniciais de Mg^{2+} e a Figura 4.4(b) apresenta os valores do potencial de oxidação, nos experimentos realizados com o minério de baixo teor de cobre.

De acordo com a Figura 4.4, na faixa de concentração de íons Mg^{2+} estudada, houve ligeiro aumento na cinética de extração de cobre, para crescentes concentrações de Mg^{2+} . Estudos semelhantes com micro-organismos termófilos moderados mostraram que na concentração de 10 g.L⁻¹ de Mg^{2+} a velocidade de extração de cobre foi reduzida, embora, no final do experimento, todas as condições estudadas alcançaram praticamente as mesmas extrações (SICUPIRA, 2011). Ojumu *et al.* (2008) reportaram que concentrações de magnésio superiores a 10 g.L⁻¹ afetaram a taxa de crescimento de *Leptospirillum ferriphilum* e logo a velocidade de oxidação dos íons ferrosos. Da mesma forma, Li e Ke (2001) mostraram que a oxidação de íons ferrosos por *Acidithiobacillus ferrooxidans* foi completamente inibida pela presença de 20,5 g.L⁻¹ de magnésio. A análise dos valores de Eh (Figura 4.4(b)) também não indicou efeito significativo no potencial de oxidação.

O aumento da concentração de magnésio é responsável pelo aumento da força iônica da solução lixiviante. A concentração de Mg^{2+} ou de outro elemento considerada tóxica aos micro-organismos depende tanto das condições do processo de biolixiviação quanto das espécies de micro-organismos envolvidas. Como mostrado nos trabalhos de Ojumu *et al.* (2008) e Li e Ke (2001), a concentração de magnésio que prejudica, por exemplo, a oxidação de íons ferrosos por *Leptospirillum ferriphilum* não é a mesma reportada para *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Logo, o estudo da concentração de determinado cátion que pode ser introduzido em um processo de biolixiviação deve ser realizado de maneira específica,

levando-se em consideração os micro-organismos envolvidos, as características do minério ou concentrado a ser processado e o modo de processamento do mesmo.

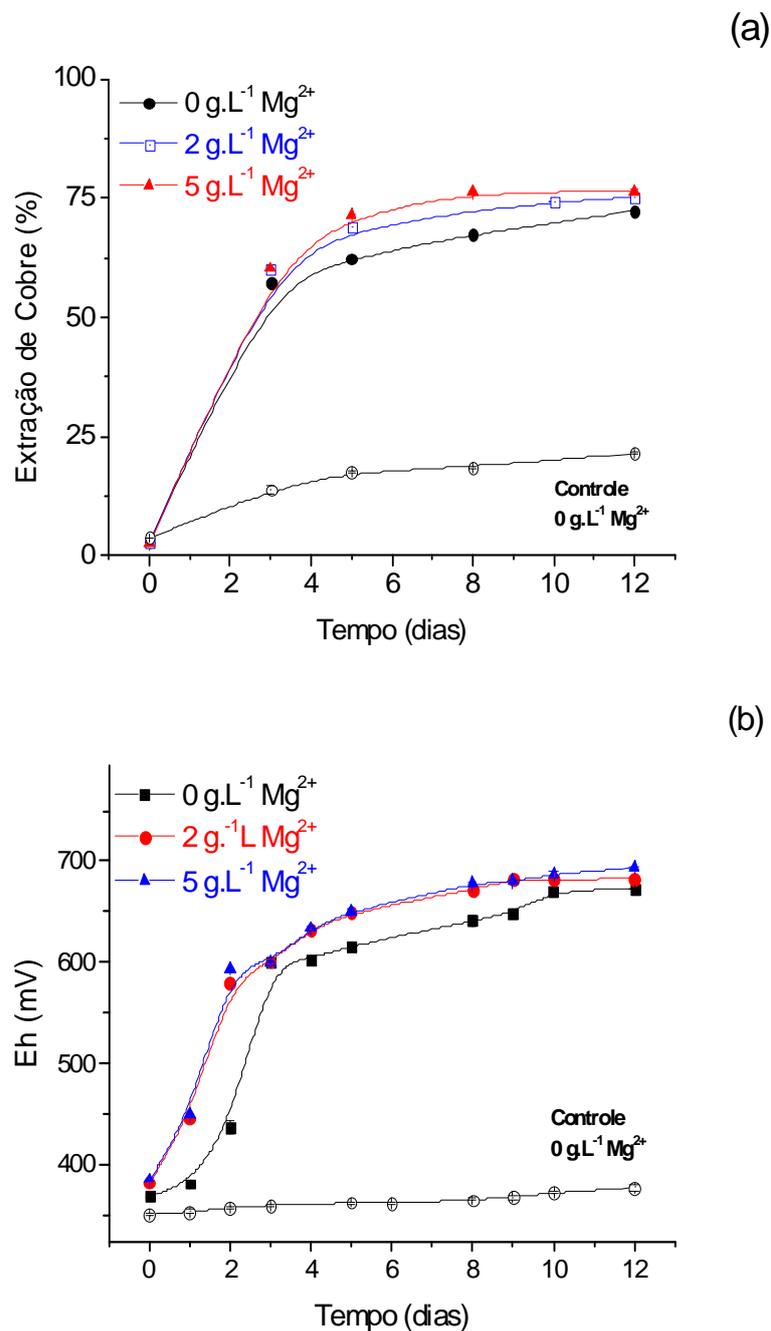


Figura 4.4: Efeito da presença de magnésio sobre extração de cobre (a) e o potencial de oxidação (b) nos ensaios com minério de baixo teor de cobre. Condições experimentais: 2 g.L⁻¹ Fe²⁺, 0,5 g.L⁻¹ Al³⁺, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, 10% (v/v) de inóculo, -75 µm +53 µm, pH inicial 1,8, 150 min⁻¹, 35°C e timol (bactericida no ensaio controle).

4.1.5 Efeito da concentração inicial de Al^{3+} sobre extração de cobre

A Figura 4.5 mostra os valores do percentual de extração de cobre e do Eh em função do tempo, para diferentes concentrações de Al^{3+} , nos experimentos realizados com o minério de baixo teor de cobre. A concentração de Al^{3+} teve influência sobre a extração de cobre, sendo o percentual de extração de metal significativamente menor (60%) nos ensaios sem o íon (0 g.L^{-1}), mas atingindo o máximo de 75% de extração na presença de 2 g.L^{-1} e 5 g.L^{-1} de Al^{3+} . O comportamento apresentado por *Acidithiobacillus ferrooxidans* em crescer na presença de 2 g.L^{-1} e 5 g.L^{-1} de Al^{3+} pode ser justificada pelos elevados valores de Eh observados na Figura 4.5(b).

Para Ojumu *et al.* (2008), concentrações de até 10 g.L^{-1} de alumínio têm um efeito negativo sobre a taxa de oxidação bacteriana do Fe^{2+} por *Leptospirillum ferriphilum*. Por outro lado, foi observado que a capacidade de oxidação do Fe^{2+} por *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, não foi afetada por concentrações de até 10 g.L^{-1} de Al^{3+} (SICUPIRA *et al.*, 2011). Além disso, Sicupira *et al.* (2011) relataram que durante a biolixiviação de uma amostra de sulfetos secundários de cobre houve também a dissolução de minerais portadores de flúor. Segundo os autores, foram observadas concentrações da ordem de $152,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de F^{-} , em solução, nos ensaios com o minério de baixo teor de cobre. Os autores relataram que a adição de sulfato de alumínio ao sistema, de modo a se obter uma razão mássica $Al/F=2,0$, reduziu a toxicidade do flúor para o *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*.

No presente estudo, a dissolução de minerais portadores de flúor resultou em concentrações de fluoreto em solução em concentrações próximas a 250 mg L^{-1} . Como previamente discutido, o flúor é convertido a HF nas condições de pH dos ensaios de biolixiviação, sendo que este último atravessa a membrana celular e dentro da célula (onde o pH é neutro) se dissocia liberando íons H^{+} , afetando o crescimento bacteriano. Caso minerais portadores de flúor não estivessem presentes no minério, os ensaios com 0 g.L^{-1} de alumínio deveriam mostrar extrações de cobre semelhantes às observadas nos ensaios com $2,0 \text{ g.L}^{-1}$ e $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ de alumínio. Todavia, tanto a extração quanto o potencial de oxidação foram impactados nessa

condição (0 g.L^{-1} , Figura 4.4). O alumínio, forma complexos estáveis com o íon fluoreto, reduzindo a concentração de HF em solução (VELOSO et al., 2012).

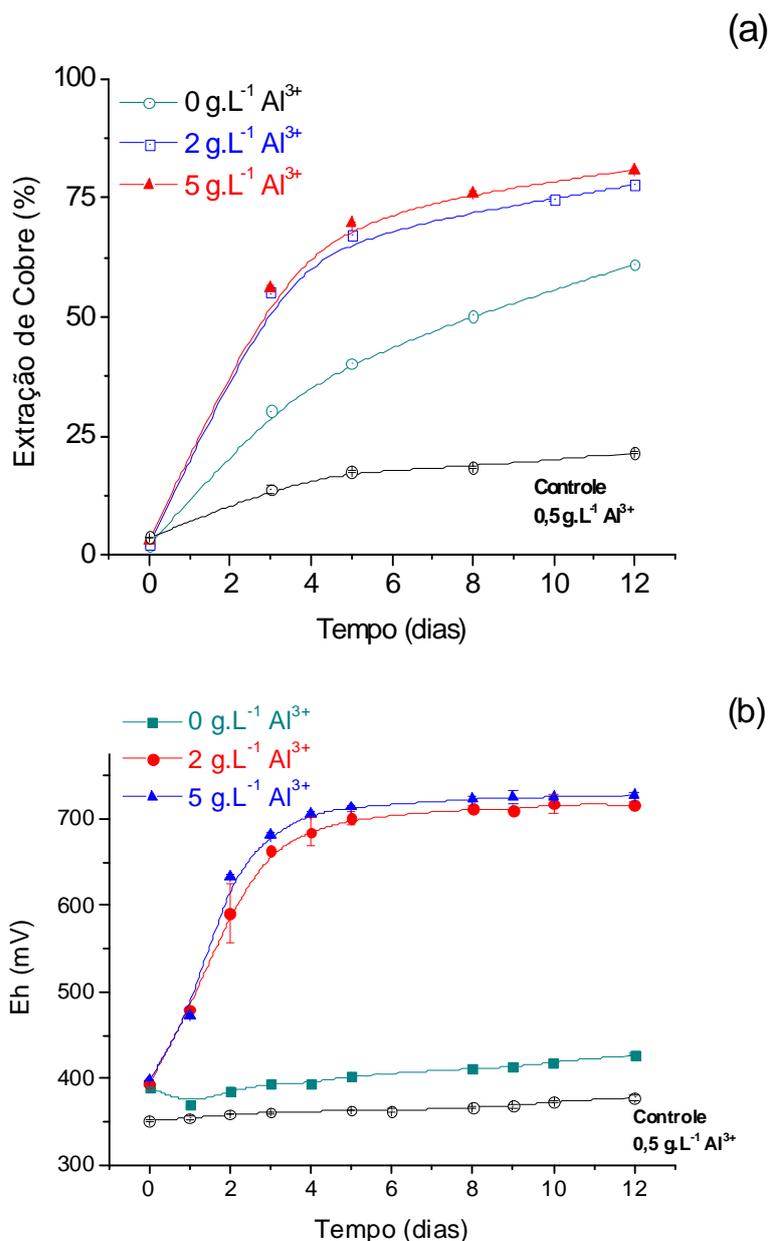


Figura 4.5: Efeito da presença de alumínio sobre a extração de cobre (a) e o potencial de oxidação (b) nos ensaios com minério de baixo teor de cobre. Condições experimentais: 2 g.L^{-1} Fe^{2+} , 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, 10% (v/v) de inóculo, $-75\mu\text{m}+53\mu\text{m}$, pH inicial 1,8, 150 min^{-1} , 35°C e timol (bactericida no ensaio controle).

Como a taxa de produção de Fe^{3+} é menor na presença de flúor e na ausência de alumínio, devido à diminuição da taxa de oxidação de Fe^{2+} pelos micro-organismos, todo o Fe^{3+} produzido é imediatamente reduzido a Fe^{2+} pela reação de oxidação dos sulfetos de cobre.

Isso explica porque o potencial de oxidação do ensaio com 0 g.L^{-1} de Al^{3+} alcançou valores abaixo de 400 mV (Figura 4.5(b)), enquanto os experimentos realizados na presença de alumínio alcançaram valores de até 700 mV. Logo, nas condições do presente trabalho, a adição de flúor ao meio de crescimento é favorável para o processo de biolixiviação.

4.2 Comparação das diferentes técnicas de biolixiviação em sistemas agitados

Nesta segunda etapa, foi realizada uma comparação dos resultados obtidos em experimentos em sistemas agitados (frascos Erlenmeyer, garrafa e tanque (biorreator)) no programa de ensaios metalúrgicos visando a determinação do potencial da biolixiviação em pilha de sulfetos secundários de cobre.

4.2.1 Cinética de liberação do flúor e alumínio

Foram realizados ensaios com as duas amostras de minérios de cobre, (ambas portadoras de flúor), cuja composição química é mostrado na tabela 3.1, nos diferentes tipos de reatores (Erlenmeyer, garrafa e biorreator). A Figura 4.6 mostra a evolução das concentrações de flúor e alumínio bem como do Eh com o tempo, onde podem-se observar concentrações finais de alumínio/fluoreto total em solução da ordem de $242,8 \text{ mg.L}^{-1}/312,8 \text{ mg.L}^{-1}$ e $261,3 \text{ mg.L}^{-1}/255,5 \text{ mg.L}^{-1}$ nos ensaios em Erlenmeyer; $390, \text{ mg.L}^{-1}/770,6 \text{ mg.L}^{-1}$ e $538,1 \text{ mg.L}^{-1}/391,3 \text{ mg.L}^{-1}$, em garrafa, respectivamente. Além disso, $612,40 \text{ mg.L}^{-1} /752,5 \text{ mg.L}^{-1}$ e $529,8 \text{ mg.L}^{-1}/390,7 \text{ mg.L}^{-1}$ F foram detectados no ensaio em biorreator, para os minérios de alto e baixo teor, respectivamente.

Analisando os valores de Eh nos ensaios com o minério de alto teor (Figura 4.6(a)), nota-se que o mesmo não ultrapassou o valor de 450 mV nos três diferentes tipos de reatores, num período de 20 dias de ensaio. No ensaio em Erlenmeyer, realizado com o minério de baixo teor de cobre (Figura 4.6(b)), o potencial de oxidação também não ultrapassou 400 mV. Já nos ensaios em garrafa e biorreator, o Eh atingiu 600 mV por volta do 13º e 18º dia, respectivamente (Figuras 4.6(d) e (f)) para essa amostra de minério. Valores elevados de Eh

são indicadores de atividade microbiana e tais resultados mostram que o tipo de sistema onde ocorre a biolixiviação tem influência nos resultados obtidos.

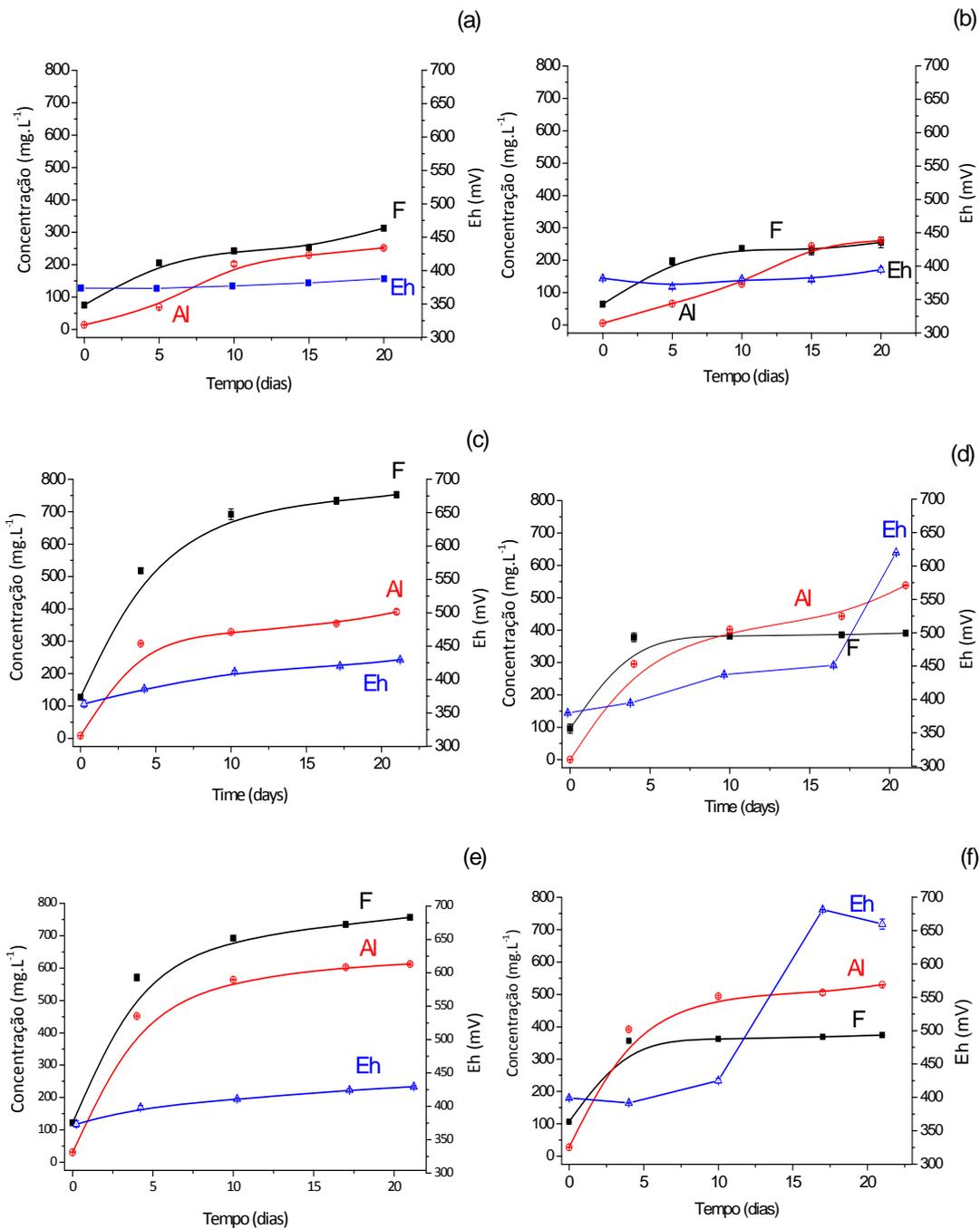


Figura 4.6: Evolução da concentração do fluoreto livre em solução, de Al³⁺ e do potencial eletroquímico com o tempo, nos experimentos realizados com as amostras de alto teor (a, c, e) e baixo teor de cobre (b, d, f), em Erlenmeyer (a e b), garrafa (c e d) e biorreator (e e f). Condições experimentais: 2 g.L⁻¹ Fe²⁺, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1.8 e 35°C.

A presença do flúor na solução lixiviante reduz a oxidação do íon Fe²⁺ pelos micro-organismos (VELOSO *et al.*, 2012). Com isso, a velocidade de formação dos íons de Fe³⁺ é menor e se reflete

diretamente no Eh do sistema (BRIERLEY e KUHN, 2010), uma vez que menores quantidades de Fe^{3+} são rapidamente consumidas pela reação de oxidação dos sulfetos. Este comportamento justifica os valores de Eh obtidos em Erlenmeyer e com minério de alto teor (figura 4.6(a)-(c) e 4.6(e)). Por outro lado, o aumento do potencial de oxidação nos ensaios com a amostra de minério de baixo teor (Figuras 4.6(d) e (f)) pode ser explicado pelas concentrações de flúor e alumínio nos três diferentes tipos de ensaios, ao longo do tempo.

Nos ensaios em Erlenmeyer, foi verificado que para as duas amostras de minério (alto e baixo teor), a concentração do íon fluoreto foi superior à do alumínio e por isso a relação Al/F não ultrapassou em momento nenhum o valor de 2 (Figuras 4.6(a) e 4.6(b)), sugerida por Brierley e Kuhn (2010) e Sicupira *et al.* (2011), como necessária para permitir o crescimento microbiano e a biolixiviação. Por isso os valores de Eh para esta amostra situam-se abaixo de 400 mV e sugerem dificuldade da bactéria crescer nesse reator. Da mesma forma, nos ensaios em garrafa (Figura 4.6(c)) e no biorreator (Figura 4.6(e)), para a amostra do minério de alto teor, a concentração do íon fluoreto foi maior do que a do alumínio, durante os 20 dias de ensaio. Por outro lado, nos ensaios em garrafa com minério de baixo teor (Figura 4.6(d)), após o 10º dia, a relação Al/F começou a aumentar e alcançou valores próximos a 1,4 ao final do experimento. Essa relação também foi obtida no biorreator, após o 5º dia de ensaio (Figura 4.6(f)). Esta relação Al/F obtida para o minério de baixo teor de cobre, em garrafa e no biorreator favoreceu a oxidação do Fe^{2+} , como descrito por Sicupira *et al.* (2011) para ensaios com micro-organismos termófilos moderados.

Posteriormente, foram realizados ensaios para avaliar o efeito da razão de Al/F sobre a oxidação do Fe^{2+} , tendo como base os valores de concentração do íon fluoreto analisado em solução obtidos em Erlenmeyers com os dois tipos de minérios. Os resultados foram apresentados na figura 4.7.

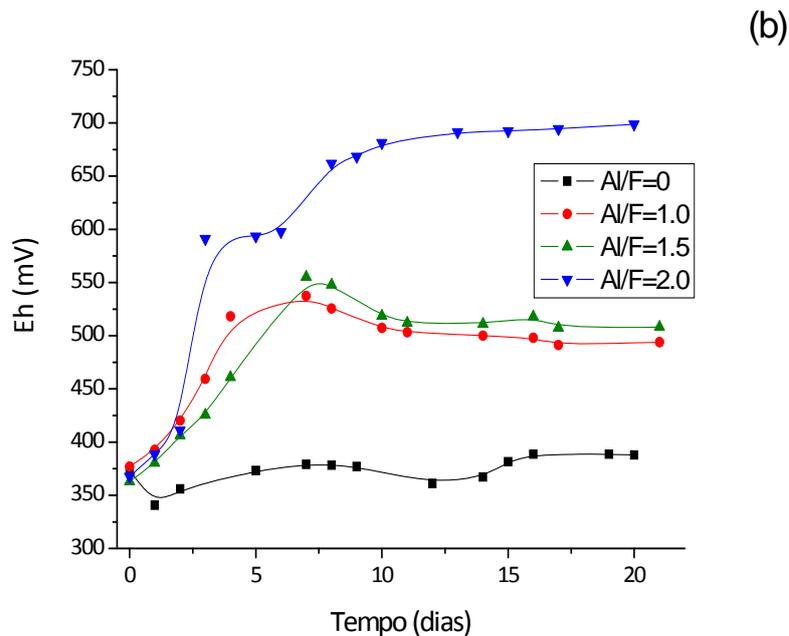
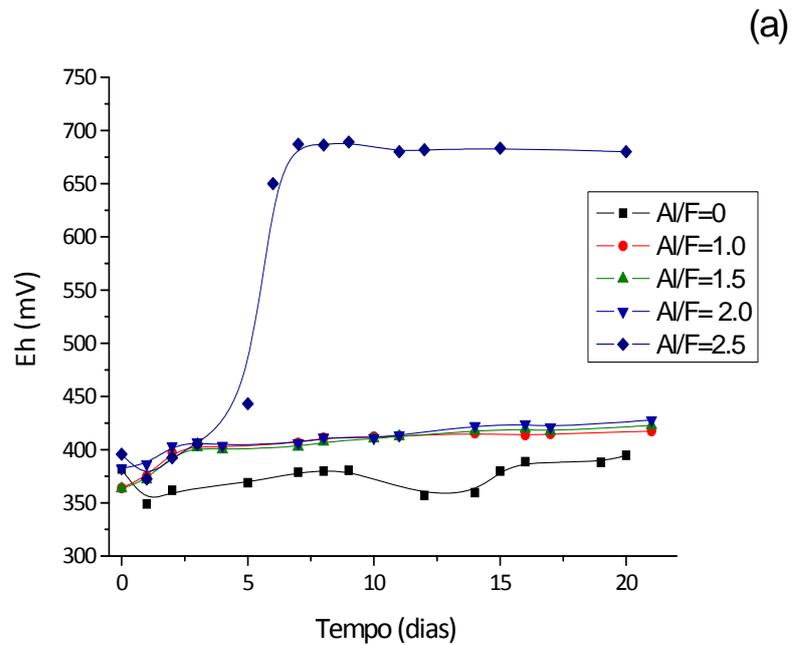


Figura 4.7: Evolução do Eh nos ensaios em Erlenmeyer com o minério de alto teor (a) e o minério de baixo teor de cobre (b) com o tempo, em função da razão mássica alumínio/flúor. Condições experimentais: $2 \text{ g.L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1.8, 150 min^{-1} e 35°C .

Como mostrado na Figura 4.7, a razão Al/F variou de 0 a 2,5 para o minério de alto teor e de 0 a 2 para o minério de baixo teor de cobre. Observou-se que uma relação Al/F inicial igual a 2,5 e 2,0 (em massa) para o minério de alto teor e baixo teor, respectivamente, reduziram o

efeito inibidor do fluoreto na elevação do Eh, confirmando assim o benefício da formação do complexo alumínio - flúor na biolixiviação, como também mostrado por Brierley e Kuhn (2010) e Sicupira *et al.* (2011). A partir desses resultados, novos experimentos de biolixiviação com as duas amostras de minério foram realizados utilizando a relação Al/F em massa de 2,5 inicial (minério alto teor) e 2 (minério baixo teor), nos ensaios em Erlenmeyer, garrafa e biorreator.

4.2.2 *Ensaio de biolixiviação dos minérios nos três tipos de reatores*

Com as condições de biolixiviação otimizadas, foram realizados ensaios para comparar os três reatores em relação à extração de cobre com as duas amostras de minério (alto e baixo teor). O Eh apresentou um valor ótimo para a atividade bacteriana (PENG *et al.*, 2013; SANTOS, 2006) e também, foi obtido um aumento desta variável de acordo com as Figuras 4.8(a) e 4.8(b), indicando a adaptação da bactéria ao meio com flúor, ou seja, a reversão do efeito inibidor do ânion.

Os valores de extração de cobre encontrados nos experimentos são apresentados na Figura 4.9. Pode-se verificar que para os ensaios com o minério de alto teor, foram obtidas extrações bem próximas entre si e acima de 90% (Figura 4.9(a)). Para os ensaios com minério de baixo teor, existiu uma maior diferença entre os resultados e a maior extração foi obtida para os ensaios em garrafa, chegando a 97% e, além disso, a cinética de dissolução foi mais rápida (Figura 4.9(b)).

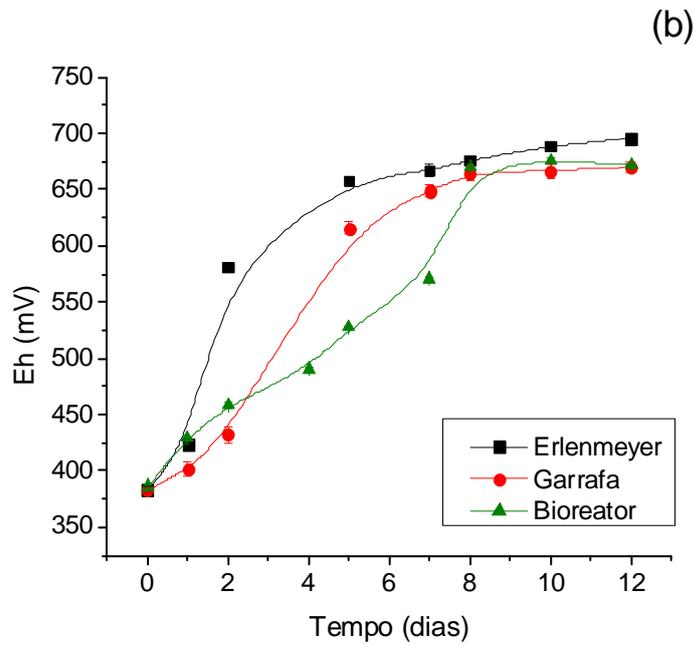
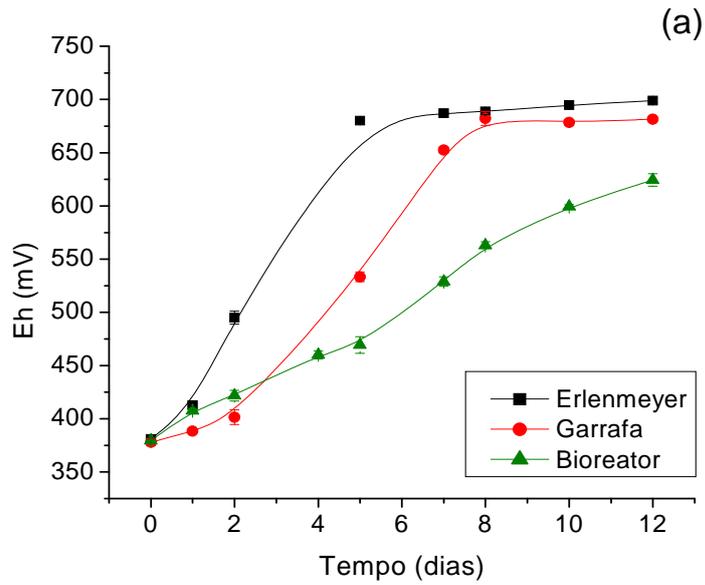


Figura 4.8: Evolução do Eh com o tempo, nos experimentos realizados com minério de alto teor (a) e com de baixo teor de cobre (b). Condições experimentais: $2 \text{ g.L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris alterado com $2 \text{ g.L}^{-1} \text{ Al}^{3+}$, volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1.8 e 35°C .

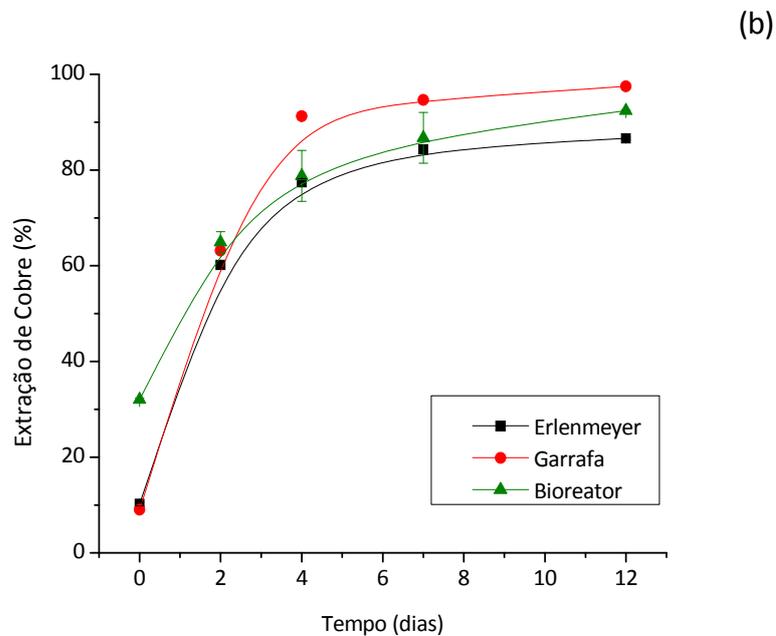
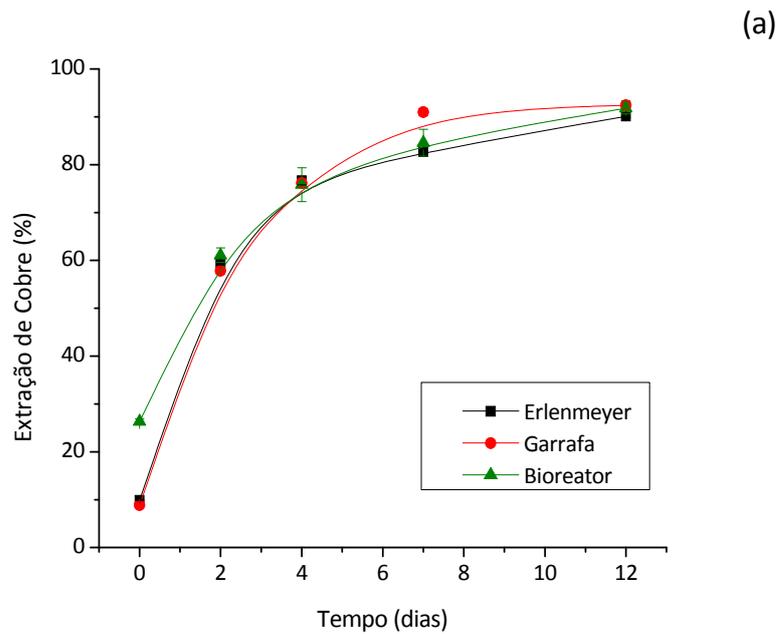


Figura 4.9: Evolução do percentual de extração de cobre com o tempo, nos experimentos realizados com o minério de alto teor (a) e baixo teor de cobre (b). Condições experimentais: $2 \text{ g.L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris alterado com $2 \text{ g.L}^{-1} \text{ Al}^{3+}$, volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1.8 e 35°C .

A extração em garrafa de acordo com Robertson e Van Staden (2009) e Van Standen *et al.* (2009) é favorecida pela existência de uma maior área de contato entre a solução e a atmosfera (Figura 3.1). Essa diferença na área de contato foi confirmada no presente trabalho

pelos resultados obtidos em relação à concentração bacteriana e a variação da concentração do oxigênio dissolvido nos ensaios com as amostras de minério de alto e baixo teor de cobre, como apresentado na Figura 4.10. Pode-se observar para as duas amostras de minério que os valores mais elevados da concentração bacteriana e de oxigênio dissolvido foram obtidos nos ensaios em garrafa, quando comparado aos outros 2 reatores utilizados. Na garrafa, a partir do 2º dia de ensaio, a concentração de oxigênio dissolvido (Figura 4.10(b) e 4.10(d)) situava-se em torno de 6 mg.L^{-1} e era sempre muito superior à observada nos outros dois tipos de reatores, particularmente na primeira semana de ensaio.

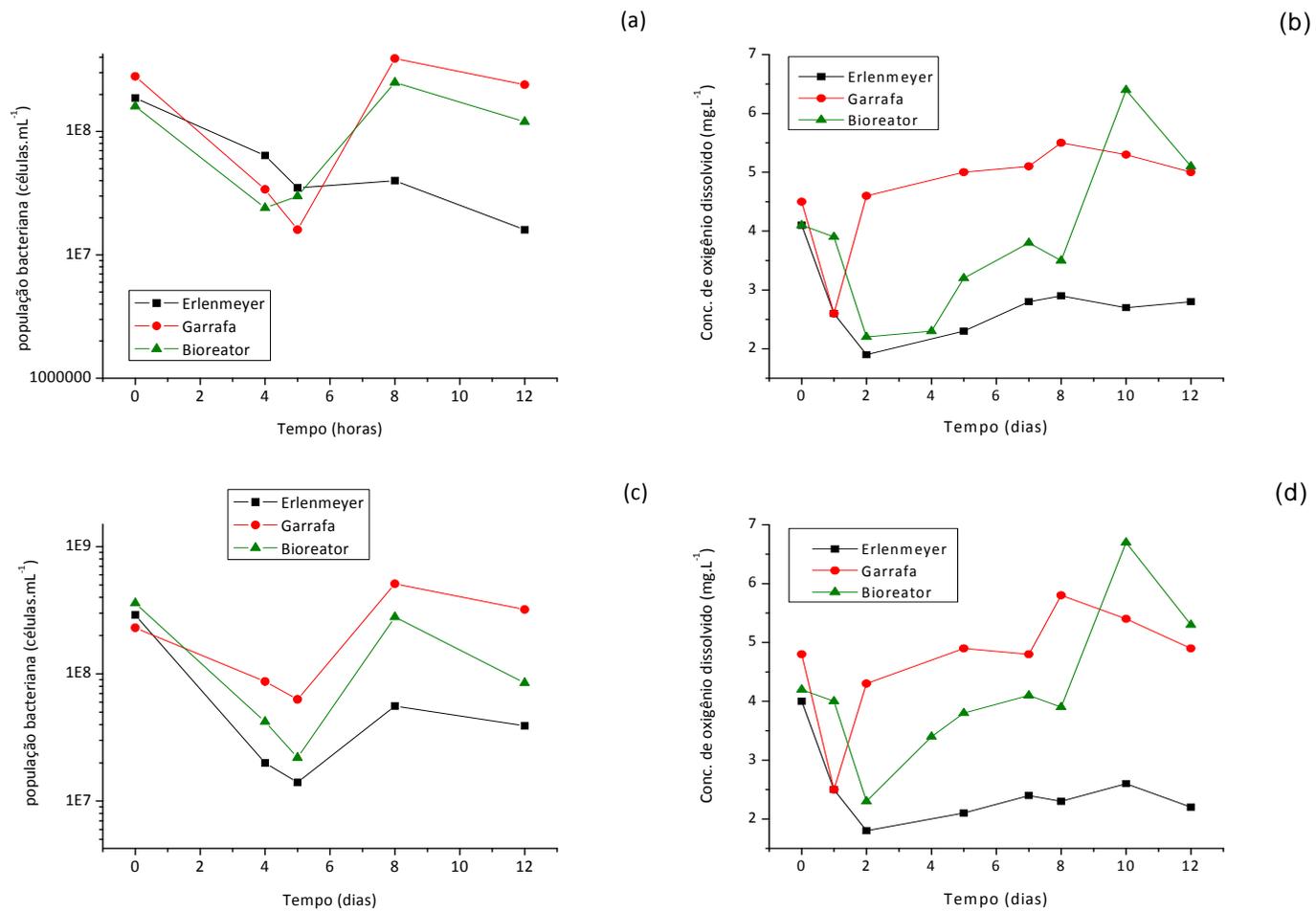


Figura 4.10: Evolução da concentração bacteriana e de oxigênio dissolvido com o tempo, nos experimentos realizados com minério de alto teor (a e b) e baixo teor de cobre (c e d). Condições experimentais: 2 g.L⁻¹ Fe²⁺, 5% sólidos (p/v), meio de cultura Norris, volume de inóculo de 10% (v/v), pH 1.8 e 35°C.

5 CONCLUSÕES

O estudo da biolixiviação de sulfetos secundários de cobre utilizando micro-organismos mesófilos é fundamental para o entendimento de processos de biolixiviação em pilhas, dado que esses micro-organismos são predominantes nas condições de temperatura do processo.

A biolixiviação dos sulfetos secundários estudados foi impactada pela liberação de íons fluoreto durante o processo, o qual atingiu valores próximos a 250 mg.L^{-1} . Quando não houve a adição de alumínio ao sistema, a oxidação do íon Fe^{2+} tornou-se lenta, não houve elevação do Eh (que permaneceu abaixo de 400 mV) e a extração máxima de cobre foi de 60% com o minério de baixo teor de cobre. Para contornar o efeito deletério da presença de flúor foi necessário adicionar sais de alumínio ao sistema de forma a se ter relações mássicas Al/F iguais a 2,0. Assim, foi possível atingir valores de potencial de oxidação da ordem de 700 mV e 75% de extração de cobre, em 12 dias de ensaio em frascos agitados. Tal extração foi obtida em pH 1,8, sendo que valores ligeiramente menores foram obtidos para valores de pH abaixo ou acima desse valor, nos ensaios bióticos. A elevada extração de cobre em pH elevado permite inferir em um menor consumo de ácido nos sistemas industriais.

Foi também realizada a comparação entre três diferentes reatores de biolixiviação em sistemas agitados, isto é, (i) frascos Erlenmeyer que são testes de baixo custo e são amplamente utilizados na investigação acadêmica e (ii) garrafa e biorreator que permite trabalhar com massas mais elevadas de minério. O desempenho da biolixiviação dependeu do sistema agitado selecionado. As menores concentrações de fluoreto e alumínio em solução foram observadas nos experimentos em Erlenmeyer. Além disso, a amostra com menor teor de flúor apresentou padrão de lixiviação diferente em cada reator. Para esta amostra, nos experimentos com garrafas e biorreator, foram obtidas maiores concentrações de alumínio em solução do que de flúor, o que permitiu o crescimento bacteriano e, portanto, a biolixiviação sem necessidade de fonte externa de alumínio. Os ensaios em garrafa apresentaram uma cinética de lixiviação mais rápida devido à maior interface com a atmosfera e, assim, maiores concentrações de oxigênio dissolvido e valores de população bacteriana.

Dessa forma, recomenda-se a realização de experimentos em garrafa quando da determinação do potencial de biolixiviação de determinado minério.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A realização da sequência do programa completo de ensaios de lixiviação envolvendo colunas de 6m e pilha piloto, para a determinação dos parâmetros ótimos do processo da biolixiviação de sulfetos secundários de cobre.

A influência da variação do tamanho de partícula na extração do metal de interesse pode ser estudada nos ensaios utilizando garrafa.

O consumo de ácido pode ser estudado visando à comparação dos experimentos de biolixiviação em sistemas agitados e em colunas, visando à diminuição dos custos operacionais de uma planta de biolixiviação de cobre.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHORANTA, S.H., PELTOLA, M.K., LAKANIEMI, A.M., PUHAKKA, J.A., 2017. Enhancing the activity of iron-oxidising bacteria: A case study with process liquors from heap bioleaching of a complex sulphide ore. *Hydrometallurgy*, 167, 163-172.

AZEVEDO, R. D. A. Caracterização da Diversidade Microbiana em Biorreatores de Biolixiviação de Zinco. (Trabalho de conclusão). 2008. 42f. Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2008.

BRIERLEY, C.L., 2010. Biohydrometallurgical prospects. *Hydrometallurgy*, 104, 324-328.

BRIERLEY, J.A. e BRIERLEY, C.L., 2001. Present and future commercial applications of biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy*, 59, 233-239.

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

BRIERLEY, J. A.; KUHN, M. C., 2010. Fluoride toxicity in a chalcocite bioleach heap process. *Hydrometallurgy*, 104, 410-413.

CARNEIRO, M. F. C. Lixiviação da Calcopirita com Soluções de Íons Ferrico e Íons Cloreto. 2005. 141f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mineral). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mineral, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2005.

CARNEIRO, M. F. C. e LEÃO, V. A., 2007. The role of sodium chloride on surface properties of chalcopyrite leached with ferric sulphate. *Hydrometallurgy*, 87, 3-4, 73-82.

CIMINELLI, V. S. T. Hidrometalurgia. In: F. R. C. FERNANDES, G. M. M. MATOS, Z. C. CASTILHOS e A. B. LUZ (Ed.). *Tendências Tecnológicas Brasil 2015*. Rio de Janeiro: CETEM, 2005. Hidrometalurgia, p.157-174

CRUNDWELL, F.K., 2003. How do bacteria interact with minerals? *Hydrometallurgy*, 71, 75-81.

DE, G.C., OLIVER, D.J., PESIC, B.M., 1997. Effect of heavy metals on the ferrous iron oxidizing ability of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*, 44, 53-63.

DEVECI, H.; AKEIL, A. E ALP, I., 2004. Bioleaching of complex zinc sulphides using mesophilic and thermophilic bacteria: comparative importance of pH and iron. *Hydrometallurgy*, 73, 293-303.

DIMITRIJEVIC, M., KOSTOV, A., TASIC, V., MILOSEVIC, N., 2009. Influence of pyrometallurgical copper production on the environment. *Journal of Hazardous Materials*, 164, 892-899.

DOMIC, E.M., 2001. Hidrometalurgia: fundamentos, procesos y aplicaciones, 1 ed. Andros impresores Ltda, Santiago.

DONG, Y., LIN, H., XU, X., ZHOU, S., 2013. Bioleaching of different copper sulfides by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and its adsorption on minerals. *Hydrometallurgy*, 140, 42-47.

DOPSON, M.; LÖVGREN, L. E BOSTRÖM, D., 2009. Silicate mineral dissolution in the presence of acidophilic microorganisms: Implications for heap bioleaching. *Hydrometallurgy*, 96, 4, 288-293.

GORBANI, Y., FRANZIDIS, J., PETERSEN, J., 2016. Heap Leaching Technology—Current State, Innovations, and Future Directions: A Review, *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, 37:2, 73-119.

JANSEN, M., TAYLOR, A., 2003. Overview of gangue mineralogy issues in oxide copper heap leaching, in: copper-8, A. (Ed.), *Technical Proceedings - Global technical interchange, Rendezvous Observation City Hotel Perth, Western Australia 22-23 2003*, p. 18.

JENSEN, A.B., WEBB, C., 1995. Ferrous sulphate oxidation using *Thiobacillus ferrooxidans*: a review. *Process Biochemistry*, 30, 225-236.

KONDRATYEVA, T.F., PIVOVAROVA, T.A., MUNTJAN, L.N., KARAVAIKO, G.I., 1999. Strain diversity of *Thiobacillus ferrooxidans* and its significance in biohydrometallurgy, in: Ballester, R.A.a.A. (Ed.), *Process Metallurgy*. Elsevier, pp. 89-96.

LI, H. M. e KE, J. J., 2001. Influence of Ni^{2+} and Mg^{2+} on the growth and activity of Cu^{2+} -adapted *Thiobacillus ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*, 61, 3, 151-156.

LI, Q.; DING, D.; SUN, J.; WANG, Q.; HU, E.; SHI, W.; MA, L.; GUO, X.; LIU, X., 2014. Community dynamics and function variation of a defined mixed bioleaching acidophilic bacterial consortium in the presence of fluoride. *Annals of Microbiology*. p.1-8,

MALEY, M., VAN BRONSWIJK, W., WATLING, H.R., 2009. Leaching of a low-grade, copper-nickel sulfide ore. 3. Interactions of Cu with selected sulfide minerals. *Hydrometallurgy*, 98, 73-80.

MCCLELLAND, G. E., 1988. Testing of Ore: Introduction to evaluation, design and operation of precious metal heap leaching projects. C.4, 61-67.

MOUSAVI, S.M., YAGHMAEI, S., VOSSOUGH, M., JAFARI, A., HOSEINI, S.A., 2005. Comparison of bioleaching ability of two native mesophilic and thermophilic bacteria on copper recovery from chalcopyrite concentrate in an airlift bioreactor. *Hydrometallurgy*, 80, 139-144.

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

OJUMU, T. V.; PETERSEN, J. e HANSFORD, G. S., 2008. The effect of dissolved cations on microbial ferrous-iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in continuous culture. *Hydrometallurgy*, 94, 1, 69-76.

OLSON, G.J., BRIERLEY, J.A., BRIERLEY, C.L., 2003. Bioleaching review part B. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63, 249-257.

PARK, J., HAN, Y., LEE, E., CHOI, U., YOO, K., SONG, Y., KIM, H., 2014. Bioleaching of highly concentrated arsenic mine tailings by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Separation and Purification Technology* 133, 291-296.

PENG, Z.-J.; YU, R.-L.; QIU, G.-Z.; QIN, W.-Q.; GU, G.-H.; WANG, Q.-L.; LI, Q.; LIU, X.-D., 2013. Really active form of fluorine toxicity affecting *Acidithiobacillus ferrooxidans* activity in bioleaching uranium. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. 23, 812-817.

PINA, P. Estudo da biolixiviação e da lixiviação química de um concentrado sulfetado de zinco. 2006. 93f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Rede Temática em Engenharia de Materiais-REDEMAT. UFOP-CETEC-UEMG, Ouro Preto, 2006.

PINA, P. S.; LEÃO, V. A.; SILVA, C. A.; DAMAN, D. E FRENAY, J., 2005. The effect of ferrous and ferric iron on sphalerite bioleaching with *Acidithiobacillus sp.* *Minerals Engineering*, 18, 5, 549-551.

POULIN, R., LAWRENCE, R.W., 1996. Economic and environmental niches of biohydrometallurgy. *Minerals Engineering*, 9, 799-810.

QIU, M.; WANG, G.; ZHANG, W. E XIONG, S., 2006. Optimizing conditions for bacterial leaching of copper from discarded mines. *Journal of University of Science and Technology Beijing, Mineral, Metallurgy, Material*, 13, 2, 108-111.

ROBERTSON, S.W. e VAN STADEN, P.J. The progression of metallurgical testwork during heap leach design. *Hydrometallurgy Conference 2009, The Southern African Institute of Mining and Metallurgy*, 2009.

RODRIGUES, M. L. M., Biolixiviação aplicada a fontes primárias e secundárias de cobre. 2015. 127f. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais) - Rede Temática em Engenharia de Materiais-REDEMAT. UFOP-CETEC-UEMG, Ouro Preto, 2015.

RODRIGUES, M. L. M., LOPES, K. C., LEÔNIO, H. C., SILVA, L. A., LEÃO, V. A, 2016. Bioleaching of fluoride-bearing secondary copper sulphides: Column experiments with *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Chemical Engineering Journal*, 284, 1279-1286.

ROHWERDER, T., GEHRKE, T., KINZLER, K., SAND, W., 2003. Bioleaching review part A. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63, 239-248.

SANTOS, L. R. G.; BARBOSA, A. F.; SOUZA, A. D. E LEÃO, V. A., 2008. Oxidação de sulfetos de níquel com microorganismos mesófilos. *Rem: Revista Escola de Minas*, 61, 39-46.

SANTOS, L. Biolixiviação de um concentrado sulfetado complexo de níquel e de ferro e caracterização dos produtos de oxidação. 2006. 99f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Rede Temática em Engenharia de Materiais-REDEMAT. UFOP-CETEC-UEMG, Ouro Preto, 2006.

SICUPIRA, L. C. Biolixiviação de Sulfetos Secundários de Cobre por *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. 2011. 100f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Rede temática em Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

SICUPIRA, L.; VELOSO, T.; REIS, F. E LEÃO, V., 2011. Assessing metal recovery from low-grade copper ores containing fluoride. *Hydrometallurgy*, 109, 3-4, 202-210.

WANG, J., QIN, W.-Q., ZHANG, Y.-S., YANG, C.-R., ZHANG, J.-W., NAI, S.-S., SHANG, H., QIU, G.-Z., 2008. Bacterial leaching of chalcopyrite and bornite with native bioleaching microorganism. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 18, 1468-1472.

WATLING, H.R., 2006. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides - A review. *Hydrometallurgy*, 84, 81-108.

WATLING, H.R., ELLIOT, A.D., MALEY, M., VAN BRONSWIJK, W., HUNTER, C., 2009. Leaching of a low-grade, copper-nickel sulfide ore. 1. Key parameters impacting on Cu recovery during column bioleaching. *Hydrometallurgy*, 97, 204-212.

WITNE, J.Y. e PHILLIPS, C.V., 2001. Bioleaching of Ok Tedi copper concentrate in oxygen- and carbon dioxide-enriched air. *Minerals Engineering*, 14, 25-48.

YANG, C., QIN, W., LAI, S., WANG, J., ZHANG, Y., JIAO, F., REN, L., ZHUANG, T., CHANG, Z., 2011. Bioleaching of a low grade nickel-copper-cobalt sulfide ore. *Hydrometallurgy*, 106, 32-37.

VAN STADEN, P.J., ROBERTSON, S.W., GERICKE, M., NEALE, J.W. AND SEYEDBAGHERI, A.. Maximising the value derived from laboratory testwork towards heap leaching design. *Base Metals Conference 2009, The Southern African Institute of Mining and Metallurgy*, 2009.

VELOSO, T. C. Biolixiviação de sulfetos secundários de cobre a partir da utilização de micro-organismos termófilos extremos. 2011. 105f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Rede temática em Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

VELOSO, T. C.; SICUPIRA, L. C.; RODRIGUES, I. C. B.; SILVA, L. A. M. E LEÃO, V. A., 2012. The effects of fluoride and aluminum ions on ferrous-iron oxidation and copper sulfide bioleaching with *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. *Biochemical Engineering Journal*, 62, 48-55.

ZHAO, X., WANG, R., LU, X., LU, J., LI, C., LI, J., 2013. Bioleaching of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Minerals Engineering*, 53, 184-192.