

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Escola de Engenharia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais –
PPGE-3M

**OXIDAÇÃO DA PIRITA POR VIA BACTERIANA EM REJEITOS
DE CARVÃO PARA A PRODUÇÃO DE SULFATO FÉRRICO**

Angéli Viviani Colling

Dissertação para obtenção do título de Mestre em Engenharia

Porto Alegre

2010

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Escola de Engenharia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais –
PPGE-3M

OXIDAÇÃO DA PIRITA POR VIA BACTERIANA EM REJEITOS
DE CARVÃO PARA A PRODUÇÃO DE SULFATO FÉRRICO

Angéli Viviani Colling

Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia

Trabalho realizado no Laboratório de Estudos Ambientais para a Metalurgia (LEAMET) do Departamento de Engenharia Metalúrgica (DEMET) e do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais (PPGE-3M), como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia.

Área de concentração: Tecnologia Mineral, Ambiental e Metalurgia Extrativa

Porto Alegre

2010

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de Mestre em Engenharia, área de concentração em Tecnologia Mineral, Ambiental e Metalurgia Extrativa e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora do Curso de Pós-Graduação.

Orientador: Prof. Dr. Ivo André Homrich Schneider

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Elvis Carissimi (ULBRA)

Prof. Dra. Gelsa Edith Navarro Hidalgo (UFRGS)

Prof. Dra. Katia de Quadros Wilberg (ULBRA)

Prof. Dr. Carlos Pérez Bergmann
Coordenador do PPGEM

*Com carinho para a minha mãe, Iris Maria Colling,
aquela que me deu vida mais de uma vez.*

AGRADECIMENTOS

Espero que este texto de agradecimento transmita da forma mais próxima possível o meu sentimento de gratidão àqueles que contribuíram para a realização deste trabalho. Diferentes foram as formas de apoio: orientação, suporte técnico, palavras amigas, paciência, incentivos financeiro ou emocional.

Além da minha família, algumas pessoas estiveram envolvidas diretamente neste percurso, sou grata ao meu orientador Ivo André Homrich Schneider por acreditar no meu trabalho, pela dedicação e paciência. Agradeço à professora Rejane M. C. Tubino pela amizade e sinto-me grata pelas longas e proveitosas conversas sobre futuro profissional e o apoio em meus momentos de “somatização emocional”. Todos os meus colegas do LEAMET-UFRGS foram grandes amigos e me receberam de braços abertos, em especial Ana Paula P. Freitas, Cláudia R. Alves, Eunice M. Vigânico, Jean C. S. S. Menezes, Juarez R. A. Filho, Pedro Buzin e Rodrigo A. Silva. Aos meus bolsistas de iniciação científica Priscila S. Silveira e Bárbara M. T. Serafin pela ajuda na parte experimental deste trabalho. Agradeço ao pessoal do LAPROM-UFRGS: Adam S. Lee, Gelsa E. N. Hidalgo, Gerson Miltzarek e Karime Ferreira pela disponibilidade em ajudar. Aos meus amigos Elvis Carissimi e Jorge Rubio ambos de fundamental importância na minha formação de iniciação científica e demais colegas de mestrado: Felipe P. da Silva, Everton Pedroza, Leonardo Geremia, Meise P. de Paiva, Miguel Fensterseifer, Renato D. R. da Silva e Rodrigo C. da Costa. À UFRGS pela estrutura e servidores, meu carinho principalmente ao pessoal do PPGE-3M, Alda, Alexandre, Beatriz e Janaína. À CAPES pela bolsa de pesquisa, ao CNPq e à rede de pesquisa do carvão mineral pelo apoio financeiro.

Enfim, agradeço a todos aqueles que de alguma forma apoiaram e acreditaram no desenvolvimento deste trabalho.

“A diferença entre o possível e o impossível está na vontade humana”.

Louis Pasteur

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	09
LISTA DE TABELAS.....	12
LISTA DE SÍMBOLOS.....	14
RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	17
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 OBJETIVO.....	20
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1 Carvão Mineral e Meio Ambiente.....	21
3.1.1 Reações da Oxidação da Pirita	24
3.1.2 Métodos de Contenção da DAM.....	27
3.2 Biohidrometalurgia.....	30
3.2.1 Histórico da Lixiviação e da Biolixiviação.....	30
3.2.2 Microbiologia do Processo.....	33
3.2.3 <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	37
3.2.4 Mecanismo de Contato e de Não Contato.....	38
3.2.5 Crescimento Bacteriano.....	40
3.2.6 Reatores.....	43

3.4 Sistemas Coloidais e sua Desestabilização.....	45
3.4.1 Ensaio de Coagulação.....	48
3.4.2 Coagulantes Comerciais.....	49
4 EXPERIMENTAL.....	52
4.1 Materiais.....	52
4.1.1. Rejeito de Carvão.....	52
4.1.2 Água de Recirculação.....	52
4.1.3 Drenagem Ácida de Minas, Inóculo de Bactérias.....	53
4.1.4 Micronutrientes.....	54
4.1.5 Água do Guaíba e Efluente Sintético.....	54
4.1.6 Reagentes Analíticos e Comerciais.....	54
4.2 Equipamentos.....	55
4.3 Análises.....	59
4.3.1 Caracterização do Rejeito de Carvão.....	59
4.3.2 Monitoramento do Processo de Lixiviação.....	60
4.3.3 Diversidade de Bactérias Acidófilas e Quantificação de <i>A. ferrooxidans</i>	61
4.3.4 Ensaio de Coagulação.....	62
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
5.1 Caracterização do Rejeito de Carvão.....	64
5.2 Ensaio de Biolixiviação.....	67

5.2.1 Primeiro Ciclo.....	67
5.2.2 Segundo Ciclo.....	70
5.2.3 Ensaio Microbiológicos.....	73
5.3 Características dos Extratos.....	77
5.4 Produção do Coagulante.....	81
5.5 Ensaio de Coagulação.....	82
5.6 Considerações Finais.....	86
6 CONCLUSÕES.....	89
7 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS.....	90
8 PRODUÇÃO CIENTÍFICA ASSOCIADA AO TRABALHO.....	91
9 REFERÊNCIAS.....	92

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Mapa da região carbonífera de Criciúma. Fonte: Gomes, 2004.....	22
Figura 02. Rejeitos de carvão e DAM gerada em Siderópolis/SC. Fonte: Monteiro, 2004.....	23
Figura 03. Vista aérea de uma instalação de beneficiamento de carvão e áreas adjacentes na região carbonífera de Criciúma. Fonte: CETEM, 2001.....	23
Figura 04. Estrutura cristalina e imagem da pirita. Fonte: Adaptado: Sand <i>et al.</i> , 2001.....	24
Figura 05. Diagrama representando a principal via de oxidação da pirita e geração de sulfato férrico em baixo pH. Fonte: Adaptado Druschel, <i>et al.</i> , 2004.....	27
Figura 06. Diagrama esquemático do metabolismo microbiano de oxidação da pirita. Fonte: Adaptado Backer e Banfield, 2003.....	36
Figura 07. Crescimento de <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> em meio sólido.....	37
Figura 08. Mecanismo de contato na oxidação da pirita. Fonte: Adaptado Tributsch (2001).	38
Figura 09. Mecanismo de contato e não contato da oxidação da pirita. Fonte: Adaptado Tributsch (2001).....	39
Figura 10. Esquema simplificado de lixiviação em pilhas. Fonte: Garcia, 1989.....	44
Figura 11. Representação esquemática do modelo da dupla camada elétrica e dos planos de adsorção.....	46
Figura 12. Estação de tratamento de água de Porto Alegre.....	50
Figura 13. Reator escala laboratorial para ensaios de lixiviação.....	55
Figura 14. Fluxograma da produção do coagulante sulfato férrico a partir do rejeito de carvão.....	57
Figura 15. Reatores empregados nos ensaios de lixiviação.....	59

Figura 16. Análise de difração de raio-x do rejeito de carvão.....	65
Figura 17. Imagem obtidas em MEV de um grão de rejeito de carvão antes dos ensaios de lixiviação. O comprimento da barra (escala) é equivalente a 1µm e a magnitude é de 10 000x.....	66
Figura 18. Análise química qualitativa para um grão de rejeito de carvão.....	66
Figura 19. Comportamento do pH na água de percolação em função do tempo no 1º ciclo.....	68
Figura 20. Comportamento do Eh (mV), na água de percolação em função do tempo no 1º ciclo.....	68
Figura 21. Concentração de ferro total [g.L ⁻¹], na água de percolação em função do tempo no primeiro ciclo de lixiviação.....	69
Figura 22. Concentração de sulfato, [g.L ⁻¹] na água de percolação em função do tempo no primeiro ciclo de lixiviação.....	69
Figura 23. Fotografia mostrando a coloração das lixívias ao final da terceira semana do primeiro ciclo nas colunas de biolixiviação.....	70
Figura 24. Comportamento do pH na água de percolação em função do tempo no 2º ciclo.....	71
Figura 25. Comportamento do Eh (mV) na água de percolação em função do tempo no 2º ciclo.....	71
Figura 26. Concentração de ferro total [g.L ⁻¹], na água de percolação em função do tempo no 2º ciclo.....	72
Figura 27. Concentração de sulfato [g.L ⁻¹], do lixiviado em função do tempo no 2º ciclo.....	73
Figura 28. NMP:100 mL de <i>A. ferrooxidans</i> em suspensão em função das semanas do experimento de lixiviação no primeiro ciclo de lixiviação.....	75
Figura 29. NMP:100 mL de <i>A. ferrooxidans</i> em suspensão em função das semanas do experimento de lixiviação no segundo ciclo de lixiviação.....	75

Figura 30. Tubos de diluição da análise de determinação de <i>A. ferrooxidans</i>	76
Figura 31. Imagens (a) e (b) obtidas em MEV de diferentes áreas de um grão de rejeito de carvão da coluna de lixiviação com inóculo e micronutrientes. O comprimento da barra (escala) é equivalente a 1µm e a magnitude é de 10 000x.....	77
Figura 32. Relação Molar Ferro/Sulfato do lixiviado ao final da 8ª semana no primeiro ciclo de lixiviação.....	80
Figura 33. Relação Molar Ferro/Sulfato do lixiviado ao final da 8ª semana no primeiro ciclo de lixiviação.....	80
Figura 34. Sulfato férrico obtido a partir dos ensaios de lixiviação. Em 38 (a) coagulante líquido e 38 (b) no estado sólido.....	83
Figura 35. Etapa de sedimentação no teste de jarros. O tempo de sedimentação de 39 (a) até 39 (f) é de 10 minutos.....	84
Figura 36. Concepção de um sistema para a produção de coagulante por lixiviação de materiais ricos em pirita. Fonte: Menezes (2009).....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Métodos de controle de DAM. Fonte: Adaptado de Kontopoulos, 1998).....	29
Tabela 02. Alguns importantes avanços na aplicação da biohidrometalurgia. Fonte: Adaptado Brierley, 2008.....	32
Tabela 03. Diversidade de micro-organismos de ambientes ácidos. Fonte: Johnson, 2008.....	35
Tabela 04. Tipos de reatores comumente empregados na biolixiviação.....	44
Tabela 05. Reações de hidrólise do alumínio e do ferro no processo de coagulação. Fonte: Adaptado Menezes, 2009.....	49
Tabela 06. Características da DAM utilizada para fazer o inóculo.....	53
Tabela 07. Equipamentos utilizados nas análises físicas, químicas e biológicas.....	56
Tabela 08. Análises realizadas no concentrado obtido a cada semana nos ensaios de lixiviação.....	60
Tabela 09. Teste da presença de bactérias acidofílicas na DAM.....	61
Tabela 10. Análises realizadas no coagulante	62
Tabela 11. Análises realizadas na água tratada do Lago Guaíba e no efluente sintético de bentonita 0,3 mg.L ⁻¹	63
Tabela 12. Análise do rejeito de carvão.....	64
Tabela 13. Tabela qualitativa de análise microbiológica utilizando meios seletivos.....	74
Tabela 14. Características do extrato obtido na oitava no 1º ciclo	78
Tabela 15. Características do extrato obtido na oitava semana no 2º ciclo	79
Tabela 16. Características do rejeito após o ensaio de lixiviação.....	81

Tabela 17. Composição química do sulfato férrico, coagulante produzido na lixiviação do rejeito de carvão nas condições: estéril, natural, inóculo, inóculo/micronutrientes e sulfato férrico comercial no primeiro ciclo.....	82
Tabela 18. Características da água bruta e água tratada com o coagulante da coluna inóculo e micronutrientes, 24mg.L ⁻¹ em pH 6,5.....	85
Tabela 19. Características da água bruta e água tratada com o coagulante da coluna inóculo e micronutrientes, 24mg.L ⁻¹ em pH 6,5.....	86
Tabela 20. Estimativa da produção e valor agregado esperados nas condições estéril, natural, inóculo e inóculo com micronutrientes.....	88

LISTA DE SÍMBOLOS

APHA	<i>American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater</i>
ATP	Adenosina Trifosfato
cm	Centímetro
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DAM	Drenagem Ácida de Minas
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DRX	Difração de Raios X
EDS	Espectroscopia por Dispersão de Energia
Eh	Potencial Redox
FATMA	Fundação do Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina
FeS ₂	Dissulfeto de Ferro
G	Gramma
ha	Hectare
kg	Quilograma
L	Litro
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
m	Metro
m/m	Massa/Massa
mg	Miligrama
mm	Milímetro
mL	Mililitro
μS	Microsiemens
mV	Milivolt
NMP	Número Mais Provável

p.a.	Para Análise
PEAD	Polietileno de alta densidade
pH	Potencial Hidrogeniônico
RNA	Ácido Ribonucléico
rpm	Rotações Por Minuto
t	Tonelada

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi produzir uma solução de sulfato férrico através de técnicas biohidrometalúrgicas utilizando um concentrado de pirita (50,6% FeS₂) obtido a partir do rejeito do beneficiamento de carvão. A metodologia consistiu em um estudo experimental de lixiviação do material em escala de laboratório empregando colunas de leito empacotado. Avaliaram-se as seguintes situações: (a) condições estéreis; (b) condições não estéreis; (c) condições não estéreis com inóculo bacteriano; (d) condições não estéreis com inóculo bacteriano e micronutrientes. A fonte de inóculo das bactérias foi uma DAM da mineração de carvão da região carbonífera de Santa Catarina. O lixiviado, produzido em cada coluna, foi analisado semanalmente em relação aos seguintes parâmetros: pH, Eh, ferro total, sulfatos e número mais provável de bactérias acidofílicas *Acidithiobacillus ferrooxidans* (NMP:100mL). Foi avaliada a presença de outras bactérias acidofílicas na fonte do inóculo (DAM) e no concentrado final. Os resultados demonstraram que as reações de oxidação da pirita foram intensificadas na presença de bactérias acidofílicas. Obtiveram-se concentrações de lixiviados de até 97 g.L⁻¹ de ferro após oito semanas de lixiviação na coluna onde foram utilizadas bactérias e micronutrientes. Este valor está próximo ao do coagulante comercial que é comercializado com uma concentração de 120 g.L⁻¹ de ferro. Após dois ciclos de oito semanas, foi possível remover 70% da pirita presente no material. O produto concentrado, evaporado e purificado foi testado como coagulante no tratamento de um efluente sintético de bentonita e de água de abastecimento público (água do Lago Guaíba, cidade de Porto Alegre/RS). Em testes de jarros, o reagente produzido comprovou eficácia para uso como coagulante atendendo os parâmetros exigidos pela Portaria 518 do Ministério da Saúde para água potável. Empregando técnicas hidrometalúrgicas otimizadas, a taxa de produção de coagulante sulfato férrico a partir de um concentrado pirítico similar ao empregado neste trabalho pode chegar a 395 L.t⁻¹.mês⁻¹.

ABSTRACT

The objective of this work was to produce ferric sulfate by biometallurgy techniques using a concentrate of pyrite containing (50.6% of FeS_2) of processed coal tailings. The methodology consisted in leaching the material on laboratory scale using columns of packed beads. Some situations were evaluated such as: (a) sterile conditions, (b) conditions non-sterile, (c) a non sterile bacteria inoculum, (d) non sterile bacteria inoculum and micronutrients. The source of inoculum of bacteria was an AMD from the coal mine in the region of Criciuma. The leachate produced in each column was analyzed weekly for the following parameters: pH, Eh, total iron, sulfates and the most probable number of acidophilic bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* (MPN: 100mL). The presence of other acidophilic bacteria was investigated in the inoculum source (ADM) and the final concentrate. The results showed that the oxidation of pyrite was intensified in the presence of acidophilic bacteria. Concentrations of 97g.L^{-1} of total iron were reached, in eight weeks of leaching in the column that contained bacteria and micro-nutrients. This value is close to commercial coagulants which has 120g.L^{-1} of iron. The concentrated product, was evaporated, purified and tested as a coagulant in the treatment of a synthetic wastewater composed of bentonite and distribution water (water of Guaíba, Porto Alegre city/RS). Two cycles of eight weeks removed 70% of pyrite present in coal tailings in the ideal conditions offered to acidophilic bacteria. The concentrated product, was evaporated, purified and tested as a coagulant in water treatment using a synthetic wastewater of bentonite and water from Guaíba (source of water of Porto Alegre city / RS). In jar test the produced reagent was effective for use as a coagulant according to the parameters required by water legislation. The maximum oxidation rate obtained of the production of coagulants was $395\text{ L.t}^{-1}.\text{months}^{-1}$.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da atividade industrial está associado ao maior consumo de energia. Essa realidade torna necessária maior demanda por combustíveis fósseis tais como o petróleo, o carvão mineral e o gás natural. O carvão mineral é usado como uma importante fonte de energia, principalmente na termoeletricidade.

As reservas brasileiras de carvão têm cerca de 30 bilhões de toneladas (Nascimento *et al.*, 2002). Embora esta fonte de energia seja importante, sua exploração traz problemas de caráter ambiental. Nas jazidas brasileiras, associado ao carvão há minerais indesejáveis, como óxidos, silicatos, carbonatos e sulfetos, sendo esse último predominantemente na forma de dissulfeto de ferro (FeS_2 – cristalizado na forma de pirita ou marcassita). Durante o processo de beneficiamento do carvão, cerca de 30 a 70% do material minerado é refugado, gerando grandes volumes de rejeito dispostos em áreas próximas ao local de mineração e considerados até então sem valor comercial (Gaivizzo *et al.*, 2000).

A oxidação da pirita presente nos depósitos de rejeito é bastante nociva ao meio ambiente, principalmente pela geração de drenagem ácida de minas (DAM). Em períodos de intensa precipitação pluviométrica, a água percola através das pilhas de rejeito, tornando-se ácida e com altas concentrações de metais dissolvidos e íons sulfato, o que compromete a qualidade dos recursos hídricos regionais (Kontopoulos, 1998).

A massa de rejeito, estimada em 300 milhões de toneladas, está presente em 3.050 hectares de passivos ambientais expostos principalmente na Bacia Carbonífera de Santa Catarina. Somando-se a estas áreas de passivos, os depósitos de rejeitos também estão presentes nos pátios operacionais das minas em atividade, cuja superfície alcança um total de 957 hectares. Esses locais geram DAM, cujo volume tratado ainda é baixo, acarretando na contaminação de aproximadamente 790 km de cursos d'água pertencentes às bacias hidrográficas dos rios Araranguá, Tubarão e Urussanga (Gomes, 2004; BRASIL, 2008).

Para o controle da DAM em áreas de mineração de carvão, podem ser utilizados os métodos preventivos, de contenção e métodos de remediação (Kontopoulos, 1998). No Brasil, algumas ações têm sido recentemente investigadas. Uma delas é método de coberturas secas,

que vem demonstrando excelentes resultados em unidades experimentais (Soares *et al.*, 2009). Outra é o retorno do rejeito para as minas subterrâneas, método conhecido como “backfill” (Miao *et al.*, 2008). Entretanto, essas técnicas acarretam em custos para as mineradoras e o setor público, bem como o contínuo monitoramento ambiental da área. Assim, a solução ainda tem sido o emprego de técnicas de final de tubo, como o tratamento ativo da DAM, com altos custos em reagentes, operação e disposição de lodos (Silveira, *et al.*, 2009, Rubio *et al.*, 2009).

Porém, estudos recentes demonstraram que é possível promover a concentração da pirita (Amaral Filho, 2009) e transformá-la, por processos hidrometalúrgicos, em sais férricos e ferrosos (Menezes, 2009; Vigânico, 2009). O processo está baseado no fato de que a oxidação da pirita, em meio aquoso e arejado, gera sulfato férrico e sulfato ferroso. Nesse sentido, Menezes e Schneider (2007) propuseram a produção de sulfato férrico através da lixiviação de rejeitos de carvão em células úmidas, porém a concentração do sulfato férrico em meio aquoso foi baixa. Estudos mais recentes do mesmo autor (Menezes, 2009) demonstraram que o processo apresenta um melhor desempenho em reatores de leito empacotado, atingindo valores superiores de concentração de sulfato férrico. O autor reparou também que no processo há a presença de bactérias acidofílicas. Contudo, em suas investigações, não controlou as condições microbiológicas que podem influenciar de forma significativa na velocidade do processo.

Nesse contexto, o presente trabalho enquadra-se na aplicação de técnicas biohidrometalúrgicas para obtenção de um produto com valor agregado a partir da pirita presente em rejeitos do beneficiamento de carvão. A biohidrometalurgia é o ramo da metalurgia extrativa que utiliza bactérias para obter metais transformando sulfetos insolúveis em sulfatos solúveis. As vantagens são o baixo consumo de energia e de reagentes e obtenção de concentrados de produtos com valor agregado. O principal agente do processo são bactérias acidofílicas que toleram altas concentrações de metais atuando por mecanismo de contato e não-contato nos minerais sulfetados. Estes organismos utilizam como fonte de energia a transferência de elétrons para seus propósitos de sobrevivência, liberando o metal sem necessitar de fontes externas de energia (Ballester, 2001).

A intenção do processo em estudo é produzir um reagente com larga aplicação comercial e evitar danos ambientais. O sulfato férrico é um reagente largamente empregado no tratamento de águas, esgotos e efluentes industriais, assim como em outras aplicações. Também é possível

obter um resíduo mais inerte que o original, com menor teor de pirita e com isso diminuir a poluição ambiental decorrente da exploração de carvão com a geração da drenagem ácida de minas.

Assim, o objetivo geral da dissertação foi estudar a oxidação da pirita presente em rejeitos de carvão por via bacteriana para a produção do coagulante sulfato férrico.

Os objetivos específicos foram:

- caracterizar uma amostra de rejeito do beneficiamento de carvão e seu potencial de produção do coagulante sulfato férrico;
- avaliar a taxa de oxidação da pirita presente no rejeito de carvão em testes realizados na ausência de bactérias acidofílicas, a presença de bactérias acidofílicas e condições apropriadas de temperatura e micro-nutrientes;
- avaliar a presença de bactérias acidofílicas presentes na DAM de Criciúma e no extrato obtido na lixiviação;
- estudar metodologias para purificação, concentração e desidratação do lixiviado com o intuito de produzir formas comerciais do sulfato férrico;
- realizar ensaios de coagulação para o tratamento de água de abastecimento público utilizando o reagente desenvolvido de forma comparativa com reagentes comerciais;
- avaliar os benefícios ambientais, tecnológicos e econômicos da aplicação de técnicas biohidrometalúrgicas na produção do coagulante sulfato férrico a partir de rejeitos de carvão.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Carvão Mineral e Meio Ambiente

O carvão mineral é resultado da antiga acumulação de restos de plantas em ambiente aquático. Com o passar do tempo, esses depósitos foram sendo gradativamente soterrados por matéria mineral como areia e argila. O aumento da pressão e da temperatura aliadas à ação de micro-organismos anaeróbios sobre esta matéria orgânica concentrou o carbono, expulsando oxigênio e hidrogênio (Pitt, 1979). Esses consecutivos e longos estágios são chamados de graus de carbonificação ou “rank” o qual cresce na seguinte ordem: vegetação, turfa, linhito, carvão e antracito (Osório *et al.*, 2008). O antracito apresenta o mais alto grau de carbonificação (Stach, 1975).

Importante fonte de energia não renovável, o carvão mineral é usado amplamente para a geração de energia elétrica e para o coque metalúrgico. As reservas brasileiras de carvão são utilizadas principalmente para a geração de eletricidade, pois possuem uma elevada quantidade de matéria mineral na sua composição, dificultando o uso no coque.

Os recursos de carvão mineral no Brasil ultrapassam 32 bilhões de toneladas e estão localizados principalmente no Rio Grande do Sul (28,8 bilhões), Santa Catarina (3,4 bilhões) e Paraná (100 milhões) (Nascimento *et al.*, 2002). De modo geral, o carvão da região sul do Brasil contém maior conteúdo de matéria inorgânica do norte para o sul. As termelétricas brasileiras em atividade estão localizadas próximas às principais jazidas de carvão (Gomes, 2002).

A produção anual de carvão em Santa Catarina é de 6 milhões de toneladas provenientes principalmente das regiões de Criciúma, Lauro Müller e Urussanga. A exploração das reservas da região carbonífera de Criciúma (Figura 01) é geralmente citada como uma das mais importantes atividades econômicas e de maior impacto ambiental da região catarinense. Apenas o carvão catarinense possui propriedades coqueificantes e de interesse à indústria siderúrgica nacional, especialmente o carvão associado às camadas Barro Branco e Irapuá (CETEM, 2001a; 2001b; 2008).

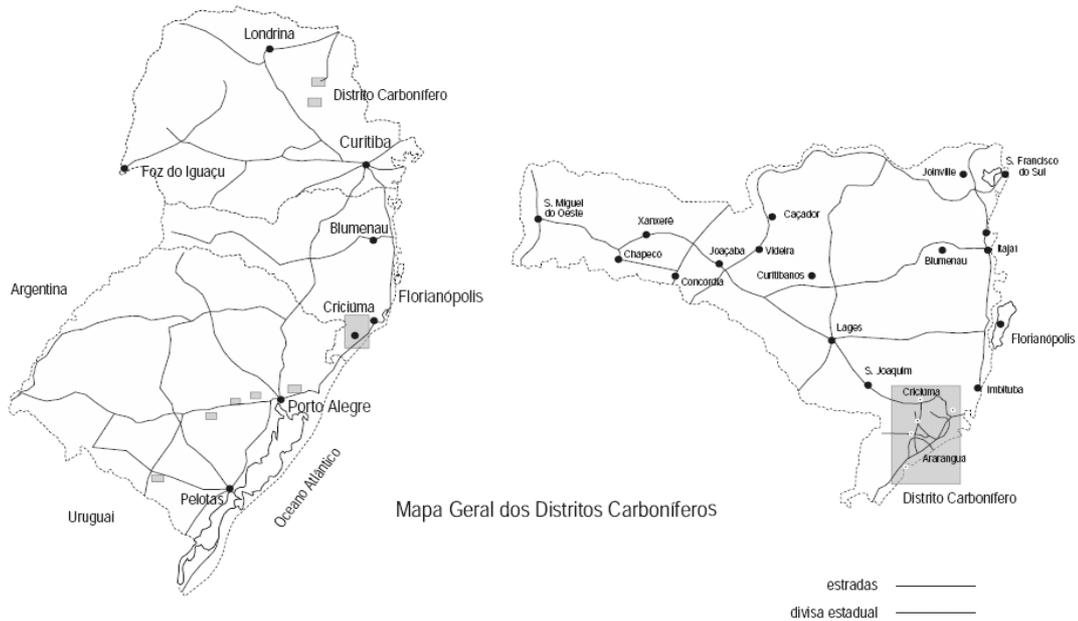


Figura 01. Mapa da região carbonífera de Criciúma.

Fonte: Gomes, 2004.

Os principais métodos de mineração de carvão no Brasil são os métodos de lavra a céu aberto e de lavra subterrânea. Os processos industriais que utilizam carvão necessitam baixas quantidades de impurezas como a matéria inorgânica porque estas geram grande quantidade de cinzas e de enxofre durante a queima. Assim, os processos de beneficiamento são utilizados com a finalidade de separar essas impurezas (Rubio, 1988; Sampaio *et al.*, 2005). O material com alto poder calorífico é comercializado para a geração de energia ou coque e o resíduo sólido rico em matéria inorgânica é disposto em áreas próximas à da mineração conhecidas como bacias de rejeito. O principal impacto ambiental gerado pela etapa de beneficiamento é a produção de rejeitos constituídos de materiais carbonosos, silicatos e minerais sulfetados que quando dispostos nas bacias de rejeito entram em contato com o oxigênio atmosférico e água da chuva gerando DAM (Fungaro e Izidoro, 2006). Esse efluente ácido prejudica diretamente os recursos hídricos da região comprometendo a saúde humana e o ambiente. A Figura 02 mostra a geração de DAM de um módulo de rejeito da mineração de carvão em Siderópolis, Santa Catarina.



Figura 02. Rejeitos de carvão e DAM gerada em Siderópolis/SC.
Fonte: Monteiro, 2004.

A região carbonífera de Criciúma também enfrenta diversos problemas decorrentes da disposição de rejeitos da mineração de carvão rico em pirita. Muitos empreendimentos estão localizados próximos às zonas residenciais. Na Figura 03 é possível verificar a disposição do rejeito e a geração de DAM que se espalha por toda a região que contorna a carbonífera e residências próximas. Os moradores e a vegetação localizados nas proximidades dos depósitos de rejeito sofrem com a poluição da água, ar e solo.



Figura 03. Vista aérea de uma instalação de beneficiamento de carvão e áreas adjacentes na região carbonífera de Criciúma.

Fonte: CETEM, 2001.

3.1.2 Reações da Oxidação da Pirita

O mineral pirita é o nome comum do dissulfeto de ferro que é representado pela fórmula molecular FeS_2 . Os cristais de pirita são isométricos e geralmente são encontrados na forma de cubos, mas também podem aparecer como octaedros ou dodecaedros com faces pentagonais. Este mineral é estável desde que não entre em contato com o ar e água (Kontopoulos, 1998). A Figura 04 mostra a fórmula estrutural e uma imagem do mineral pirita.

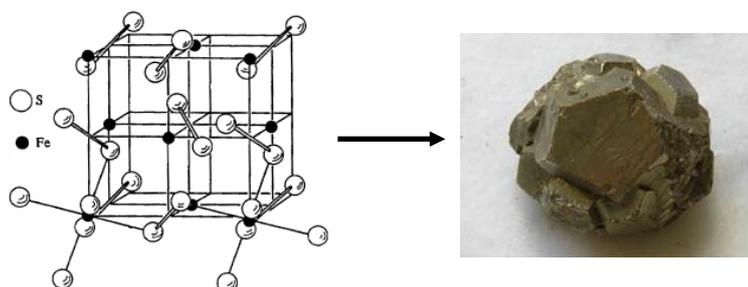


Figura 04. Estrutura cristalina e imagem da pirita.

Fonte: Adaptado de Sand *et al.*, 2001.

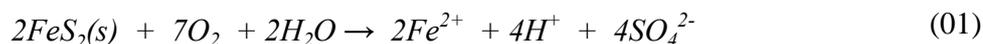
A pirita é abundante na superfície da Terra e a sua desagregação é uma reação de oxidação que ocorre naturalmente na superfície do mineral (Sasaki *et al.*, 1998; Schrenk *et al.*, 1998). Ela está geralmente associada a outros sulfetos ou óxidos, rocha sedimentar ou metamórfica e em leitos de carvão.

A oxidação da pirita é um complexo processo biogeoquímico envolvendo várias reações redox, hidrolisando e complexando íons com a presença de bactérias do gênero *Acidithiobacillus* (Evangelou, 1995; Rimstidt e Vaughan, 2003 APUD Elberling, 2005; Gleisner *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2009). A pirita oxidada no ambiente gera um efluente com baixo pH, altas concentrações de ferro (nas formas Fe^{2+} e Fe^{3+}) e sulfatos (SO_4^{2-}). Esse fluxo aquoso, a DAM citada anteriormente, é considerado um grave problema pela sua natureza, amplitude e dificuldade de resolução (Kontopoulos, 1998; Skousen *et al.*, 2000; García *et al.*, 2005).

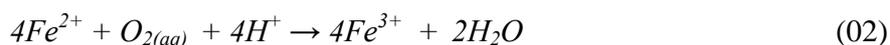
As reações de oxidação da pirita (processos químicos e biológicos) descritas abaixo ocorrem naturalmente nos depósitos de rejeito da mineração de carvão (Valente *et al.*, 2009).

Estas reações podem ocorrer de forma direta como é demonstrado na Reação 01, ou então de forma indireta conforme as Reações 02, 03 e 04 (Kontopoulos, 1998; Sharma *et al.*, 2003).

A Reação 01 produz acidez e se o potencial de oxidação for mantido, a oxidação do íon Fe^{2+} para Fe^{3+} ocorrerá (Reação 02), consumindo parte da acidez da pirita pelos íons H^+ . Ela é considerada uma reação de intemperismo químico (Sasaki *et al.*, 1998). Esta Reação 01 pode ocorrer abioticamente em valores de pH mais elevados (acima de 4,5) e diminui à medida que o pH decresce. Ela também pode ocorrer pelo mecanismo direto (de origem bacteriana) em valores de pH menores que 4,0.



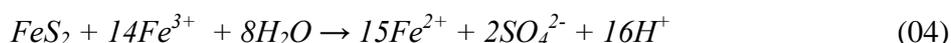
Uma bactéria ferro-oxidante conhecida como *Thiobacillus ferrooxidans*, atualmente descrita na bibliografia como *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Kelly e Wood, 2000) tem um papel importante na lixiviação da pirita e formação da DAM. Essa bactéria é responsável por intensificar as reações de geração de DAM em até 10^6 vezes por processos de transferência de elétrons (Teixeira *et al.*, 2002).



Se o pH da solução é maior do que 3, o Fe^{3+} irá hidrolisar precipitando na forma de hidróxido e gerando acidez, conforme Reação 03:



Ainda, o Fe^{3+} , gerado na Reação 02, poderá oxidar a pirita (FeS_2) pela Reação 4:



O Fe^{2+} resultante será oxidado para Fe^{3+} pela Reação 02 e estará novamente disponível para oxidar a pirita, entrando o fenômeno em um ciclo crescente conhecido como auto-catálise. O ciclo permanece até que toda pirita acessível aos agentes de reação tenha sido consumida. O baixo pH da água aumenta a solubilização de metais. No caso da mineração de carvão, além do ferro, os lixiviados podem apresentar alumínio, manganês, zinco entre outros metais. Os altos valores de ferro (tanto na forma trivalente como bivalente) e alumínio sugerem que a DAM possa ser aplicada como agente coagulante (Menezes, 2009). As reações de oxidação da pirita e geração de DAM podem ser resumidamente descritas conforme as etapas a seguir (Adaptado Vigânico, 2009):

Etapas 1 – pH neutro até pH 4,5 – Reação Abiótica

A concentração de Fe^{3+} nessa etapa é baixa, não sendo importante para o ciclo auto-catalítico. O ácido produzido pode ser consumido pelas reações de neutralização com minerais básicos existentes no corpo do minério. Nesse pH, como a solubilidade do ferro é limitada, vai ocorrer a precipitação do hidróxido férrico, Reação 03. Uma vez que a alcalinidade é diminuída, o pH irá cair. As reações predominantes são a Reação 1 e a Reação 3.

Etapas 2 - pH 4,5 até pH 2,5

Como a oxidação abiótica diminui ao final da etapa (1), a oxidação bacteriana pelo *Acidithiobacillus ferrooxidans* torna-se dominante, produzindo um efluente ácido com pH entre 4,5 e 2,5, onde as 2, 1 e 3 melhor representam.

A oxidação da pirita passa predominantemente do mecanismo direto para o mecanismo indireto. Em pH menor do que 3,0, há um aumento na solubilidade de Fe^{3+} , resultando na diminuição da precipitação do hidróxido férrico. O aumento de Fe^{3+} em solução acelera o processo de oxidação indireta.

Etapa 3 – pH inferior a 2,5

O processo ocorre predominantemente pelo mecanismo indireto e a oxidação do Fe^{2+} para Fe^{3+} é totalmente por ação bacteriana. As principais Reações envolvidas são a 04 e 02. Durante o processo de oxidação da pirita, parte do Fe^{3+} forma sulfato férrico, como demonstrado o esquema na Figura 05.

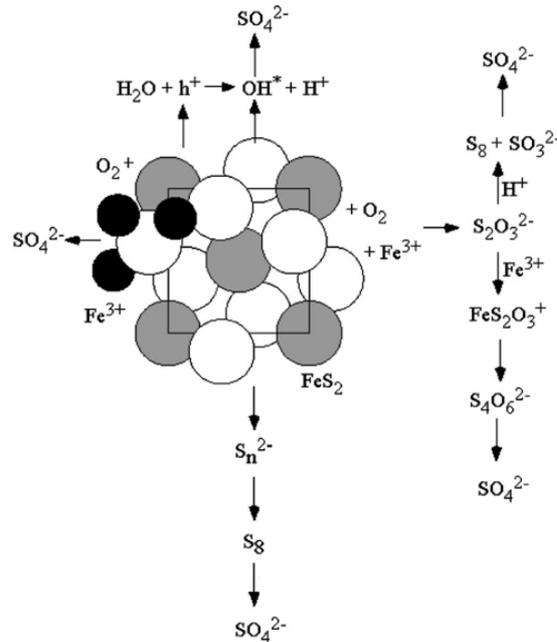


Figura 05. Diagrama representando a principal via de oxidação da pirita e geração de sulfato férrico em baixo pH. Fonte: Adaptado Druschel, *et al.*, 2004.

O sulfato férrico produzido pela oxidação da bactéria pode também ser descrito pela Reação 05 (Lundgren *et al.*, 1972).



3.1.2 Métodos de Controle da DAM

Os resíduos da mineração de carvão são classificados conforme a NBR 10 004/2004 (ABNT, 2004; ABNT 2004a), como resíduo *Não perigoso do Tipo não Inerte – Classe IIIA*. Entretanto, apresentam um alto potencial de geração de acidez, com valores de potencial de

neutralização líquido (NNP) na ordem de -250 a -350 kg de CaCO_3/t (Empresas Rio Deserto, 2004; Redivo, 2004). Além do resíduo sólido, as atividades de extração e beneficiamento de carvão prejudicam a qualidade ambiental da água, do solo e do ar comprometendo a fauna e flora regionais com águas inadequadas para o uso doméstico e agropecuário (Peterson, 2008). Este problema ambiental envolve entidades governamentais, indústria privada e a sociedade em geral (Durkin *et al.*, 1994).

Por muitos anos não houve em Santa Catarina qualquer preocupação com a recuperação de áreas mineradas de carvão. Devido à crescente problemática ambiental nestas áreas o Ministério Público juntamente com FATMA (Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina) concederam um prazo para que as mineradoras cumprissem a legislação, executando obras de controle e recuperação do meio ambiente. Este Termo de Ajuste de Conduta (TAC-2005) abrange 12 empresas da região carbonífera de Criciúma. Diante destas determinações, o sindicato das indústrias de carvão do estado de Santa Catarina (SIECESC) juntamente com as mineradoras assumiram a responsabilidade de desenvolver e apoiar pesquisas de mitigação de impactos ambientais causados pela geração de DAM das minas já extintas e existentes. Essa condição aliada ao compromisso com a sociedade estimulou universidades e centros de pesquisas a estudarem metodologias de redução dos impactos causados pelo setor da mineração.

Atualmente as tecnologias disponíveis para o controle da DAM podem ser classificadas em três categorias: métodos preventivos, de contenção e de remediação (Skousen *et al.*, 2000).

Nos métodos preventivos, o principal objetivo é impedir o contato dos sulfetos com o oxigênio, água e bactérias que aceleram a reação de oxidação. Já os métodos de contenção buscam prevenir/conter a migração da DAM para o ambiente. No estágio de controle de geração de DAM estão os tratamentos ativos utilizando a coagulação, floculação, flotação e sedimentação (Silveira *et al.*, 2009; Rubio *et al.*, 2007; Rubio *et al.*, 2008; Silva, 2009) e passivos ou banhados construídos (Whitehead *et al.*, 2005; Vasquez, 2007). Na Tabela 01 são demonstrados os diferentes métodos de controle de DAM.

Tabela 01. Métodos de controle de DAM (adaptado de Kontopoulos, 1998).

Controle da DAM	Métodos Preventivos	<ul style="list-style-type: none"> - Remoção/isolamento dos sulfetos; - Exclusão de oxigênio por cobertura de água; - Exclusão de oxigênio por cobertura seca; - Aditivos alcalinos; - Bactericidas.
	Métodos de Contenção	<ul style="list-style-type: none"> - Prevenção do fluxo de água; - Paredes reativas porosas; - Disposição em estruturas de contenção.
	Métodos de Remediação	<ul style="list-style-type: none"> - Neutralização e precipitação (hidróxidos ou sulfetos); - Filtros de calcário; - Drenos anóxicos de calcário; - Banhados Construídos.

Dentro do contexto de recuperação ambiental utilizando métodos preventivos de geração de DAM, o Laboratório de Estudos Ambientais para a Metalurgia (LEAMET-UFRGS) estuda formas de utilizar o rejeito da mineração de carvão como fonte para a produção de sais de ferro. Entre os produtos/técnicas desenvolvidos no LEAMET-UFRGS estão os coagulantes férricos (Menezes *et al.*, 2007; Colling *et al.*, 2009), magnetita (Silva *et al.*, 2009), sulfato ferroso (Vigânico, 2009) e também o reaproveitamento/redução de pilhas de rejeito para a futura combustão na USITESC (Amaral Filho, 2009). Para todos estes processos é importante a técnica biohidrometalúrgica na remoção de ferro do rejeito, portanto abaixo é apresentada uma revisão deste processo.

3.2 Biohidrometalurgia

3.2.1 Histórico da Lixiviação e da Biolixiviação

O termo hidrometalurgia designa processos de extração nos quais a principal etapa de separação metal-ganga envolve reações de dissolução do mineral-minério (minerais) extraindo metais de interesse em meio aquoso. Entre os processos hidrometalúrgicos, a biohidrometalurgia, ou lixiviação bacteriana de minérios utiliza micro-organismos para promover a solubilização de metais pela oxidação de sulfetos metálicos. Assim como outros micro-organismos, estes utilizam a transferência de elétrons como forma de energia para sua sobrevivência e liberam o metal para o meio sem precisar de outras fontes externas de energia (Rodríguez, 2001). O uso destes micro-organismos tem como vantagens o baixo consumo de energia e de reagentes e a obtenção de produtos com valor agregado. O principal reagente empregado neste processo são organismos, bactérias acidofílicas, que toleram altas concentrações de metais atuando por mecanismos de contato e não contato nos minerais sulfetados.

Existem evidências do uso da lixiviação bacteriana desde 23 a 79 D.C. na produção de cobre segundo Plínio em seu tratado *Naturalis Historia* (Garcia, 1989; Brandl, 2001; Garcia e Urenha, 2001). Após, em 166 D.C. acredita-se que tenha sido feito o uso da técnica para a obtenção de sulfato de cobre (Garcia e Urenha, 2001). Segundo Holmes (2007) e Ehrlich (2001) escritas chinesas descrevem o uso da biolixiviação cerca de 2 mil anos atrás, sugerindo que a bio-recuperação de metais é umas das mais antigas utilizações da biotecnologia no mundo ao lado da produção de pão, vinho e cerveja. Bosecker (1997) também afirma que gregos e romanos poderiam ter usado processos biotecnológicos há 2000 anos atrás para extrair cobre. No seu trabalho, o mineralogista Georgius Agrícola (1494-1555) também descreveu técnicas de recuperação de cobre baseados na lixiviação. Na Idade Média o caso mais conhecido foi o do Rio Tinto, Espanha, por volta de 1752, tratando-se de um dos primeiros registros de lixiviação em escala industrial em pilhas de cobre. Em 1880 já era utilizada a redução de compostos de enxofre para a formação de ácido sulfúrico (Holmes, 2007).

Em 1922 considerou-se que a mobilização de sulfeto de zinco a sulfato de zinco seria de origem microbiana (Rudolfs, 1922 APUD Brandl, 2001). Antes desta data, a biolixiviação

estava presente nos processos de oxidação dos sulfetos, mas os fenômenos bioquímicos envolvidos no processo eram desconhecidos. Após o isolamento, em 1949, e identificação, em 1951 e 1952, da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* foram então confirmados os fenômenos químicos e biológicos da lixiviação (Garcia e Urenha, 2001). Em 1999 já era estimado um mercado de cerca de 10 bilhões de dólares para esse tipo de processo (Johnson *et al.*, 1999).

A lixiviação bacteriana é atualmente aplicada em escala industrial para recuperação de metais de cobre, urânio e ouro, em países como: EUA, Rússia, Chile, Espanha, Canadá, África do Sul, Austrália entre outros (Hackl, 1997; Teixeira *et al.*, 2002; Johnson, 2008). Atualmente as empresas CODELCO e Nippon Metals and Mining unidas criaram a BioSigma, uma empresa que investe em plantas piloto e industrial para a obtenção de cobre através da biolixiviação. Já a BHP Billiton está investindo em tecnologia avançada de biolixiviação para atingir diminuições significativas no custo da produção de metais. Songrong, (2002) cita o sucesso da primeira planta comercial de biolixiviação na China na Yantai Gold Smeltery.

Na Tabela 02 são apresentados alguns dos avanços de aplicações em biolixiviação, segundo o IBS-International Biohydrometallurgy Symposia (Editorial IBS, 2006; Brierley, 2008).

Tabela 02. Alguns importantes avanços na aplicação da biohidrometalurgia.

Fonte: Adaptado Brierley, 2008.

Conhecimento	Exemplo	Referência
Diversidade de micro-organismos da biolixiviação de minerais	Bactéria termofílica moderada; Termofílicas Archea; Espécies de <i>Leptospirillum</i> , <i>Acidithiobacillus</i> e <i>Ferroplasma</i>	Brierley, 1978; Hutchins <i>et al.</i> , 1988; Rawlings <i>et al.</i> , 1999; Dopson e Lindstrom, 1999; Edward <i>et al.</i> , 2000; Backer e Banfield, 2003; Xiao <i>et al.</i> , 2009.
Mecanismo de biolixiviação de minerais sulfetados	Produção de íon férrico por mecanismos de contato e não-contato	Holmes <i>et al.</i> , 1999; Crundwell <i>et al.</i> , 2000; Rohwerder <i>et al.</i> , 2003
Aplicações da biolixiviação em escala industrial e piloto	Remoção de enxofre de carvão	Brock, 1976; Moran <i>et al.</i> , 1997; Zancan e De Luca, 1997; De Luca, 1991; Zancan e De Luca, 2000
	Biolixiviação de cobre	Beck, 1967; Schnell, 1997; Montealegre e Bustos, 2000; Domic, 2007; CETEM, 2008 (IBRAM 2007; IBRAM, 2008).
	Biolixiviação de ouro	Brierley e Luinstra, 1993; Brierley, 1997; Shutey-McCann <i>et al.</i> , 1997; Logan <i>et al.</i> , 2007; Schippers, 2007
	Biolixiviação de cobalto	Morin and d'Hugue, 2007
	Reator em tanque	Van Aswegen <i>et al.</i> , 2007

3.2.2 Microbiologia do Processo

Segundo Lundgren *et al.* (1972) e Garcia e Urenha, (2001) vários tipos de bactérias, fungos e algas tem seu habitat em depósitos minerais. A maioria dos organismos presentes são procariontes e muitos de variedade filogenética dos domínios *Bacteria* e *Archaea* (Johnson, 1995; Backer e Banfield, 2003; Johnson, 2008). Porém, há um pequeno número de eucariontes que crescem nestes ambientes extremamente ácidos incluindo algas, fungos, protozoários e rotíferos (Johnson, 1998; Johnson, 2008). Das *et al.*, (2009) comenta a capacidade de algas e fungos de ambientes de DAM absorverem e acumularem metais pesados. Em estudos recentes, Freitas *et al.*, (2009) verificou uma pequena diversidade de espécies de algas ácido-tolerantes na DAM na região carbonífera de Criciúma e Colling *et al.*, (2009) quantificou 10^5 *Acidithiobacillus ferrooxidans* por mililitro nestas mesmas águas ácidas.

Entre as bactérias encontradas em águas ácidas provenientes de minas estão principalmente as espécies dos gêneros de *Acidithiobacillus*, *Leptospirillum*, *Sulfolobus*, *Sulfobacillus*, *Acidianus* e *Acidiphilium* (Garcia, 1989; Garcia e Urenha, 2001; Backer e Banfield, 2003). Uma das maiores aplicações da biotecnologia para a hidrometalurgia está baseada na habilidade dessas bactérias (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans*) em oxidarem uma diversidade de sulfetos metálicos e solubilizar seus componentes (Backer e Banfield, 2003). A presença de determinado organismo oxidante tem grande relação com a temperatura. No Anexo estão descritas uma variedade de organismos encontrados em ambientes de lixiviação com suas respectivas característica de pH, tipo de nutrição e temperatura.

Sabe-se que as bactérias acidofílicas têm a capacidade de intensificar as reações de oxidação da pirita, aumentando a taxa de oxidação deste mineral (Kontopoulos, 1998). Em ambientes de DAM predominam bactérias que oxidam ferro (*Acidithiobacillus ferrooxidans*) e que oxidam enxofre (*Acidithiobacillus thiooxidans*). Existem estudos que registram mais de 10^6 destes organismos por mililitro de água ácida (Lundgren *et al.*, 1972; Bosecker; 1997). Johnson (1998) afirma que a utilização de culturas mistas de micro-organismos acidofílicos têm sido mais eficientes que o uso de culturas puras nos processos de biolixiviação.

Acidithiobacillus spp. são um grupo comum de micro-organismos ativos na DAM e na degradação de minerais sulfetados. Uma das mais importantes e conhecidas bactérias deste

gênero é a *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Kelly e Wood, 2000; Teixeira *et al.*, 2002; Sharma *et al.*, 2003).

Para determinar a diversidade microbiológica em ambientes de lixiviação atualmente são utilizados métodos biomoleculares como hibridização de DNA, sequenciamento da subunidade 16S de RNA, sequenciamento utilizando primers derivados do rRNA, técnica de FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) (Schrenk *et al.*, 1998; Mahmoud *et al.*, 2005), ou ainda técnicas imunoquímicas (Holmes, 2007; Mahmoud *et al.*, 2005). Escobar *et al.* (2008) utilizou um método rápido e específico de detecção de *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Leptospitillum ferrooxidans* através da amplificação de 16S rDNA pela técnica de PCR com marcadores moleculares tRFLP (terminal Restriction Fragment Length Polymorphism). Hao *et al.*, (2002) utilizou PCR e 16SrDNA para o maior entendimento da comunidade bacteriana em sedimentos de carvão. Além dessas técnicas também é possível identificar a presença de alguns organismos já descritos na bibliografia através do uso de meios de cultura seletivos (APHA, 2005). A Tabela 03 mostra um exemplo de diversidade de micro-organismos encontrados em águas ácidas.

Tabela 03. Diversidade de micro-organismos de ambientes ácidos.

Fonte: Johnson, 2008.

Domínio Bacteria	
Filo	Micro-organismo
<i>Acidobacteria</i>	<i>Acidobacterium capsulatum</i>
<i>Actinobacteria</i>	<i>Acidimicrobium ferrooxidans</i>
<i>Fermicutes</i>	<i>Sulfobacillus spp.</i>
<i>Nitrospora</i>	<i>Leptospirillum spp.</i>
<i>Alpha-proteobacteria</i>	<i>Acidiphilium spp.</i>
<i>Beta-proteobacteria</i>	<i>Thiomonas spp.</i>
<i>Gamma-proteobacteria</i>	<i>Acidithiobacillus spp.</i>
Domínio Archaea	
Filo	Micro-organismo
<i>Euryarchaeota</i>	<i>Ferroplasma spp.</i>
	<i>Thermoplasma spp.</i>
<i>Crenarchaeota</i>	<i>Sulfolobus spp.</i>
	<i>Acidianus spp.</i>
	<i>Metallosphaera spp.</i>
Eucariontes	Micro-organismo
Algas	<i>Euglena spp.</i>
	<i>Chlamydomonas acidophila</i>
	<i>Cyanidium coldarium</i>
Fungos	<i>Aconthium velatum</i>
	<i>Scytalidium acidophilum</i>
Protozoários	<i>Eutrptia spp.</i>
	<i>Urotricha spp.</i>
	<i>Vahlkampfia spp.</i>
Rotífero	<i>Elosa woralii</i>

A Figura 06 apresenta um diagrama esquemático do metabolismo das bactérias na oxidação da pirita. Em amarelo a pirita e em verde uma solução de DAM. São demonstrados os ciclos do ferro, enxofre e carbono onde diferentes grupos de micro-organismos estão envolvidos nas reações bioquímicas variando o grupo de bactérias conforme a faixa de temperatura. É demonstrado na interface mineral/solução o elemento enxofre com os intermediários da reação sulfeto a sulfato. O composto orgânico $C_{30}H_{60}O_{30}N_6P$ é formado no metabolismo do gás carbônico.

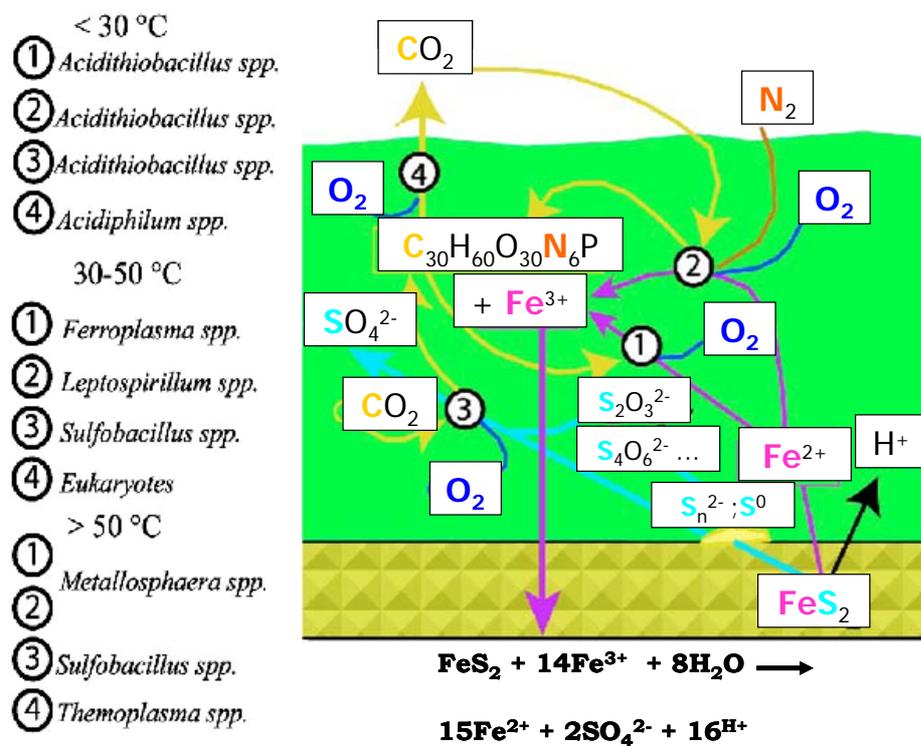


Figura 06. Diagrama esquemático do metabolismo microbiano de oxidação da pirita.

Fonte: Adaptado Backer e Banfield, 2003.

Acidithiobacillus ferrooxidans foi assumida como o mais importante micro-organismo responsável pela biolixiviação da pirita, assim, o próximo capítulo descreve as principais características desta bactéria.

3.2.3 *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Acidithiobacillus ferrooxidans é uma bactéria que apresenta-se na forma de bastonetes gram negativos (Rawling *et al.*, 1994; Johnson, 1995; Hosseini *et al.*, 2005) com dimensões médias de 0,5-0,8 µm de largura e 0,9-1,5 µm de comprimento (Lundgren *et al.*, 1972). A reprodução destas bactérias é por divisão binária. Seu crescimento está na faixa de temperatura entre 5 e 40° C, sendo 30°C a temperatura ótima para o seu crescimento. Estes organismos são aeróbios estritos e o seu pH ótimo é de 1,5 a 2,0 (Lundgren *et al.*, 1972). A espécie utiliza substratos inorgânicos para o seu desenvolvimento, necessitando basicamente como fonte energética, Fe²⁺, convertendo-o para Fe³⁺ (Kelly e Wood, 1996; Brierley, 2008; Backer e Banfield, 2003). Necessita também de suprimentos de alguns nutrientes, tais como nitrogênio, fósforo e magnésio. Uma característica importante destas bactérias é a sua generalizada resistência a altas concentrações de metais. As bactérias que estão interagindo com o mineral geralmente formam uma camada polimérica denominada EPS (substância polimérica extracelular) que é produzida pela bactéria com a finalidade de melhorar a sua adesão à superfície do mineral e formação de biofilmes (Crundwell, 1996).

As principais características deste organismo são que ele vive em pH extremamente baixo, altas concentrações de metais, além de compostos de enxofre e em condições de vida muito agressivas. Ela atua em uma temperatura menor que 40°C sendo uma espécie mesófila acidofílica (Kelly e Wood, 2000; Teixeira, 2002). É mostrado na Figura 07 o crescimento da *Acidithiobacillus ferrooxidans* em meio sólido.



Figura 07. Crescimento de *Acidithiobacillus ferrooxidans* em meio sólido.

Fonte: http://www.mines.edu/fs_home/jhoran/ch126/microbe.htm

3.2.4 Mecanismo de Contato e de Não Contato

Os micro-organismos presentes na DAM, principalmente do gênero *Acidithiobacillus* metabolizam intra ou extracelularmente a pirita realizando diversas reações bioquímicas intermediárias até gerar um composto final por mecanismos de contato e não contato no mineral (Lundgren *et al*, 1972; Wolfgang *et al.*, 2001).

Crundwell (1996) incluiu três mecanismos de oxidação que ainda são discutidos. No mecanismo de contato (bactéria-sulfeto), as bactérias ferro-oxidantes entram em contato com a pirita solubilizando o ferro segundo o esquema representado na Figura 08. A bactéria interage a superfície do mineral envolvida por uma camada polimérica oxidando o sulfeto e facilitando a atividade enzimática (Crundwell, 1996; Ballester, 2001).

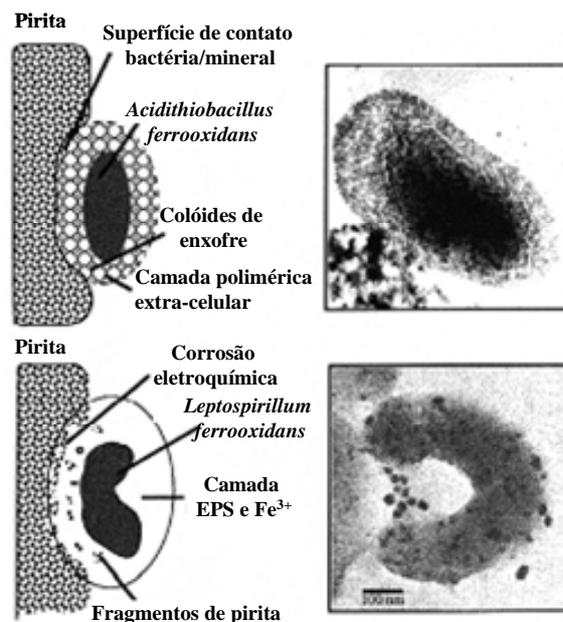


Figura 08. Mecanismo de contato na oxidação da pirita.

Fonte: Adaptado Tributsch (2001).

Já no mecanismo não contato, a bactéria associa-se aos íons Fe^{2+} na solução que são adsorvidos na camada bactéria-mineral e transformados em Fe^{3+} . Em seguida o Fe^{3+} oxida mais mineral criando o processo auto-catalítico (Crundwell, 1996, Bosecker, 1997; Ballester, 2001). Na Figura 09 há um exemplo do mecanismo de não contato.

O mecanismo de cooperação consiste em uma ação conjunta de bactérias oxidando o sulfeto pelos mecanismos de contato e íons Fe^{2+} por não contato.

As células bacterianas podem ser visualizadas sobre a superfície do mineral por microscopia de força atômica (AFM) e por microscopia de epifluorescência (EFM), mas não é possível verificar exatamente o ataque da célula na superfície do metal por estas técnicas. Uma nova técnica de visualização é descrita por Mangold (Universidade de Duisberg-Essen/Alemanha), utilizando uma metodologia combinada de AFM e EFM para investigar o ataque da pirita e a formação do biofilme e verificando a dinâmica micro-organismo na interface do mineral. As reações extracelulares e dos biofilmes continuam a ser exploradas por Guiliani na Universidade do Chile e o fenômeno interfacial de corrosão investigado por Mangold na Universidade de Duisberg-Essen/Alemanha e Sheng na Universidade National, Cingapura (Holmes, 2008).

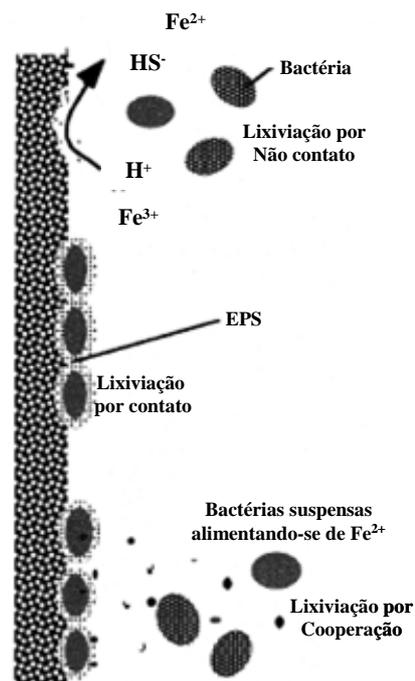


Figura 09. Mecanismo contato e não contato da oxidação da pirita.

Fonte: Adaptado Tributsch (2001).

3.2.5 Crescimento Bacteriano

O crescimento bacteriano é considerado o aumento do número de indivíduos e não o aumento do tamanho de uma determinada célula. As bactérias normalmente se reproduzem por fissão binária ou divisão binária. Essa divisão ocorre conforme as seguintes etapas: (1) alongamento da célula e a replicação do DNA cromossomal (2) invaginação da parede celular e da membrana plasmática no local entre os dois DNAs cromossomais (3) as duas seções da parede celular se encontram formando uma parede através da célula (4) produção de duas células individuais idênticas à célula parental. Outras formas de reprodução de bactérias são o brotamento e através de uma cadeia de esporos (Brock, 1984; Campbell, 1987).

Na fissão binária, tempo necessário para uma célula se dividir é denominado tempo de geração. Este tempo pode sofrer variações entre os organismos e depende das condições ambientais como a temperatura. A maioria das bactérias possui um tempo de geração de 1 ou 3 horas, mas algumas bactérias podem necessitar de um tempo de geração de mais de 24 horas. Uma curva de crescimento bacteriano, Figura 10, mostra o crescimento das células durante um período de tempo. Esta curva é obtida quando se realiza a contagem da população em intervalos de tempo após um inóculo de um número pequeno de bactérias em meio líquido. Existem basicamente quatro fases de crescimento. A fase Lag é um período de intensa atividade metabólica principalmente síntese de DNA e de enzimas. Nesta fase, ocorre pouca ou ausência da divisão celular. Durante esse período, as células permanecem em estado de latência. A fase Log corresponde à fase de crescimento exponencial onde a reprodução celular encontra-se extremamente ativa. Na fase Estacionária a velocidade de crescimento diminui e o número de células novas e o número de células mortas se torna estável. A fase de Morte Celular é expressa quando o número de células mortas excede o de células novas (Pelczar, 1981; Madigan, 2000).

Existem fatores associados à velocidade do crescimento microbiano. O objetivo de estimular rapidamente a atividade microbiana nestes processos está associado à rapidez na geração de produtos ou tratamento de efluentes onde são utilizados estes organismos. Proporcionar as condições ideais para que estes organismos se desenvolvam é importante para a otimização do processo e a busca de uma produção próxima da meta estipulada. Existem vários fatores físicos, químicos e biológicos responsáveis pela cinética das reações de origem biológica (Brandl, 2001).

Fatores Físico-Químicos

Vários fatores como a temperatura, pH, pressão osmótica, disponibilidade de nutrientes, disponibilidade de oxigênio, carbono e metais tóxicos afetam o crescimento e a eficiência das bactérias no processo de biolixiviação (García, 2004). Estes fatores contribuem para a cinética dos processos biológicos. O máximo rendimento da extração do metal ocorre somente quando as condições ótimas de crescimento para a bactéria são proporcionadas (Bosecker, 1997).

- **Temperatura**

A maioria dos micro-organismos cresce nas mesmas temperaturas ideais para os seres humanos. Porém, algumas bactérias são capazes de crescer em temperaturas extremas. Cada espécie bacteriana apresenta para o seu crescimento uma temperatura mínima, ótima e máxima. Acima da temperatura máxima de crescimento ocorre um decréscimo rápido do crescimento principalmente por inativação de sistemas enzimáticos necessários à célula. São classificados em três categorias quanto à temperatura de crescimento: psicrófilos: crescimento em baixas temperatura (-10 até 20°C); psicotróficos crescimento entre 0 até 30°C, mesófilos: crescimento em temperaturas moderadas (10 até 50°C); termófilos: crescimento em altas temperaturas (40 até 75°C) e termófilos extremos com crescimento de 70 até 110°C (Pelczar, 1981; Madigan, 2000). As bactérias capazes de atacar minerais sulfetados trabalham geralmente na faixa de temperatura das mesófilas, termófilas moderadas e termófilas extremas (Ballester, 2001). Para a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* a temperatura ótima de crescimento está entre 28° e 30°C, portanto, classificada como mesófila.

- **pH**

As bactérias acidofílicas apresentam altos graus de tolerância à acidez. Na biolixiviação, o controle de pH é necessário para o crescimento das bactérias em faixa ideal e também para a solubilização dos metais (Bosecker, 1997). Mudanças extremas de pH no meio podem acarretar em desnaturação de proteínas-enzima. A maioria das bactérias cresce com pequenas variações

de pH e próximos da neutralidade, entre 6,5 e 7,5. Poucas bactérias, como as acidófilas, são capazes de crescer em pH menor que 4,0. A bactéria *A. ferrooxidans* encontrada em águas de DAM pode sobreviver em pH 1,0 sendo o pH ótimo entre 1,5 e 2,0 (Lundgren *et al.*, 1972; Brandl, 2001).

- **Pressão Osmótica**

Elevações na pressão osmótica removem a água presente dentro da célula. Uma célula microbiana em uma solução hipertônica realiza o fenômeno chamado de osmose e perde água por causa da plasmólise. A importância deste fenômeno está na inibição de crescimento no momento em que a membrana plasmática se separa da parede celular. Assim, a presença de sais em uma solução, com conseqüente aumento da pressão osmótica pode ser indício de morte bacteriana. Algumas bactérias, as halofílicas extremas, necessitam de altas concentrações de sais para seu crescimento. Em relação à biolixiviação, altas concentrações de sais podem inibir o crescimento das bactérias (Bosecker, 1997).

- **Carbono**

O carbono é um dos elementos mais importantes para o crescimento microbiano. O carbono é essencial para a síntese de todos os compostos orgânicos necessários para a viabilidade celular sendo considerado elemento estrutural básico para os seres vivos. Metade do peso seco de uma célula bacteriana é composta de carbono (Pelczar, 1981; Brock, 1984; Madigan, 2000). Os organismos quimioheterotróficos obtêm a maior parte do carbono a partir de materiais orgânicos como proteínas, carboidratos e lipídeos que são fontes de energia para a célula. Os quimioautotróficos e os fotoautotróficos obtêm o carbono necessário para a célula a partir de dióxido de carbono naturalmente. Quando o suplemento do gás carbônico não é suficiente para estes organismos, é necessário adicionar CO₂ artificialmente (Bosecker, 1997). Estima-se que a bactéria *A. ferrooxidans* necessite de cerca de 3 a 7 mg.L⁻¹ de dióxido de carbono (Brandl, 2001).

- **Micronutrientes**

A síntese de proteínas em geral, ATP, DNA, RNA necessitam de grandes quantidades de nitrogênio, fósforo e enxofre. Os organismos utilizam nitrogênio inicialmente para sintetizar os grupos amino presentes nos aminoácidos que formam as proteínas. Muitas bactérias obtêm estes compostos por meio da decomposição de matéria orgânica protéica ou através da amônia e nitratos. O enxofre é utilizado na síntese dos aminoácidos e vitaminas como a timina e a biotina. As fontes de enxofre são principalmente sulfatos. O fósforo é essencial para a síntese dos ácidos nucléicos, para fosfolipídios e componente das ligações ATP. O íon fosfato é uma importante fonte de fósforo para a célula. O potássio, o magnésio e o cálcio geralmente são utilizados como co-fatores para reações enzimáticas. Por este motivo, muitos organismos para crescerem em meios de cultura necessitam de micro-nutrientes com estes elementos nas formas de sulfato, nitrato e fosfato. Por exemplo, o meio 9K é uma solução para o desenvolvimento de *A. ferrooxidans*. Como essas bactérias obtêm a partir de material inorgânico sua fonte de energia, são necessários apenas suplementos de amônia, fosfato e magnésio (Bosecker, 1997).

- **Oxigênio**

Os micro-organismos aeróbios são capazes de produzir mais energia a partir do uso de nutrientes que os organismos anaeróbios. Os anaeróbios facultativos podem utilizar oxigênio quando está disponível e na sua ausência tendem a continuar o seu crescimento através da fermentação. A disponibilidade de oxigênio pode ser uma dificuldade do processo no caso da biolixiviação em pilhas (Bosecker, 1997).

3.2.6 Reatores

Os bio-reatores usados podem incluir controles que permitam aeração, mistura, controle de pH, temperatura, adição de nutrientes, entre outros parâmetros. Esses reatores podem ser inoculados com micro-organismos em cultura pura ou mista em sistema batelada, fluxo contínuo e ainda ter células em suspensão, imobilizadas, fixadas na forma de biofilmes ou somente enzimas isoladas de micro-organismos. A adesão de micro-organismos no material permite que os compostos tratados sejam rapidamente degradados devido ao maior número de

células no sistema (Alexander, 1994). Os tipos mais comuns de reatores empregados na biolixiviação estão descritos na Tabela 04.

Tabela 04. Tipos de processos comumente empregados na biolixiviação.

Tipo de Processos	Descrição
Leito Fixo	O reator de leito fixo é preenchido com algum tipo de material que sirva como substrato para a ligação dos biofilmes (pedra, cerâmica, plástico, carvão ativado) e pode ser operado em regime ascendente ou descendente.
Lixiviação em Pilhas	Material disposto em forma de pilha em área impermeabilizada com irrigação da superfície da pilha formada.
Lixiviação em Tanques	O material/substrato é disposto em tanques para que ocorram as reações de lixiviação.
Lixiviação Subterrânea	Bactérias injetadas em perfurações, o sistema requer impermeabilização e bombeamento da solução concentrada.

A Figura 10 mostra um esquema simplificado de operação de biolixiviação em pilhas. O material é disposto sobre uma área impermeabilizada com uma irrigação sobre a superfície da pilha formada. A solução lixiviada concentrada recircula pela pilha com a finalidade de intensificar a ação bacteriana no substrato mineral.

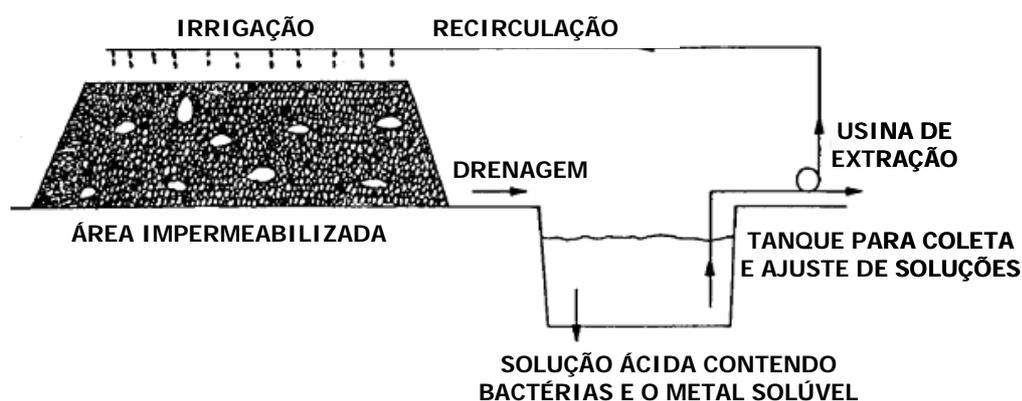


Figura 10. Esquema simplificado de lixiviação em pilhas.

Fonte: Garcia, 1989.

Neste trabalho é apresentada a aplicação do sulfato férrico produzido como agente coagulante para o tratamento de águas. Portanto, no capítulo a seguir, será descrita uma revisão sobre o mecanismo de coagulação.

3.4 Sistemas Coloidais e sua Desestabilização

As frações coloidais (0,01 a 5 μm) em tratamento de águas são dificilmente separadas, pois possuem baixa velocidade de sedimentação (Ravina, 1993). Cada partícula coloidal possui uma carga, geralmente negativa, repelindo as adjacentes. Este fenômeno impede que as partículas se aglomerem ou formem flocos ficando suspensas no meio. Porém, se a carga for reduzida poderá ocorrer a aglomeração de pequenos grupos de coágulos sendo mais facilmente separadas ou filtradas (Ravina, 1993).

- **Modelo da Dupla Camada Elétrica (DCE)**

O modelo da dupla camada elétrica explica como as forças elétricas repulsivas atuam nas proximidades do colóide. As partículas coloidais possuem cargas que atraem uma grande quantidade de íons de carga oposta presentes na solução (contra-íons). Os sólidos suspensos de efluentes líquidos na maioria das vezes apresentam carga negativa. Devido às dimensões das superfícies das partículas, apenas um número limitado de cátions consegue ser adsorvido na camada ao redor da superfície do colóide, a Camada Compacta ou Camada de Stern. Estes íons positivos adicionais são atraídos pela carga negativa do colóide, mas são repelidos pelos íons positivos da camada de Stern e também por outros íons positivos que tentam se aproximar do colóide. Um equilíbrio dinâmico se estabelece formando uma camada difusa de contra-íons com concentração maior próximo ao colóide, diminuindo em função da distância até que um equilíbrio seja atingido. De maneira similar, existe uma carência de íons negativos (chamados co-íons) ao redor da camada compacta, uma vez que os mesmos são repelidos pela carga negativa do colóide. A concentração vai gradativamente aumentando em função da distância à medida que as forças repulsivas do colóide diminuem, até que um equilíbrio seja atingido. O

conjunto das camadas, compacta e difusa, resulta na denominada dupla camada elétrica (DCE), conforme ilustrado na Figura 11. A concentração de íons em solução definirá a espessura da camada. Assim, o aumento de íons em solução gera a "compressão da dupla camada elétrica". O potencial zeta, que é o potencial no plano de cisalhamento situado entre uma partícula em movimento e o líquido circundante, é uma maneira eficiente de controle do comportamento dos colóides. Ele indica alterações no potencial superficial dos colóides e nas forças de repulsão dos mesmos (Hunter, 1981).

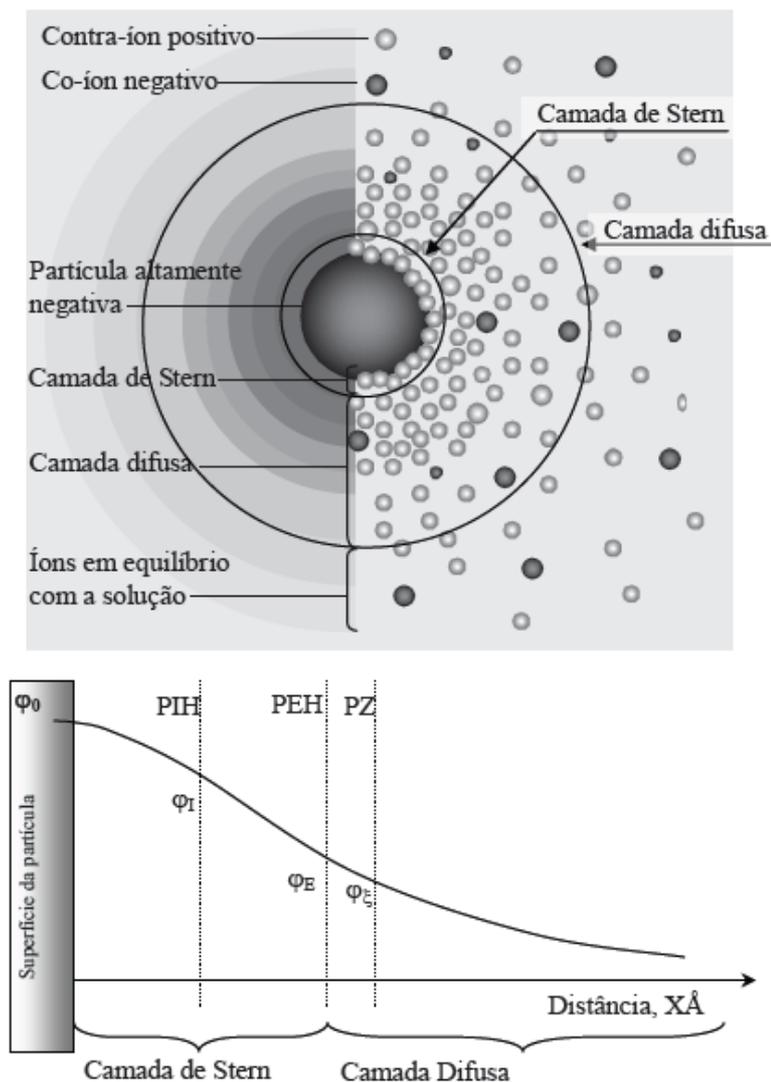


Figura 11. Representação esquemática do modelo da dupla camada elétrica e dos planos de adsorção. Fonte: (<http://www.zeta-meter.com/redchile.pdf>.)

- **Teoria DLVO – Balanceamento de Forças**

Teoria desenvolvida pelos cientistas Derjaguin, Landau, Verwey e Overbeek, cujo nome é composto pelas iniciais de seus nomes (DLVO) (Adamson, 1990), representa a interação resultante de duas forças opostas, as forças eletrostáticas de repulsão (DCE) e as forças de atração (Van der Waals). Segundo esta teoria a estabilidade do sistema depende das forças de interações repulsivas superarem as forças de atração de Van der Waals. Esta teoria é aplicada somente aos sólidos que não modificam as propriedades estruturais da água.

Coagulação e floculação no tratamento de águas

A coagulação e a floculação são processos físico-químicos que provocam a aglomeração de impurezas suspensas facilitando a sua remoção (Bratby, 1980). Podemos definir coagulação como a desestabilização da dispersão coloidal devido à compressão ou redução da dupla camada elétrica (Weber, 1972). Este conceito também é aplicado para a desestabilização pela adição de eletrólitos hidrolisáveis como Al^{3+} ou Fe^{3+} . A floculação corresponde à agregação dos coágulos através do uso de polímeros orgânicos de alto peso molecular.

Segundo Bratby (1980) os principais mecanismos que atuam na agregação das partículas são a compressão da dupla camada elétrica, a neutralização de cargas, a varredura e a formação de pontes.

- **Compressão da dupla camada elétrica**

O mecanismo de coagulação é o que promove a desestabilização das partículas coloidais através da adição de grande quantidade de íons de carga contrária. Segundo a teoria DLVO (balanceamento de forças) isto resulta em uma diminuição ou eliminação da barreira de energia repulsiva. Esse processo apenas comprime/diminui a área de influência ao redor do colóide sem necessariamente reduzir a carga do mesmo. A seguir é descrito o modelo da dupla camada elétrica e a teoria DLVO.

- **Neutralização de Cargas**

A neutralização é uma maneira prática de diminuir a barreira de energia repulsiva e formar flocos estáveis. O eletrólito carregado é adsorvido sobre a superfície do colóide resultando em uma carga líquida próxima a zero.

- **Varredura ou aprisionamento**

Neste mecanismo os colóides são aprisionados no floco do precipitado metálico sendo literalmente "varridos" do meio. Como a quantidade de coagulante é adicionada em excesso normalmente os sais de ferro ou alumínio precipitam na forma de hidróxido.

- **Mecanismo de pontes**

O floculante utilizado captura o colóide e depois se liga a outros formando uma malha entrelaçada mantendo todos unidos. Os principais polímeros utilizados são as poliamidas, poliácridamidas e polióxido de etileno. Quanto maior o peso molecular do floculante melhor é a formação de pontes.

3.4.1 Ensaio de Coagulação

Os testes de coagulação e floculação são utilizados para determinar a dosagem ótima de coagulante e floculante para a desestabilização de uma suspensão coloidal. Das diversas variáveis controladas nos testes de coagulação e floculação, o ajuste do pH é o mais importante. Os resultados físico-químicos e econômicos permitem determinar a melhor concentração a ser utilizada.

Nos sistemas de tratamento de água predominam os processos de coagulação com sais trivalentes. A coagulação por sais trivalentes, ou divalentes, ocorre por um mecanismo diferente dos sais monovalentes, pois, além do efeito da compressão da dupla camada elétrica, os sais hidrolisados formam complexos tridimensionais poliméricos ou oligoméricos com vários extremos ativos (Menezes, 2009). Essas moléculas podem modificar a carga dos colóides

favorecendo a adsorção de íons na matriz do precipitado. Na Tabela 05 são apresentadas as reações de hidrólise do alumínio e do ferro no processo de coagulação.

Tabela 05. Reações de hidrólise do alumínio e do ferro no processo de coagulação.
Fonte: Adaptado Menezes, 2009.

Reações de hidrólise do alumínio (Al^{3+})	Reações de hidrólise do ferro (Fe^{3+})
$\text{Al}^{3+} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Al}(\text{OH})^{2+} + \text{H}^+$ $\text{Al}(\text{OH})^{2+} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Al}(\text{OH})_2^+ + \text{H}^+$ $\text{Al}(\text{OH})^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Al}(\text{OH})_3 + \text{H}^+$ $\text{Al}(\text{OH})_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Al}(\text{OH})_4^- + \text{H}^+$	$\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{FeOH}^{2+} + \text{H}^+$ $\text{Fe}^{3+} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_2^+ + 2\text{H}^+$ $2\text{Fe}^{3+} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}_2(\text{OH})_2^{4+} + 2\text{H}^+$ $\text{Fe}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_{3(\text{aq})} + 3\text{H}^+$ $\text{Fe}^{3+} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_4^- + 4\text{H}^+$ $\text{Fe}^{3+} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}_3(\text{OH})_4^{5+} + 4\text{H}^+$ $\text{Fe}(\text{OH})_{3(\text{s})} + 3\text{H}^+ \rightarrow \text{Fe}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O}$

A adição de sais de alumínio e de ferro diminui o pH da solução, sendo necessário o ajuste de pH até o valor desejado. Os reagentes mais empregados no ajuste de pH são o hidróxido de sódio (NaOH) e o hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Em muitos casos, também são adicionados floculantes para aumentar a velocidade de sedimentação auxiliando na etapa de separação sólido-líquido. Dependendo da suspensão coloidal a ser tratada são utilizados floculantes aniônicos, catiônicos e não-iônicos.

O tipo de mistura aplicado no processo é importante. A agitação rápida é responsável pela difusão dos reagentes e pela quebra da barreira energética repulsiva entre reagentes e entre partículas. A energia do processo de agregação dos colóides é realizada pelo movimento browniano ou pela indução de gradientes de velocidade no sistema.

Após a coagulação/floculação é necessária a separação das partículas agregadas do meio líquido. A sedimentação, ou decantação, é o processo de separação sólido-líquido geralmente empregado nos sistemas primários de tratamento de efluentes industriais (Solari, 1981).

3.4.2 Coagulantes Comerciais

No Brasil, os principais coagulantes comerciais empregados para o tratamento de águas e efluentes são o sulfato de alumínio, cloreto de alumínio, cloreto férrico e mais recentemente o

sulfato férrico (Bratby, 1980; Metcalf e Eddy, 2003). Esses reagentes podem ser comercializados na forma líquida ou sólida. Segundo a ABIQUIM (2006) existem, no Brasil 14 indústrias atuando na fabricação de sulfato de alumínio, 6 empresas de cloreto férrico e 3 de sulfato férrico.

O sulfato de alumínio é aplicado principalmente no tratamento de água para abastecimento público (Figura 12). Ele é produzido a partir da bauxita ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), reagindo diretamente com o ácido sulfúrico a 66° Bé. A bauxita passa pelo processo Bayer gerando hidróxido de alumínio que posteriormente reage com ácido sulfúrico para a formação do sulfato de alumínio.



Figura 12. Estação de tratamento de água em Porto Alegre/RS.

O cloreto férrico também é um coagulante inorgânico à base de ferro trivalente, bastante eficiente nas operações de coagulação. É muito utilizado para o tratamento de água potável, esgotos domésticos, porém bastante corrosivo podendo danificar tubulações e equipamentos metálicos. O cloreto férrico é, na maioria das vezes, obtido pela reação do ácido clorídrico com minério de ferro de alta pureza.

O sulfato férrico é equivalente ao cloreto férrico quanto ao poder de coagulação com a vantagem de ter um menor custo e apresentar menor corrosão nas instalações de estações de tratamento (Menezes, 2009). Ele é obtido pela reação do minério de ferro ou sucata com ácido sulfúrico a 66° Bé sob aquecimento a uma temperatura de aproximadamente 90°C. O ferro fica

em contato com o ácido sulfúrico até que se obtenha uma solução de sulfato férrico com uma concentração de ferro (Fe^{3+}) entre 9-17%.

Atualmente a sucata ferrosa é utilizada para a produção de coagulantes férricos (Menezes *et al.*, 2007; Menezes, 2009). Neste processo, caso haja a falta de cuidado na seleção da sucata, pode haver a produção de reagentes contaminados com metais indesejados, tais como chumbo, cromo, níquel, cobre e zinco (Menezes, 2009).

Existe uma tendência de substituição dos sais de alumínio por sais de ferro como agentes coagulantes em operações de tratamento de águas e efluentes. A presença de concentrações residuais de alumínio na água potável tem sido relacionada a doenças neurológicas (ACWA, 2000; Walton, 2006).

Pesquisas recentes demonstraram que é possível produzir coagulantes férricos a partir da lixiviação da pirita presente em rejeitos de carvão (Menezes *et al.*, 2007; Menezes, 2009). O processo ocorre por via hidrometalúrgica gerando uma lixívia rica Fe^{+3} e SO_4^{-2} . Nos estudos conduzidos por esses autores, empregando o método de lixiviação em células úmidas (ASTM, 1996), chegou-se a uma solução com 15 g.L^{-1} de ferro total. Esse valor está aquém do exigido para comercialização, que é da ordem 120 g.L^{-1} . Ainda, no trabalho inicial, não foram controladas as condições microbiológicas envolvidas no processo.

Além do uso como coagulante para o processo de tratamento de águas e efluentes, o sulfato férrico também é utilizado no processo de tingimento como mordente, na produção de pigmentos, em banhos de decapagem para alumínio e aço. O sulfato férrico também pode ser utilizado como adstringente na medicina e como agente oxidante para liberar ouro ou outros metais de sulfetos metálicos.

4 EXPERIMENTAL

São apresentados neste capítulo os materiais e os métodos empregados nos ensaios de lixiviação para a obtenção do sulfato férrico e para sua aplicação como coagulante. Os ensaios em escala de bancada e as análises químicas e biológicas foram realizadas no Laboratório de Estudos Ambientais para Metalurgia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

4.1 Materiais

A seguir são descritas as informações sobre as amostras, os equipamentos e os reagentes utilizados durante a realização deste trabalho.

4.1.1 Rejeito de Carvão

O concentrado de pirita foi fornecido pela Carbonífera Criciúma S.A. de sua Unidade de Mineração (UM-II), no município de Forquilha, em Santa Catarina. A amostragem foi realizada em uma pilha de rejeitos tendo um plano de coleta cauteloso e seguindo os procedimentos recomendados pela NBR 10 007 (ABNT, 2004) considerando características prévias de variabilidade das amostras. Para a execução dos ensaios de lixiviação esse material foi britado até atingir a granulometria entre 2-6 mm e após foi realizado o quarteamento.

4.1.2 Água de Recirculação

A água utilizada para a recirculação do sistema lixiviação foi água destilada/deionizada/ que previamente foi autoclavada em temperatura de 120°C durante 20 minutos. A água evaporada dos ensaios de lixiviação foi completada até 1L com as mesmas características anteriormente mencionadas.

4.1.3 Drenagem Ácida de Minas, Inóculo de Bactérias

A amostra de drenagem ácida de minas (DAM) é proveniente da percolação de águas pluviais de um depósito de rejeito de mineração de carvão da região carbonífera de Santa Catarina. Esta amostra foi coletada e acondicionada em um recipiente de polietileno de alta densidade (PEAD). Posteriormente, foi transportada ao laboratório onde foi armazenada e caracterizada química e biologicamente. As características da DAM utilizada são demonstradas na Tabela 06.

Tabela 06. Características da DAM utilizada para fazer o inóculo.

Parâmetros	DAM Bruta
Vazão, m ³ .h ⁻¹	50
pH	2,8
Fe Total, g.L ⁻¹	5,6
Al, g.L ⁻¹	1,2
Ca, mg.L ⁻¹	158
Mn, mg.L ⁻¹	90
Zn, mg.L ⁻¹	59
SO ₄ ⁻² , g.L ⁻¹	39
<i>A. ferrooxidans</i> , m.L ⁻¹	6,8x10 ⁻⁵

O inóculo das bactérias foi obtido a partir da DAM descrita anteriormente. A preparação do inóculo foi realizada da seguinte maneira: de um recipiente de 100L homogeneizado de drenagem ácida de minas foi retirada uma alíquota de 250 mL e cultivada em meio 9K, em seguida foi aplicada a técnica de esgotamento, diluições em meio 9K. Antes de serem inoculadas as bactérias *Acidithiobacillus ferrooxidans* elas foram quantificadas pelo método do NMP (Beliaeff, 1995; Trajstman, 1996; APHA, 2005).

Para a coleta, esterilização, preparação do meio de cultura, preservação e armazenamento foram seguidas as orientações do APHA, 2005 (9030; 9030; 9040; 9050 e 9060) para ensaios microbiológicos.

4.1.4 Micronutrientes

Neste trabalho foi utilizada a solução A do meio “9K”, um meio específico para a contagem de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, como fonte de micro-nutrientes do sistema com a seguinte composição: $3,0\text{g.L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$; $0,5\text{g.L}^{-1}$ K_2HPO_4 ; $0,5\text{g.L}^{-1}$ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $0,1\text{g.L}^{-1}$ KCl.

4.1.5 Água do Guaíba e Efluente Sintético

Nos ensaios de tratamento de água para abastecimento público foi empregada a água bruta do Lago Guaíba. A amostra foi coletada próximo a um ponto de captação de água bruta do tratamento de água de Porto Alegre. A amostra foi coletada no verão e os ensaios de coagulação foram realizados no mesmo dia da coleta da amostra.

Foi utilizada, também, uma solução de bentonita de $0,3\text{mg.L}^{-1}$, com o objetivo de simular com um efluente sintético e sem variações nas sua composição conforme as condições ambientais.

4.1.6 Reagentes Analíticos e Comerciais

Foi utilizado nos testes para o tratamento de água, o sulfato férrico comercial fornecido pela empresa Companhia industrial Eletroquímica (CIEL). O pH nos ensaios foi ajustado com hidróxido de sódio p.a. Os demais testes de coagulação foram realizados com os concentrados de ferro obtidos nas diferentes condições experimentais deste trabalho. Todos os demais reagentes empregados nas análises deste trabalho foram de grau analítico.

4.2 Equipamentos

Para o desenvolvimento deste estudo foram construídos quatro (4) reatores idênticos de escala laboratorial empregando quatro (4) colunas de vidro cilíndricas, com altura de 30 cm e diâmetro de 7 cm. Além disso, foi utilizado um béquer como um tanque de recirculação do material lixiviado em fluxo descendente. As partes integrantes deste reator são descritas abaixo e demonstradas na Figura 13.

- Difusor: Frasco de polietileno de 250 mL perfurado uniformemente com 20 furos de 3 mm de diâmetro na parte inferior do frasco.
- Coluna de lixiviação: Coluna de vidro cilíndrica, com altura de 30 cm e 7 cm diâmetro.
- Bomba de recirculação: Bomba peristáltica Sarle modelo 180 resistente à acidez do meio.
- Recipiente do lixiviado: Béquer de vidro de 2L foi utilizado como depósito do concentrado.
- Sistema de recirculação: Mangueira flexível de látex resistente à acidez e corrosão e uma bomba peristáltica.

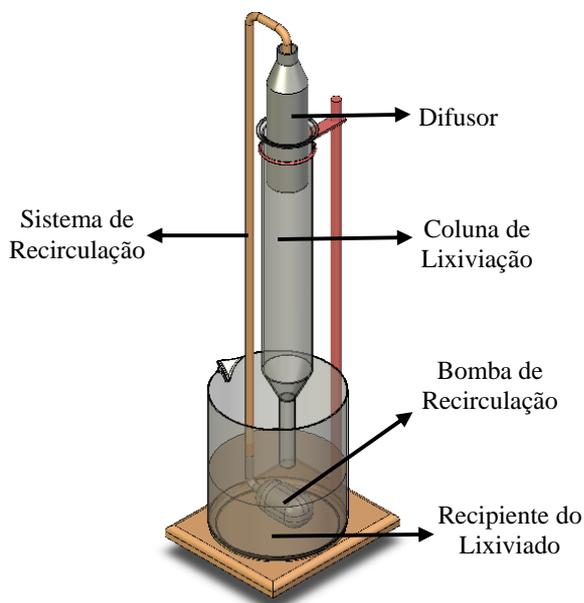


Figura 13. Reator de escala laboratorial para ensaios de lixiviação.

Os equipamentos utilizados neste trabalho para as análises físicas, químicas e microbiológicas estão listados na Tabela 07.

Tabela 07. Equipamentos utilizados nas análises físicas, químicas e biológicas.

Equipamento	Marca	Modelo
Agitador magnético	Tecnal	E085
Analizador CHNS	Elementar	Vario Macro
Aparelho <i>Jar-test</i>	Policontrol	Floc Control II
Autoclave	Phoenix	AV 75
Balança analítica	Leco	Leco-250
Bomba à Vácuo	Fanem Ltda.	A
Capela de fluxo laminar	Quimis	-
Chapa de aquecimento	Jung	400
Centrífuga	Fanem Ltda.	206-R
Condutivímetro	Analion	C 702
Difratômetro de raio X	Siemens	D5000
Espectrofotômetro de absorção atômica	Varian	FS 240
Espectrômetro de fluorescência de raios X	Rigaku	Rix 2000
Espectrofotômetro UV-Visível	Hach	DR 2800
Estufa	De Leo	009
Estufa Bacteriológica	Tecnal	TE-392-1
Forno-Mufla	Quimis	-
Mesa Agitadora	Tecnal	TE-420
Microscópio Eletrônico de Varredura	Jeol	JSM 5800
Microscópio Óptico	Meiji Techno CO LDT	-
Moinho planetário	Fritsc	Pulverisette 5
pH-metro	Digimed	DMPH-2
Oxímetro	InstruTerm	MO 900
Turbidímetro	Servilab	TB 1000

Na Figura 14 é apresentado um fluxograma da metodologia aplicada no trabalho para a obtenção de sulfato férrico.

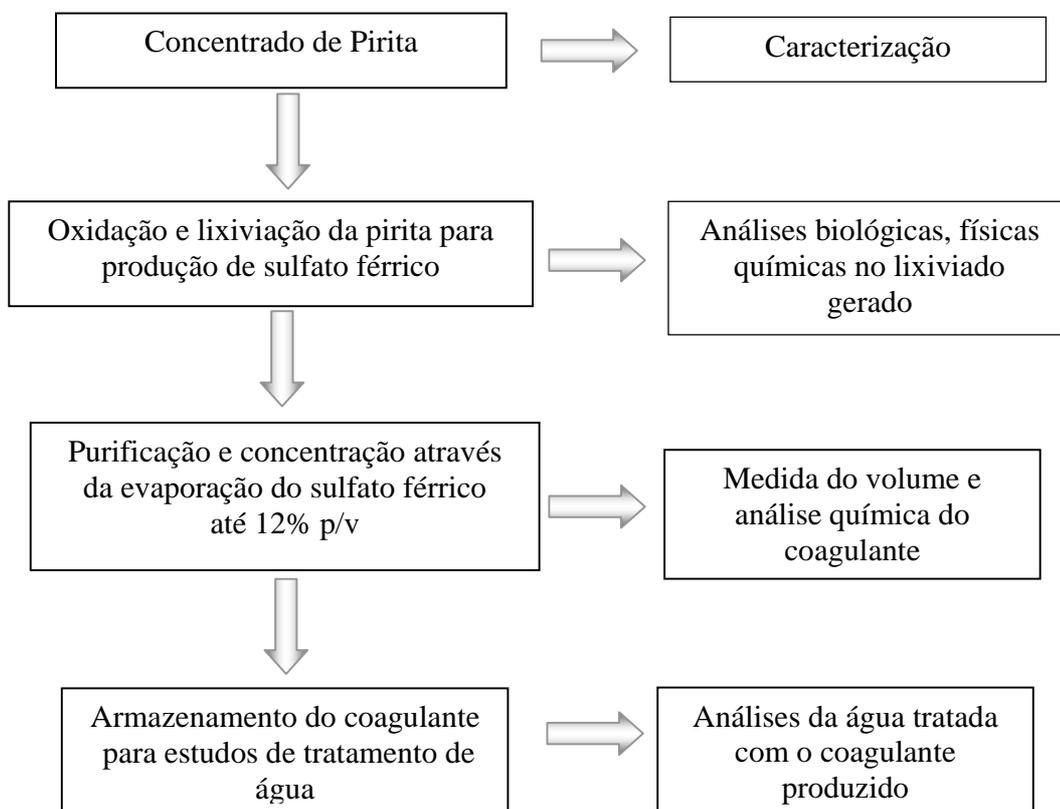


Figura 14. Fluxograma da produção do coagulante sulfato férrico a partir do rejeito de carvão.

Foram construídos quatro reatores de escala laboratorial em diferentes condições: estéril, natural, inóculo e inóculo com micro-nutrientes.

Inicialmente todo o material utilizado na montagem do estudo experimental foi previamente esterilizado em autoclave a 121°C por 20 minutos. Após, foi realizada a construção dos reatores com os materiais de suas partes integrantes: difusor, coluna de lixiviação, bomba de recirculação, recipiente do lixiviado e sistema de recirculação. Após a montagem completa dos quatro reatores, estes foram recheados com um quilograma de rejeito de carvão na coluna de lixiviação (reator de leito empacotado). No sistema de coleta representado pelo béquer de dois litros foi colocado um litro de água de recirculação (destilada/deionizada/autoclavada). Antes do

início do ensaio o carvão foi lavado com água destilada/deionizada/autoclavada para a remoção dos finos de carvão.

A distribuição uniforme da água de recirculação foi realizada pelo difusor na parte superior da coluna de leito empacotado sobre o rejeito de carvão. A água de recirculação então escoava internamente pelo rejeito de carvão da coluna de lixiviação à uma vazão de $2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Após passar pelo leito de rejeito, o líquido concentrado no recipiente (béquer) foi novamente conduzido à recirculação através de uma bomba de recirculação e mangueira que conduz o líquido até o difusor. Uma parcela de água de recirculação permanecia no béquer, outra no sistema de recirculação (bomba ou mangueiras) e a outra escoando pelo rejeito. Este ensaio foi mantido recirculando durante oito semanas. A cada semana era reposta a água de recirculação evaporada naturalmente, e coletadas as amostras para análise.

As quatro colunas utilizadas nos experimentos (Figura 15) foram montadas seguindo as condições relacionadas:

- (a) Estéril: inicialmente o rejeito de carvão foi esterilizado;
- (b) Natural: o rejeito de carvão não esterilizado e utilizado *in natura* assim como é disposto nos depósitos de rejeito (área industrial);
- (c) Inóculo: Foi utilizado o rejeito de carvão não esterilizado como nos depósitos de rejeito (área industrial) foi utilizado 10 mL de inóculo com uma concentração de 10^5 bactérias *Acidithiobacillus ferrooxidans* por mL. O inóculo foi adicionado utilizando uma pipeta volumétrica de 10mL.
- (d) Inóculo com Micro-nutrientes: Foi utilizado o rejeito de carvão não esterilizado como nos depósitos de rejeito (área industrial) e foi utilizado 10 mL de inóculo contendo 10^5 bactérias *Acidithiobacillus ferrooxidans* por mL. Também foram adicionados os micronutrientes da solução A do meio 9K necessários para a reprodução e crescimento das bactérias e proporcionadas as condições ideais de temperatura, 30°C durante todo o processo, através de banho-maria.



Figura 15. Reatores empregados nos ensaios de lixiviação.

4.3 Análises

4.3.1 Caracterização do Rejeito de Carvão

O concentrado de pirita foi caracterizado em relação ao teor de enxofre, composição mineralógica e análise imediata. O teor de enxofre total foi medido em um analisador Leco SC-432 e também pelo analisador CHNS. O enxofre pirítico e sulfático foi determinado por via úmida conforme descrição na norma ISO 157 (1996). O enxofre orgânico foi calculado a partir da subtração do valor do enxofre pirítico e sulfático do valor do enxofre total. A análise mineralógica foi realizada por difração de raio x. Na análise imediata foram avaliados os seguintes parâmetros; cinzas, matéria volátil, e carbono fixo (ABNT, 1983a, ABNT, 1983b). Os valores obtidos foram corrigidos em relação ao teor de umidade, medida pela secagem de 1,0g de amostra por 1hora a 110°C, conforme a norma NBR 8293 (ABNT, 1983c).

4.3.2 Monitoramento do Processo de Lixiviação

O lixiviado produzido foi coletado e analisado durante dois ciclos de oito semanas e a cada semana conforme a relação de análises mostradas na Tabela 08.

Tabela 08. Análises realizadas no concentrado obtido a cada semana nos ensaios de lixiviação.

Parâmetro	Método	Equipamento
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	Técnica 9221C*	Técnicas Microbiológicas
Bactérias aderidas	Microscopia Eletrônica de Varredura	Jeol – JSM 5800 Scanning Microscope
Condutividade	Técnica 2510*	Condutivímetro portátil modelo C702 Analion
Cor	Técnica 2120*	Equipamento HACH Digital Reactor Block 200
Eh (potencial redox)	Técnica 2580*	pHmetro Digimed DMPH-2
Ferro divalente	Técnica Ohlweiler (Ref. 2 e 3)	Titulação via úmida
Ferro total	Espectrometria de absorção atômica chama	Varian Modelo AA240FS
Ferro trivalente	Cálculo realizado pela diferença entre o ferro total e o Fe ²⁺ .	-
Metais (Al, Ca, Mg, Pb, Zn)	Espectrometria de absorção atômica chama	Varian Modelo AA240FS
Oxigênio dissolvido	Técnica 4500-O*	Equipamento Instrutherm MO-900
pH	Técnica 4500*	pHmetro Digimed DMPH-2
Sulfato	Técnica 4500C e 4500E*	Turbidímetro Servilab ou Mufla
Temperatura	Técnica 2550*	Termômetro
Turbidez	Técnica 2130*	Medidor de Turbidez Hayonix

* APHA, 2005.

4.3.3 Diversidade de Bactérias Acidofílicas e Quantificação de *A. ferrooxidans*

Para as análises da presença de outras bactérias acidofílicas na DAM e na amostra de lixiviado dos reatores, foram utilizados os meios específicos obtidos a partir do APHA, 2005. Para cada teste foi adicionado 1 mL de solução em 9 mL de meio de cultura específico. Foram utilizadas as seguintes condições identificadas na Tabela 09.

Tabela 09. Teste da presença de bactérias acidofílicas na DAM.

Micro-organismo	Meio de Cultura	Temperatura Ideal de Crescimento
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	9K	30-35°C
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	Starkey	28-30°C
<i>Acidithiobacillus organoparus</i> (<i>A. acidophilus</i>)	9K enriquecido com glicose	27-30°C
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	Norris & Kelly	30°C
<i>Sulfolobus spp.</i>	Allen modificado	55-85°C
<i>Acidianus spp.</i>	Allen modificado	45-75°C
<i>Acidiphilium spp.</i>	Meio para <i>Acidiphilium</i>	31-41°C

A quantificação das bactérias *Acidithiobacillus ferrooxidans* foi realizada pelo método de tubos múltiplos. O pH da solução foi ajustado a 2,8 com H₂SO₄ e em seguida foi esterilizada em autoclave durante 20 minutos a 121°C. A solução B foi composta de 44,8 g FeSO₄.7H₂O. O pH final foi ajustado para 2,8 e filtrada em membrana (0,45 µm de diâmetro de poro). Após preparados os meios A e B, elas são utilizadas na proporção 7:3, respectivamente. O crescimento da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* foi visualizado por uma mudança de cor no meio. A coloração inicial é verde claro que passa para um castanho-avermelhado com precipitados caso os tubos sejam positivos para *A. ferrooxidans*. Tais mudanças são indicativas de oxidação completa de íon Fe²⁺ a Fe³⁺.

4.2.4 Produção do Coagulante

Com o objetivo de alcançar concentração de ferro similar ao reagente sulfato férrico comercial, as amostras obtidas do concentrado de ferro foram evaporadas até a concentração de 12% após o ciclo de oito semanas de lixiviação do primeiro ciclo.

Com a finalidade de purificar o reagente obtido antes da evaporação foi realizada uma filtração em membrana de 0,45µm auxiliada por uma bomba à vácuo. A evaporação foi

conduzida lentamente em uma chapa de aquecimento em banho-maria em temperatura de 30-35°C. As análises realizadas com o coagulante evaporado estão descritas na Tabela 10.

Tabela 10. Análises realizadas no coagulante 12mg.L⁻¹ em ferro.

Parâmetro	Método	Equipamento
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	Técnica 9221C*	-
Carbono Orgânico Total	Técnica Instrumental	StarTOC®
Carbono Orgânico	Técnica Instrumental	StarTOC®
Ferro divalente	Técnica Ohlweiler (Ref. 2 e 3)	Titulação via úmida
Ferro total	Espectrometria de absorção atômica de chama	Varian Modelo AA240FS
Ferro trivalente	Cálculo realizado pela diferença entre o ferro total e o Fe ²⁺ .	-
Metais (Al, Ca, Mg, Pb, Zn)	Espectrometria de absorção atômica de chama	Varian Modelo AA240FS
pH	Técnica 4500*	pHmetro Digimed DMPH-2
Sulfato	Técnica 4500E*	Turbidímetro Servilab ou Mufla

4.3.5 Ensaios de Coagulação

Para os testes de coagulação realizados com o produto gerado a partir da coluna de lixiviação com inóculo das bactérias da DAM e micro-nutrientes, foi realizado em um teste de jarros (Jar Test). Foi utilizada uma solução de bentonita preparada em concentração de 0,3 mg.L⁻¹ e a água bruta coletada do Lago Guaíba. As condições de agitação promovidas para a formação dos coágulos foram as seguintes: 1 minuto de agitação a 120 rpm (rotações por minuto) e 5 minutos a 30 rpm. Posteriormente, foram mantidos 10 minutos de sedimentação para a coleta de amostra. O líquido sobrenadante, após o tempo de sedimentação, foi retirado para as análises de turbidez. Na Tabela 11 são apresentadas as análises realizadas na água tratada.

Tabela 11. Análises realizadas na água tratada do Lago Guaíba e no efluente sintético contendo bentonita 0,3 mg.L⁻¹.

Parâmetro	Método	Equipamento
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	Técnica 9221C*	-
Cor	Técnica 2120*	Equipamento HACH Digital Reactor Block 200
Ferro divalente	Técnica Ohlweiler (Ref. 2 e 3)	Titulação via úmida
Ferro total	Espectrometria de absorção atômica chama	Varian Modelo AA240FS
Ferro trivalente	Cálculo realizado pela diferença entre o ferro total e o Fe ²⁺ .	-
Metais (Al, Ca, Mg, Pb, Zn)	Espectrometria de absorção atômica chama	Varian Modelo AA240FS
pH	Técnica 4500*	pHmetro Digimed DMPH-2
Sulfato	Técnica 4500C e 4500E*	-
Turbidez	Técnica 2130*	Medidor de Turbidez Hayonix

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização do Rejeito de Carvão

O concentrado de pirita (obtido a partir do rejeito de carvão), após as operações de moagem e peneiramento, foi submetido a uma caracterização incluindo análise imediata, análise de enxofre (total, pirítico, sulfático e orgânico), difração de raios x e microscopia eletrônica de varredura aliada à análise de EDS (análise química elementar).

Os resultados da análise imediata e de enxofre são mostrados na Tabela 12. Pode-se observar que o material apresenta 27,3% de enxofre total, sendo que 99,6% são de enxofre pirítico e 0,4% enxofre sulfático. Assim, o teor de pirita na amostra foi calculado em 50,6%, sendo este o composto cristalino majoritário, conforme análise de difração de raios x apresentada na Figura 16.

Tabela 12. Análises do rejeito de carvão.

Parâmetros, %	Rejeito de Carvão
Carbono fixo	11,7
Cinzas	67,4
Materiais voláteis	20,9
Umidade higroscópica	2,7
Enxofre sulfático	0,1
Enxofre pirítico	27,2
Enxofre orgânico	0,0
Enxofre total	27,3

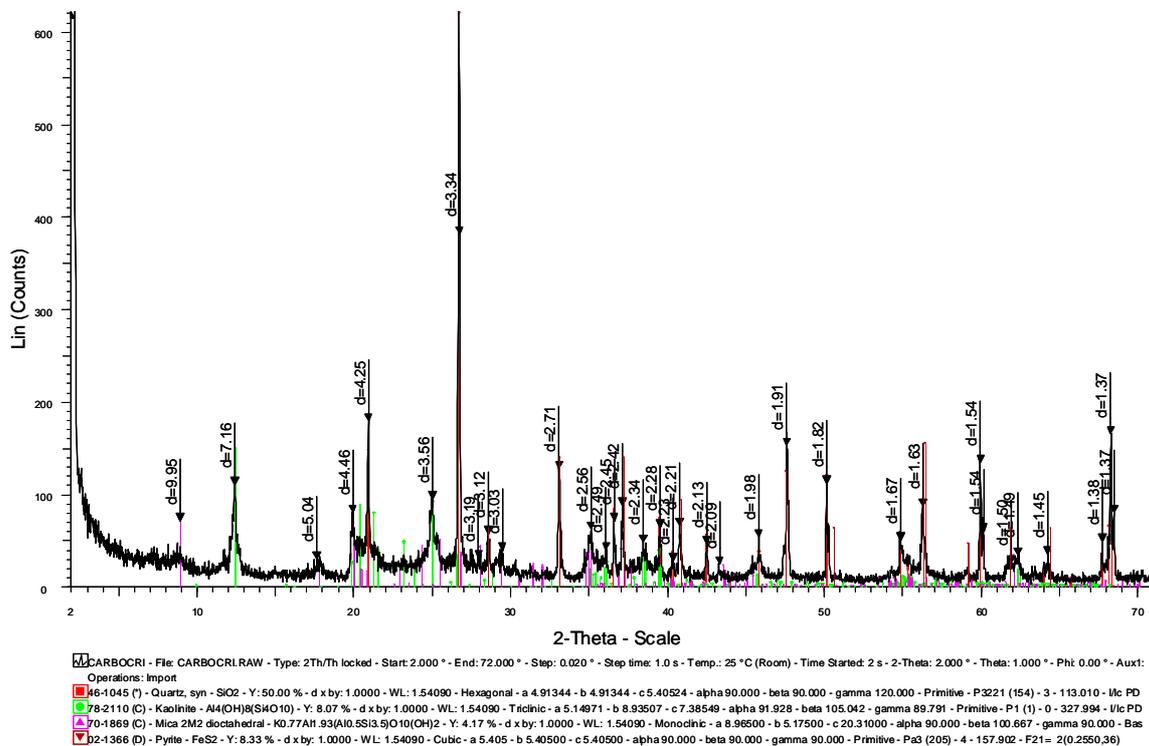


Figura 26. Análise de difração de raio-x do rejeito de carvão.

Foram realizadas fotomicrografias com o material para análise morfológica e também a composição química provável em um ponto da superfície. As Figuras 17 mostra uma fotomicrografias em pontos diferentes da superfície. Na Figura 18 é mostrada uma análise elementar por EDS em um ponto da amostra. Além do pico de platina (Pt), referente ao recobrimento do material para análise, os elementos presentes majoritários foram o ferro (Fe) e enxofre (S). Identificou-se também silício (Si), alumínio (Al), potássio (K) e oxigênio (O).

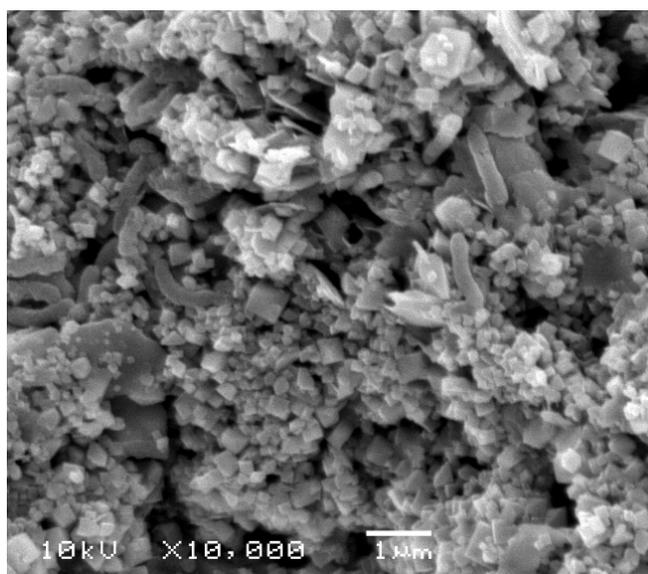


Figura 17. Imagem obtida em MEV de um grão de rejeito de carvão antes dos ensaios de lixiviação. O comprimento da barra (escala) é equivalente a 1µm e a magnificação é de 10 000x.

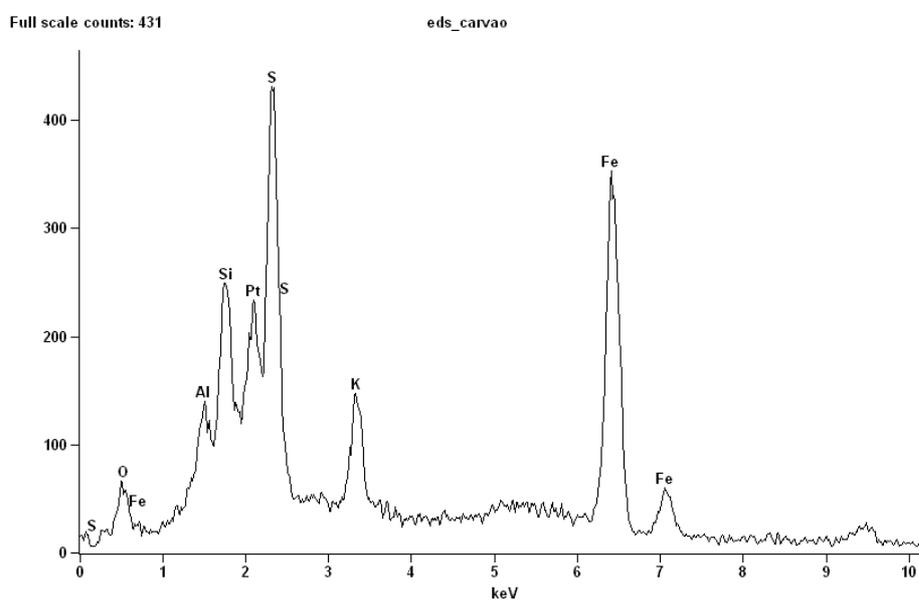


Figura 18. Análise química qualitativa de um grão do rejeito de carvão.

5.2. Ensaio de Biolixiviação

Os ensaios de biolixiviação foram conduzidos em 4 colunas empregando as seguintes condições: (a) condições estéreis, (b) em condições não estéreis (natural), (c) em condições não estéreis e com adição de inóculo bacteriano e (d) em condições não estéreis com inóculo bacteriano e micro-nutrientes. Cada coluna foi operada por dois ciclos de lixiviação, cada um com 8 semanas. Os resultados obtidos em cada um dos ciclos estão descritos a seguir.

5.2.1 Primeiro Ciclo

A Figura 19 mostra os resultados do acompanhamento semanal do pH do processo de lixiviação nas quatro colunas ao longo das oito semanas do experimento de lixiviação do 1º ciclo. Pode-se observar que o pH diminuiu em todas as colunas com o passar do tempo. Porém, houve um decréscimo maior nas colunas onde as condições de crescimento bacteriano foram favorecidas. A redução do pH foi mais marcante nas 2 semanas iniciais, chegando a valores próximos ou abaixo de 2,0. Nas semanas seguintes, o pH manteve-se praticamente constante, sempre abaixo de 2,0, condição ideal para a atuação das bactérias acidofílicas (Kontopoulos, 1998). Segundo Lundgren *et al.* (1972) o pH ideal para o crescimento de *Acidithiobacillus ferrooxidans* é entre 1,5 e 2,0. Em relação ao Eh (Figura 20), foi possível observar que houve um aumento deste parâmetro em todas as quatro colunas, porém maior na coluna onde foi estimulado o crescimento dos micro-organismos. Segundo Garcia e Urenha (2001) potenciais de equilíbrio maiores favorecem a formação de Fe^{3+} . Os mesmos autores revelam que a manutenção de Eh em torno de 750mV contribuem para a geração de um ambiente oxidante que aumenta a eficiência do processo. Ambos os comportamentos, de pH e Eh indicam que a oxidação da pirita tenha acontecido em maior intensidade na coluna onde foi utilizado o inóculo e micronutrientes.

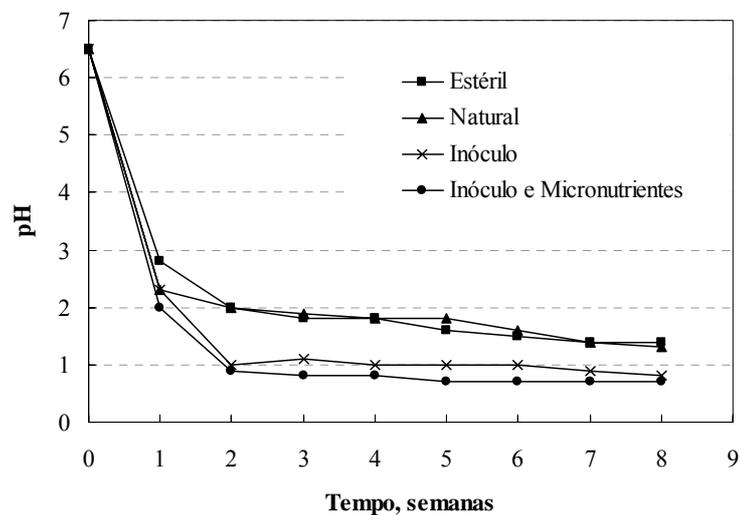


Figura 19. Comportamento do pH do lixiviado em função do tempo no 1º ciclo.

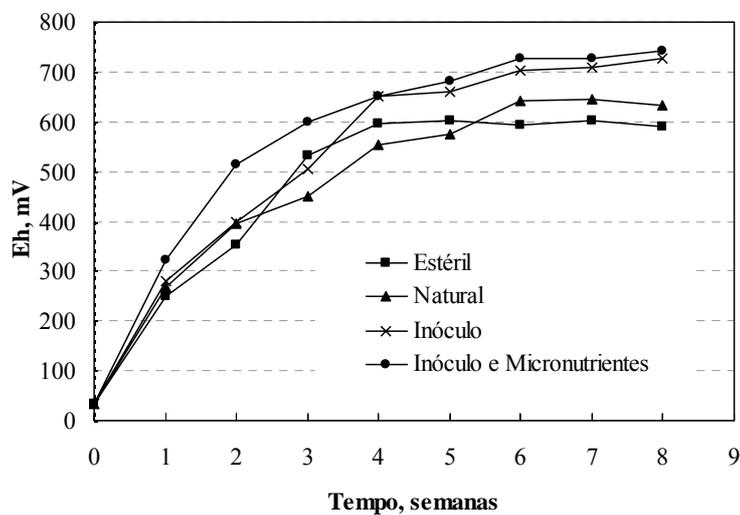


Figura 20. Comportamento do Eh (mV) do lixiviado em função do tempo no 1º ciclo.

As Figuras 21 e 22 mostram, respectivamente, as concentrações de ferro e sulfato na água de lixiviação no decorrer das semanas do 1º ciclo. A oxidação da pirita, com a consequente solubilização do ferro e sulfato, foi maior onde o crescimento microbiano foi favorecido,

insinuando a participação dos microrganismos no processo de biolixiviação. Ao final das 8 semanas, a solubilização de ferro foi 4 vezes maior na coluna com inóculo e micronutrientes do que na coluna estéril; ou, ainda, a solubilização de ferro foi 2 vezes maior do que na coluna com inóculo porém sem micronutrientes.

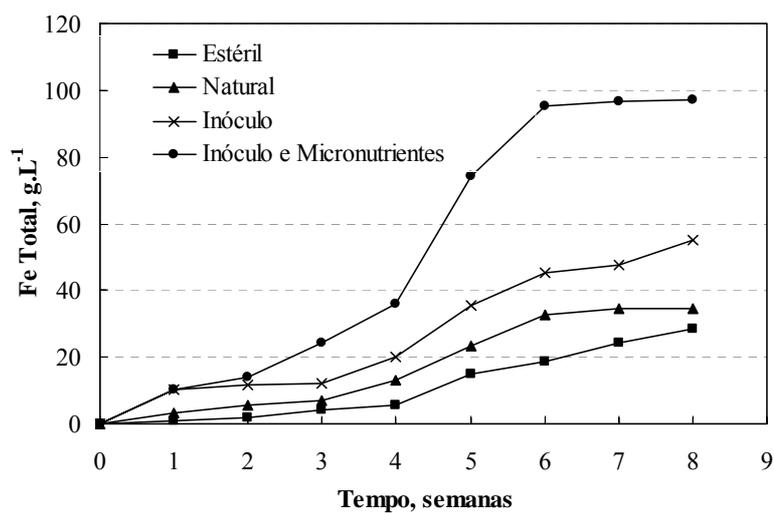


Figura 21. Concentração de ferro total [g.L⁻¹] do lixiviado em função do tempo no 1º ciclo.

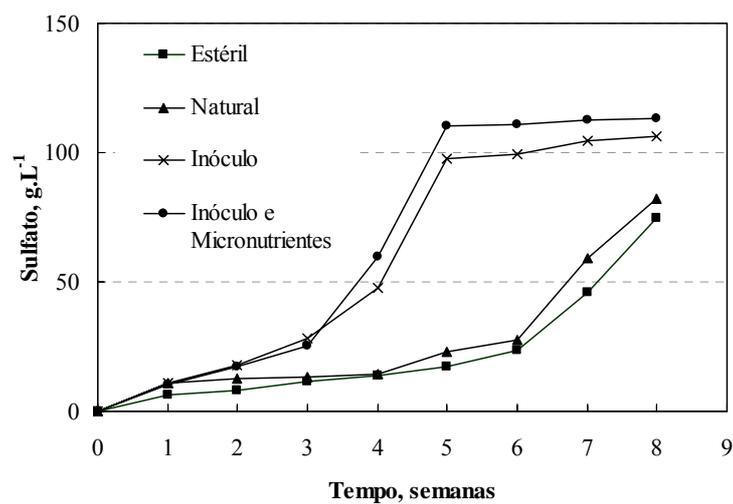


Figura 22. Concentração de sulfato [g.L⁻¹] do lixiviado em função do tempo no 1º ciclo.

O aspecto visual das lixívias ao final da terceira semana do 1º ciclo, Figura 23, indica uma coloração amarelo/alaranjada típica do Fe^{3+} . A intensidade da coloração aumenta na seguinte ordem: (a) condições natural, (b) em condições não estéreis e com adição de inóculo bacteriano e (c) em condições não estéreis com inóculo bacteriano e micronutrientes (d) condições estéreis (natural)

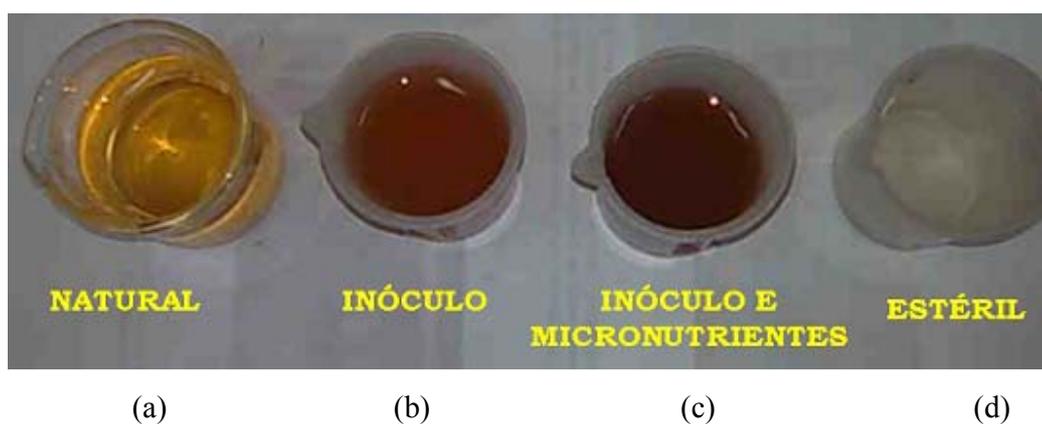


Figura 23. Fotografia mostrando a coloração das lixívias ao final da terceira semana do primeiro ciclo das colunas de biolixiviação.

5.2.2 Segundo Ciclo

A Figura 24 mostra os resultados do acompanhamento semanal no processo de lixiviação nas quatro colunas ao longo das oito semanas do experimento de lixiviação durante o 2º ciclo. Assim, como no primeiro ciclo, o pH do meio reduziu drasticamente já nas primeiras duas semanas de lixiviação, permanecendo constante nas semanas seguintes, sempre em pH abaixo de 2,0. Em relação ao Eh (Figura 25), o comportamento foi semelhante ao primeiro ciclo indicando que a oxidação da pirita teve maior intensidade na coluna onde foi utilizado o inóculo e micronutrientes.

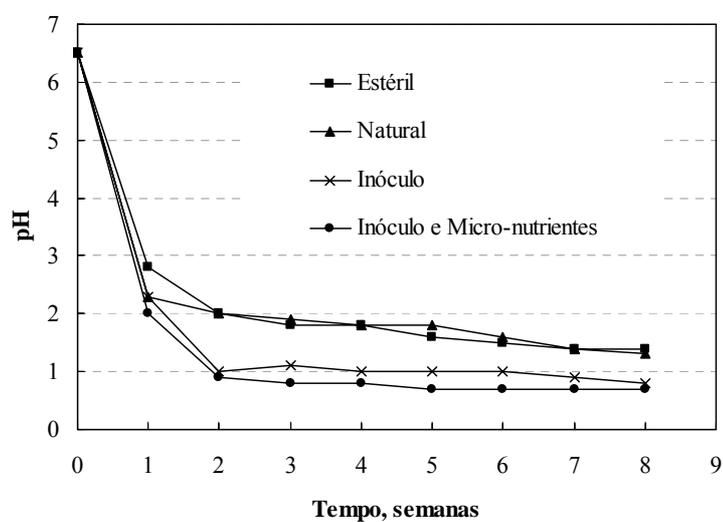


Figura 24. Comportamento do pH do lixiviado em função do tempo no 2º ciclo.

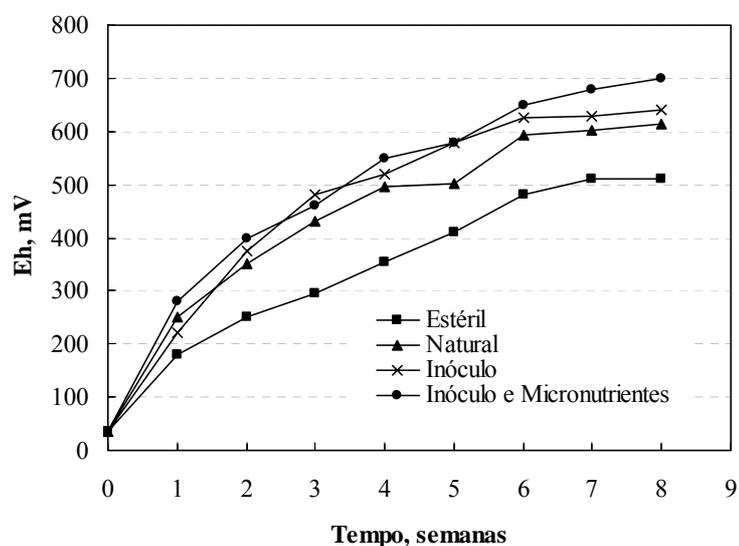


Figura 25. Comportamento do Eh (mV) do lixiviado em função do tempo no 2º ciclo.

As Figuras 26 e 27 mostram, respectivamente, as concentrações de ferro e sulfato na água de lixiviação no decorrer das semanas para os ensaios do 2º ciclo. Da mesma forma como ocorreu no 1º ciclo, a oxidação da pirita, com a conseqüente solubilização do ferro e sulfato, foi

tanto maior quanto maior foi o favorecimento para o crescimento microbiano. Porém, os valores finais de ferro obtidos ao final das 8 semanas foram inferiores aos obtidos ao final do 2º ciclo quando comparados ao 1º ciclo. Por exemplo, na coluna com inóculo e micronutrientes, a concentração de ferro ao final do 1º ciclo chegou a aproximadamente 100 g.L^{-1} enquanto que ao final do 2º ciclo esse valor ficou em 70 g.L^{-1} . Na coluna em que houve somente adição de inóculo, a concentração de ferro ao final do 1º ciclo foi 50 g.L^{-1} , enquanto que ao final do 2º ciclo esse valor ficou em 35 g.L^{-1} .

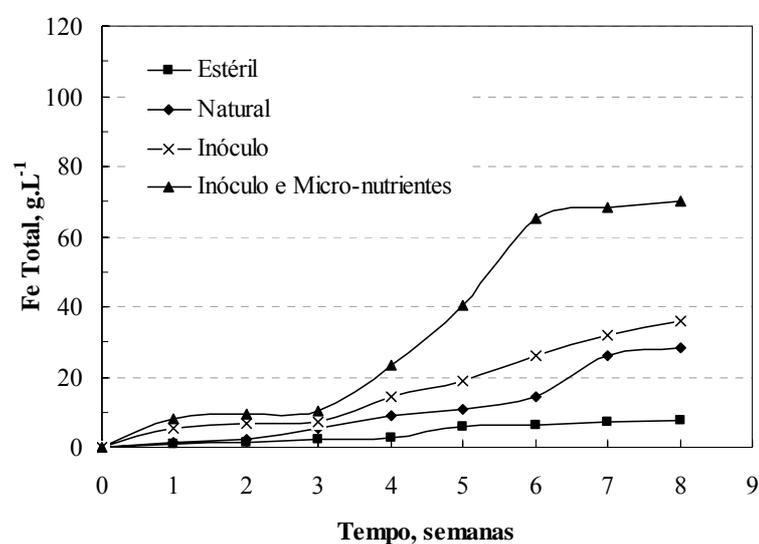


Figura 26. Concentração de ferro total [g.L^{-1}] do lixiviado em função do tempo no 2º ciclo.

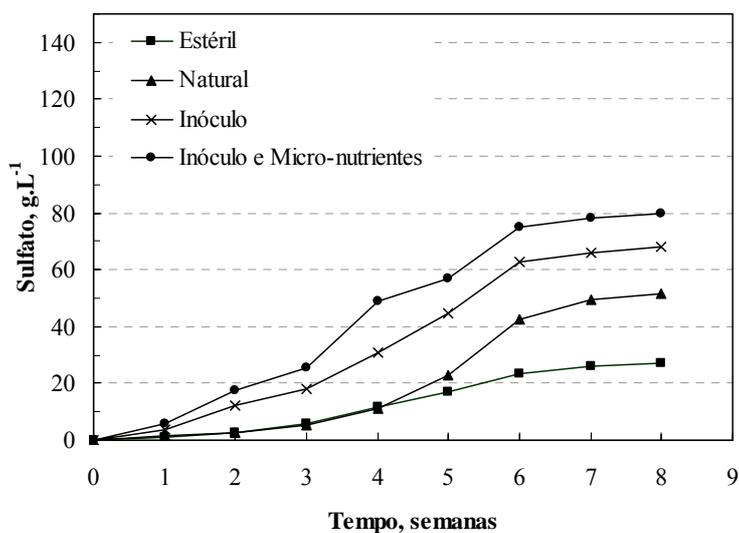


Figura 27. Concentração de sulfato [g.L⁻¹] do lixiviado em função do tempo no 2º ciclo.

A temperatura utilizada na coluna contendo inóculo e micronutrientes foi constante em 30°C, considerada uma temperatura ideal para a espécie *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Lundgren *et al.*, 1972). As demais colunas permaneceram em temperatura ambiente durante os dois ciclos de lixiviação ficando entre 19 e 30°C. Os resultados de concentração de oxigênio dissolvido ficaram entre 7,9 e 8,0 mg.L⁻¹.

5.2.3 Ensaio microbiológicos

Os ensaios microbiológicos qualitativos realizados na DAM empregada como inóculo e no lixiviado das colunas durante os experimentos de lixiviação estão resumidos na Tabela 13. O objetivo foi verificar quais as espécies de bactérias acidofílicas estavam presentes no meio. A única espécie presenciada foi a *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Deve-se observar que cada gênero de bactérias acidofílicas apresenta uma infinidade de espécies. Existem várias bactérias conhecidas na bibliografia e outras que suas funções ainda não foram bem entendidas. Para uma análise mais detalhada de toda a microbiologia é necessária uma análise criteriosa em nível de DNA da amostra de DAM. Para este estudo devem ser realizadas etapas de extração de DNA,

sequenciamento de DNA e identificação através do uso de bibliotecas genômicas (Schrenk *et al.*, 1998; Mahmoud *et al.*, 2005; Alberts, 2008).

Tabela 13. Tabela qualitativa de análise microbiológica utilizando meios seletivos.

Micro-organismo	Meio de Cultura	Temperatura Ideal de Crescimento	Presença na DAM	Presença no Lixiviado
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	9K	30-35°C	Positivo	Positivo
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	Starkey	28-30°C	Negativo	Negativo
<i>Acidithiobacillus organoparus</i> (<i>A. acidophilus</i>)	9K enriquecido com glucose	27-30°C	Negativo	Negativo
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	Norris & Kelly	30°C	Negativo	Negativo
<i>Sulfolobus spp.</i>	Allen modificado	55-85°C	Negativo	Negativo
<i>Acidianus spp.</i>	Allen modificado	45-75°C	Negativo	Negativo
<i>Acidiphilium spp.</i>	Meio para <i>Acidiphilium</i>	31-41°C	Negativo	Negativo

As Figuras 28 e 29 apresentam o número de bactérias no meio líquido nas colunas em função do tempo, para o 1º e 2º ciclo de lixiviação respectivamente. Pode-se verificar um comportamento semelhante em ambos os ciclos. Na coluna onde as condições estéreis foram mantidas o crescimento bacteriano não foi detectado. Na coluna onde foi empregado o concentrado de pirita em condições não estéreis (natural) verificou-se, após a oitava semana, uma contagem de 1×10^4 NMP:100mL de *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Nas colunas onde foram fornecidas as condições para as bactérias se desenvolverem, o crescimento foi substancial, principalmente a partir da 4ª semana, correspondendo ao período onde começou a haver a grande solubilização de ferro e sulfato (vide Figuras 25, 26, 30 e 31). Neste caso, após a 6ª semana, o número de bactérias ativas suspensas chegou na ordem de 1×10^{10} (NMP/100 ml)

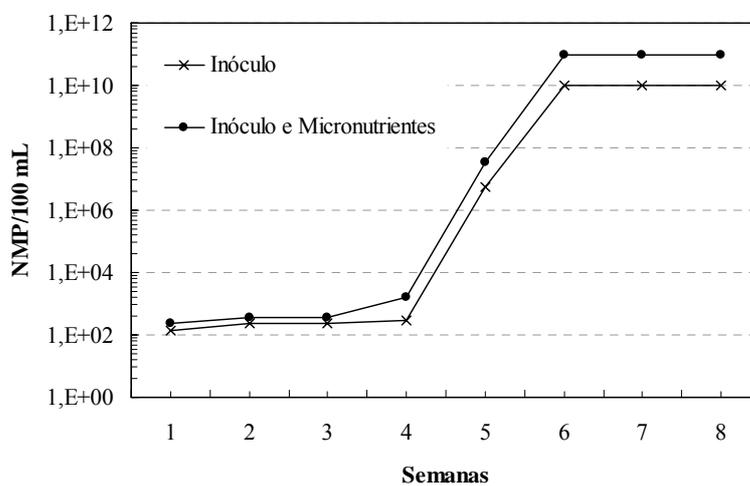


Figura 28. NMP:100 mL de *Acidithiobacillus ferrooxidans* em suspensão em função das semanas do experimento de lixiviação no 1º ciclo lixiviação.

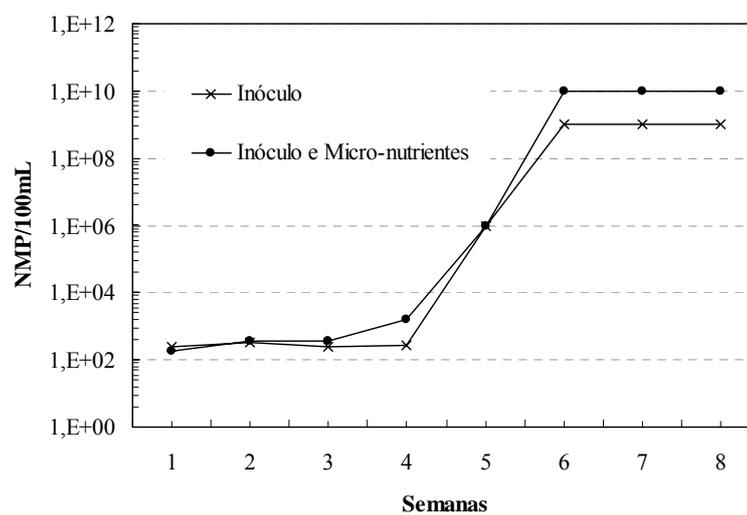


Figura 29. NMP:100 mL, de *Acidithiobacillus ferrooxidans* em suspensão em função das semanas do experimento de lixiviação no 2º ciclo de lixiviação.

A Figura 30 mostra a aparência do meio 9K com a presença dos micro-organismos *A. ferrooxidans* nos tubos de ensaio. Nesta figura é possível observar os tubos positivos (10 primeiros) e os negativos (dez últimos).



Figura 30. Tubos de ensaio da análise de determinação de *A. ferrooxidans* em diferentes diluições.

Deve-se considerar, porém, que a concentração de micro-organismos não leva em conta as bactérias aderidas ao grão de rejeito. A Figura 35 mostra uma imagem em MEV de um grão da coluna de inóculo e micronutrientes na 4ª semana do experimento. São bactérias na forma de bacilo com tamanho entre 0,8 e 1,5 μm . Conforme descreve Brandl (2001), as bactérias acidofílicas preferem se concentrar em áreas de superfícies irregulares para realizarem a interação microbiológica.

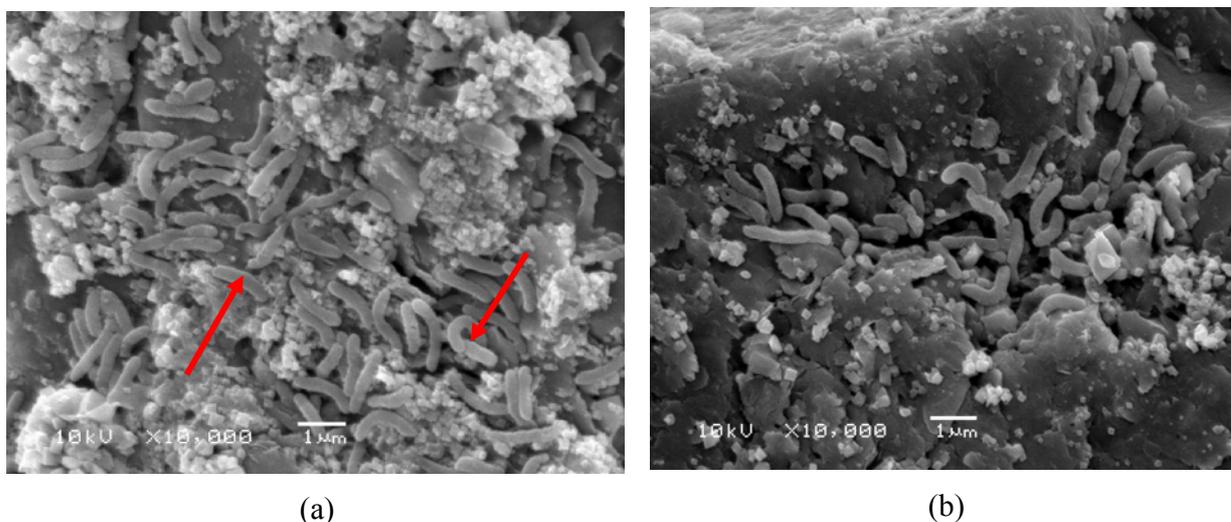


Figura 31. Imagens (a), e (b) obtidas em MEV de diferentes áreas de um grão de rejeito de carvão da coluna de lixiviação com inóculo e micronutrientes mostrando a presença de bactérias acidofílicas. O comprimento da barra (escala) é equivalente a $1\mu\text{m}$ e a magnificação é de 10 000x.

5.3 Características dos Extratos

Após a oitava semana de experimento, o concentrado obtido das colunas foi caracterizado e os resultados das análises estão demonstrados nas Tabelas 14 e 15, para o 1º e 2º ciclos, respectivamente.

Tabela 14. Características do extrato obtido na oitava semana no 1º ciclo.

Parâmetro	Estéril	Natural	Inóculo	Inóculo e Micronutrientes
Fe Total, mg.L ⁻¹	28 700	34 500	55 200	97 200
SO ₄ ⁻² , mg.L ⁻¹	74 900	82 300	106 400	113 100
pH	1,4	1,3	1,1	1,0
Al, mg.L ⁻¹	3 250	3 250	4 500	5 200
Ca, mg.L ⁻¹	1 580	1 570	1 960	2 300
Mn, mg.L ⁻¹	375	425	610	800
Pb, mg.L ⁻¹	0,07	2,2	2,75	2,84
Zn, mg.L ⁻¹	13	13,6	16,3	17,1
Fe/Al, mg.mg ⁻¹	8,8	10,6	12,26	18,7
Fe/Ca, mg.mg ⁻¹	18,2	22	28,2	42,7
Fe/Mn, m.m ⁻¹	76,5	81,2	90,5	121,5
Fe/Pb, m.m ⁻¹	4,1x10 ⁵	15 681,8	20 073	34 225
Fe/Zn, m.m ⁻¹	2 207	2 536,8	3 387	5 684
Fe/SO ₄ ²⁻ , M.M ⁻¹	0,67	0,97	0,90	1,50

Como comentado anteriormente, comparando as Tabelas 14 e 15, pode-se observar que a extração de ferro e sulfato foi maior quando favorecidas as condições de crescimento bacteriano. Também, extração de ferro e sulfato foi maior no 1º ciclo do que no 2º ciclo.

Em relação aos metais indesejados, como Al, Ca, Mn, Pb e Zn, pode-se observar que a concentração destes elementos também foi maior quando proporcionadas as condições de crescimento bacteriano. Isso provavelmente se deve ao pH mais baixo do meio, favorecendo a dissolução dos elementos indesejáveis. A extração desses elementos, de modo geral, também foi menor no 2º ciclo.

Tabela 15. Características do extrato obtido na oitava semana no 2º ciclo.

Parâmetro	Estéril	Natural	Inoculo	Inoculo e Micronutrientes
Fe Total, mg.L ⁻¹	7 500	28 500	36 000	70 100
SO ₄ ²⁻ , mg.L ⁻¹	27 000	51 700	67 900	80 000
pH	1,4	1,3	0,8	0,7
Al, mg.L ⁻¹	2 200	2 300	3 200	3 600
Ca, mg.L ⁻¹	800	1 100	1 100	1 800
Mn, mg.L ⁻¹	85	111	115	230
Pb, mg.L ⁻¹	ND	ND	ND	ND
Zn, mg.L ⁻¹	ND	ND	ND	ND
Fe/Al, m.m ⁻¹	3,4	12,4	11,25	19,5
Fe/Ca, m.m ⁻¹	9,4	25,9	32,7	38,9
Fe/Mn, m.m ⁻¹	88,2	256,8	313	304,8
Fe/SO ₄ ²⁻ , M.M ⁻¹	0,48	0,98	0,93	1,53

As Figuras 32 e 33 mostram a relação molar Fe/SO₄²⁻ dos extratos obtidos na oitava semana de experimento de lixiviação do primeiro e segundo ciclo, respectivamente. Pode-se observar que na coluna estéril, natural e inoculada, a relação molar Fe/SO₄²⁻ ficou na faixa de 0,5-0,9. Deve-se observar que a relação esperada pela oxidação do mineral pirita (FeS₂), que é composto por um átomo de Fe e dois de S é 0,5. Valores superiores são indicativos da liberação de Fe presente em minerais que não sejam a pirita. Valores dessa mesma ordem foram encontrados Menezes (2009) em coluna similares ao processo aqui descritos como “natural” ou “inoculado”. Na coluna com inóculo e micro-nutrientes, a relação Fe/SO₄²⁻ passou para aproximadamente 1,5, em ambos os ciclos. Para fins de produção de coagulante, quanto maior relação Fe/SO₄²⁻ melhor, uma vez que o agente ativo é o Fe³⁺. Valores maiores que 0,67, do sal Fe₂(SO₄)₃, podem caracterizar o produto como um poliferrosulfato. Maiores relações de ferro/sulfato podem estar relacionadas com a ação específica de contato da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

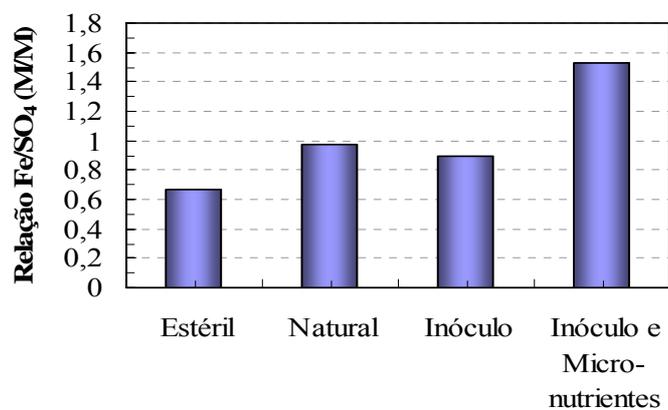


Figura 33. Relação Molar Ferro/Sulfato do lixividado ao final da 8^a semana no primeiro ciclo de lixiviação.

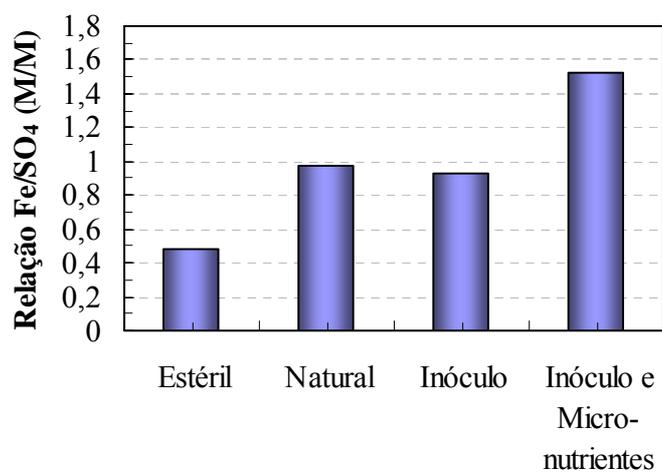


Figura 34. Relação Molar Ferro/Sulfato do lixividado ao final da 8^a semana do segundo ciclo de lixiviação.

Após os dois ciclos de lixiviação, realizou-se o cálculo de concentração de pirita extraída cujos dados estão apresentados na Tabela 16. Baseado na balanço de massa do ferro e enxofre, foi possível calcular um consumo de 15,3% da pirita na coluna em condições estéreis, 26,6% da pirita na coluna em condições não estéreis, 38,5% na coluna onde foi adicionado o inóculo

bacteriano e 70 % na coluna onde foi adicionado inóculo bacteriano e micronutrientes. Neste contexto, pode presumir que em condições estéreis seriam necessários no mínimo 15 ciclos para o esgotamento da pirita, em condições naturais essa condição passaria para 10 ciclos, com adição de inóculo para 8 ciclos e com adição de inóculo e nutrientes para de 3 ou 4 ciclos.

Tabela 16. Características do rejeito de carvão após o ensaio de lixiviação.

Parâmetro	Estéril	Natural	Inóculo	Inóculo e Micronutrientes
Pirita Extraída, % Primeiro ciclo	7	17,2	27,6	48,5
Pirita Extraída, % Segundo ciclo	8,3	9,4	10,9	21,5
Pirita Extraída, % Total	15,3	26,6	38,5	70

5.4 Produção do Coagulante

Os lixiviados obtidos foram purificados por filtração em membrana de 0,45 μm e evaporados até uma concentração de ferro entre 100 e 120 g.L^{-1} , exigido para a comercialização como coagulante. Após este processo de purificação/evaporação foram realizadas análises no coagulante final. A Tabela 17 apresenta os resultados das análises posteriores ao processo purificação/evaporação para os produtos obtidos neste trabalho. Para fins de comparação, é apresentada também a composição química de um coagulante comercial de sulfato férrico.

Pode-se observar que na etapa de evaporação da coluna com inóculo e micro-nutrientes foi necessário menos tempo e consumo de energia na evaporação já que a concentração de ferro foi maior. Em outras palavras, como a extração de metal foi maior, o volume gerado de coagulante também foi maior. Foi avaliada a presença de Fe^{2+} e Fe^{3+} nas amostras. Não foi detectado Fe^{2+} , logo todo o ferro está presente na forma Fe^{3+} .

Em relação ao processo de purificação, foi possível observar que houve a redução de alguns metais como alumínio, cálcio e chumbo. Além disso, o coagulante filtrado não

apresentou carbono orgânico na sua composição indicando que o material orgânico referente à células mortas de bactérias ou exopolímero foram removidos no processo de filtração.

Tabela 17. Composição química do sulfato férrico, coagulante produzido da biolixiviação do rejeito de carvão nas condições: estéril, natural, inóculo, inóculo/micro-nutrientes e sulfato férrico comercial no primeiro ciclo.

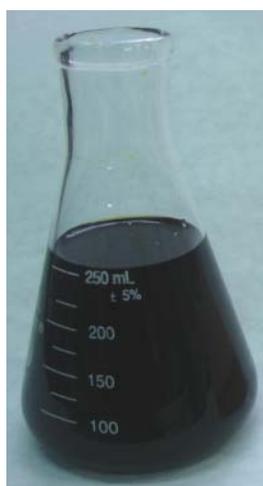
Parâmetro	Estéril	Natural	Inóculo	Inóculo e Micro-nutrientes	Sulfato Férrico Comercial	Especificação da SABESP para o sulfato férrico
Volume \approx (mL.kg ⁻¹)	295	355	490	790	-	-
Fe, (g.L ⁻¹)	95,7	96,4	112,4	122,0	115,0	12
Al, (g.L ⁻¹)	1,3	1,1	1,6	3,1	4,4	-
Ca, (g.L ⁻¹)	1,0	1,3	1,6	2,7	5,7	-
Mn, (g.L ⁻¹)	1,7	1,6	1,6	1,6	1,6	-
Zn, (mg.L ⁻¹)	22,9	23,6	26,1	24,1	22,4	-
pH	1,4	1,3	0,8	0,7	1,8	< 2,0
CT, (mg.L ⁻¹)	ND	ND	<0,4	<0,7	108	-
COT, (mg.L ⁻¹)	ND	ND	0,2	0,6	104	-
SO ₄ ⁻² , (g.L ⁻¹)	168	176	178	182	131	-
Densidade g.cm ⁻³	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	-
<i>A. ferrooxidans</i> .mL ⁻¹	ND	ND	ND	ND	ND	-

*ND= Não detectado.

Em relação ao processo de purificação, realizado por filtração, foi possível observar uma clarificação do extrato, decorrente da remoção de eventuais sólidos suspensos. Além disso, não foi detectado carbono orgânico na amostra indicando que o material orgânico referente à células ou exopolímero foram removidos no processo de filtração.

Comparado com o coagulante comercial, os reagentes produzidos a partir da biolixiviação da pirita apresentaram valores similares de Fe, valores inferiores de Al e Ca; valores similares de Mn e Zn e valores um pouco superiores de sulfatos.

A Figura 34 (a) mostra o produto líquido obtido a uma concentração entre 10 e 12%. Esse extrato também foi submetido à evaporação completa gerando o sal $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, apresentado na Figura 38 (b).



(a)



(b)

Figura 34. Produto obtido a partir dos ensaios de lixiviação. Em 34 (a) Produto líquido e 34 (b) no estado sólido.

5.5 Ensaios de Coagulação

Foi realizado teste de jarros um tratamento de água utilizando o reagente produzido contendo inóculo e micronutrientes. A concentração empregada foi de 24 mg.L^{-1} de ferro, definida após testes preliminares de remoção de cor e turbidez. A Figura 35 mostra a etapa de sedimentação em teste de jarros em distintos intervalos de tempo. Na Tabela 18 são apresentados os resultados das análises físico-químicas referentes ao tratamento da água do Guaíba com o reagente produzido bem como os valores estabelecidos na Portaria 518 para água potável.

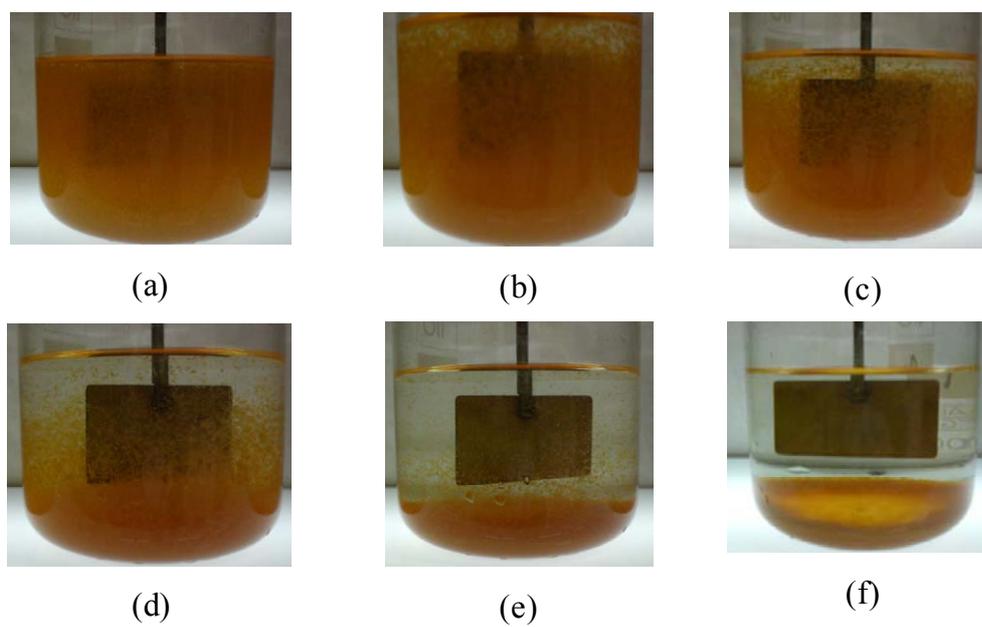


Figura 34. Etapa de sedimentação no teste de jarros. O tempo de sedimentação foi de 10 minutos.

Tabela 18. Características da água bruta e água tratada com o coagulante da coluna inóculo e micronutrientes, [24mg.L⁻¹] em pH 6,5 na água bruta do Guaíba.

Parâmetro	Água Bruta Guaíba	Tratado com o Reagente Produzido	Tratado com Sulfato férrico comercial	Parâmetros para água tratada no Brasil (Portaria 518)
pH	6,8	7,0	7,0	-
Turbidez (NTU)	81	0,4	0,5	5
Cor (Hazen)	40	2,0	2,0	15
Dureza, (mg.L ⁻¹)	54	32	26	500
Fe, (mg.L ⁻¹)	2,3	ND	ND	0,3
Al, (mg.L ⁻¹)	2,4	ND	ND	0,2
Mn, (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	0,1
Zn, (mg.L ⁻¹)	0,15	ND	ND	5
Cu, (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	2
Cr, (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	0,05
Cd, (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	0,005
Pb, (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	0,01
As, (µg.L ⁻¹)	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
Sulfato, (mg.L ⁻¹)	7,8	223	82,9	250

*ND= Não detectado.

A Tabela 19 mostra os resultados referentes ao tratamento de um efluente sintético. O efluente sintético foi utilizado para obter características de tratamento estável (principalmente em relação à remoção de cor e turbidez), uma vez que a água bruta do Guaíba pode apresentar uma composição variável conforme a estação do ano e condições da ocasião da coleta.

Tabela 19. Características da água bruta do Guaíba e tratada com o coagulante da coluna inóculo e micronutrientes, [24mg.L⁻¹] em pH 6,5 no efluente sintético de bentonita.

Parâmetro	Efluente Sintético	Tratado com o Reagente Produzido	Tratado com Sulfato férrico comercial	Parâmetros para água tratada no Brasil
pH	7,8	7,0	7,0	-
Turbidez (NTU)	98	1,48	0,87	5
Cor (Hazen)	44	5	5	15
Dureza, (mg.L ⁻¹)	45	40	35	500
Fe (mg.L ⁻¹)	1,2	0,15	0,15	0,3
Al (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	0,2
Mn (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	0,1
Zn (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	5
Cu (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	2
Cr (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	0,05
Cd (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	0,005
Pb (mg.L ⁻¹)	ND	ND	ND	0,01
As, (µg.L ⁻¹)	<1,5	<1,5	<1,5	< 1,5
Sulfato (mg.L ⁻¹)	5,6	242	92	250

*ND= Não detectado pelo equipamento.

É possível verificar que em todos os parâmetros analisados, a água tratada com o coagulante produzido foi eficaz, atendendo aos parâmetros exigidos pela Portaria 518.

5.6 Considerações Finais

Um esquema de produção do coagulante em escala industrial é mostrada na Figura 36. O sistema sugere uma biolixiviação em pilhas onde o rejeito de carvão deverá ser colocado sob uma superfície impermeabilizada. A água da chuva poderá ser utilizada como solução recirculante. É sugerido o processo de evaporação natural para a concentração do coagulante produzido. Os micronutrientes poderão ser adicionados na água de recirculação, assim como o inóculo de bactérias.

Os principais insumos necessários para a produção do sulfato férrico em escala industrial são o oxigênio atmosférico, água, rejeito de carvão, energia para a bomba de recirculação, concentração e transporte do rejeito de carvão.

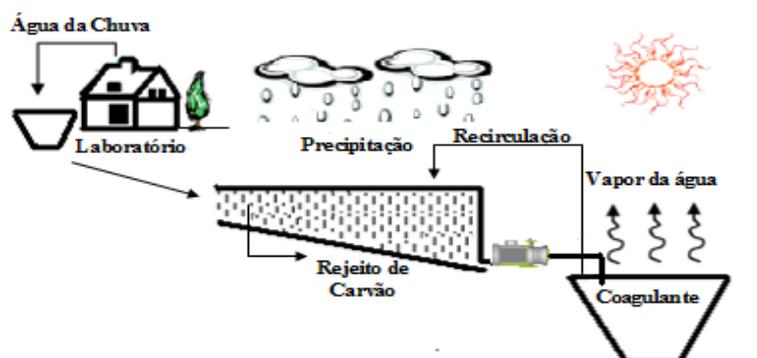


Figura 36. Concepção de um sistema para produção de coagulante por lixiviação de materiais ricos em pirita. Fonte: Menezes (2009).

Na Tabela 20 são apresentados os dados de produção e retorno econômico da produção de sulfato férrico nas quatro condições experimentais. Para os cálculos foram considerados os valores de sulfato férrico de aproximadamente R\$ 0,80. L⁻¹ e uma produção mensal de 10 000 t do concentrado de pirita (estimada como compatível para as Empresas Mineradoras Médio Porte de Santa Catarina).

Tabela 20. Estimativa da produção e valor agregado esperada nas condições estéril, natural, inóculo e inóculo com micronutrientes.

Relação	Estéril	Natural	Inóculo	Inóculo e Micronutrientes
Produção de coagulante L.t ⁻¹ .mês ⁻¹	147	177	245	395
Potencial de retorno econômico R\$. t ⁻¹	118	142	196	316
Retorno econômico (10.000 t mês de conc. de pirita) R\$. mês ⁻¹	1 180 000	1 420 000	1 960 000	3 160 000

Assim, o processo biohidrometalúrgico de conversão da pirita em soluções aquosas de sulfato férrico apresenta vantagens de cunho ambiental e econômico. Há uma diminuição da concentração de pirita nas pilhas de rejeito e de geração de drenagem ácida de minas, diminuindo os custos em sistema ativos de tratamento de efluentes. Também, é evidente que é possível obter um reagente com valor agregado, empregado largamente no tratamento de água e efluentes, a partir de um material refugado. O processo, quando otimizado, microbiologicamente, aumenta a taxa de produção do coagulante em até 2,6 vezes com uma estimativa de retorno econômico calculado em R\$ 3.160.000,00 ao mês.

6 CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos no presente trabalho foi possível obter as seguintes conclusões:

- O rejeito com 50,6% de pirita, apresenta-se adequado para a produção do coagulante sulfato férrico por processos biohidrometalúrgicos;
- A oxidação da pirita contida no rejeito foi altamente dependente das condições propiciadas para o crescimento bacteriano. Os índices de produção do coagulante foram calculados em 147,5 L.t⁻¹.mês⁻¹ em condições estéreis, em 177,5 L.t⁻¹.mês⁻¹ em condições não estéreis (natural), em 245 L.t⁻¹.mês⁻¹ em condições não estéreis e com adição de inóculo bacteriano e em 395 L.t⁻¹.mês⁻¹ em condições não estéreis com inóculo bacteriano e micro-nutrientes;
- Nos testes qualitativos de bactérias foi identificada apenas a presença de *A. ferrooxidans*. Através de MEV foi possível verificar uma grande quantidade de bactérias aderidas ao rejeito. A contagem de bactérias pelo NMP leva em consideração apenas as bactérias em solução chegando a valores entre 10¹⁰ e 10¹² de bactérias em 100mL. A presença de bactérias *A. ferrooxidans* foi similar nos dois ciclos de lixiviação, sendo a sua presença diretamente relacionada à maior remoção de ferro;
- Os extratos lixiviados filtrados e evaporados atingiram a concentração desejável de ferro para a comercialização como coagulante que é cerca de 12mg.L⁻¹. O processo de secagem pode ser utilizado para obter o sulfato férrico em forma sólida (Fe₂(SO₄)₃.nH₂O) (sal de ferro altamente higroscópico);
- O sulfato férrico produzido mostrou-se eficaz para tratamento de água, atendendo os parâmetros exigidos pela Portaria 518 do Ministério da Saúde. Esse comportamento é similar ao obtido nos testes com o reagente comercial sulfato férrico.
- A rota biohidrometalúrgica de produção de sulfato férrico a partir da pirita pode resultar na diminuição do consumo de ácido sulfúrico, sucata ferrosa ou minério de ferro para a produção de coagulantes. Ainda, pode trazer benefícios econômicos para as Empresas Carboníferas a partir do material disposto nos módulos de rejeito, diminuindo seu potencial poluidor representando ganhos econômicos para empresas do setor mineral.

7 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

Para a continuação dos estudos dessa dissertação são propostos os seguintes estudos:

1. Identificação das bactérias da DAM por técnicas moleculares;
2. Análise por cromatografia gasosa de metabólitos secundários das bactérias;
3. Dimensionamento de um reator para a produção em escala piloto em processo contínuo;
5. Utilização de oxigênio e gás carbônico para intensificação da atividade bacteriana e produção do sulfato férrico;

8 PRODUÇÃO CIENTÍFICA ASSOCIADA AO TRABALHO

Colling, A. V.; Menezes, J. C. S. S.; Hidalgo, G. E. N.; Schneider, I. A. H. Biolixiviação de Rejeito de Carvão para a Produção do Coagulante Sulfato Férrico In: XXIII Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, Gramado, Anais, v. 2, p.309-315, 2009.

Colling, A. V.; Menezes, J. C. S. S.; Hidalgo, G. E. N.; Schneider, I. A. H. Desenvolvimento de Tecnologia Alternativa para a Produção do Coagulante Sulfato Férrico In: III Seminário Sobre Tecnologia Limpas/V Fórum Internacional de Produção Mais Limpa, Porto Alegre. CD ROM. Porto Alegre: ABES-RS, 2009. p.ID38, 2009.

Colling, A. V.; Menezes, J. C. S. S.; Hidalgo, G. E. N.; Schneider, I. A. H. Utilização dos Resíduos do Beneficiamento de Carvão para a Produção de Coagulante Sulfato Férrico. In: Seminário Regional Sul de Resíduos Sólidos, Caxias. Anais, Porto Alegre, RS, ABES-RS, 10 f, 2009

Colling, A. V.; Vigânico, E. M.; Schneider, I. A. H. Biohidrometalurgia para o Processamento de Carvão. In. VII Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental, Porto Alegre. Anais: CD ROM ABES-RS, 2010.

Serafim, B. M. T.; Colling, A. V.; Silva, R. A.; Schneider, I. A. H. Biohidrometalurgia: Uma Alternativa para a Produção de Materiais com Alto Valor Agregado a Partir da Pirita. In: XX Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2009, Porto Alegre. Anais do XX Salão de Iniciação Científica da UFRGS. Porto Alegre: PROPESQ, 2009.

Silveira, P. S.; Colling, A. V.; Menezes, J. C. S. S.; Schneider, I. A. H. Benefícios Ambientais da Produção Hidrometalúrgica de Coagulantes a Partir de Rejeitos de Carvão. In: V Jornada de Iniciação Científica - Meio Ambiente, 2009, Porto Alegre. Anais da V Jornada de Iniciação Científica - Meio Ambiente. Porto Alegre : Fundação Estadual de Proteção Ambiental - Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, p. 83, 2009.

Silveira, P. S.; Colling, A. V.; Menezes, J. C. S. S.; Schneider, I. A. H. Quantificação do Crescimento de Bactérias Acidofílicas na Produção de Sulfato Férrico em Leitos de Rejeito de Carvão. In: XX Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2009, Porto Alegre. Anais do XX Salão de Iniciação Científica da UFRGS. Porto Alegre : PROPESQ, 2009.

PREMIAÇÃO

Evento: VII Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental – ABES-RS – Porto Alegre, 2010
Realizado no Centro de Eventos da PUC-RS

Trabalho: Biohidrometalurgia para o Processamento de Carvão

Integrantes: Angéli Viviani Colling, Eunice Maria Vigânico, Ivo André Homrich Schneider

Categoria: Biotecnologia

9 REFERÊNCIAS

- ABIQUIM – Associação Brasileira da Indústria Química. Anuário Brasileiro da Indústria Química. São Paulo, 2006.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. Determinação do teor de cinzas. NBR 8289. Rio de Janeiro, 4p., 1983a.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. Determinação do teor de matéria volátil. NBR 8290. Rio de Janeiro, 3p., 1983b.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. Determinação de umidade. NBR 8293. Rio de Janeiro, 6p., 1983c.
- ABNT –Associação Brasileira de Normas Técnicas. Resíduos Sólidos: Classificação. NBR – 10.004. Rio de Janeiro: 2004a.
- ABNT –Associação Brasileira de Normas Técnicas. Amostragem de Resíduos: Procedimento. NBR – 10.007. Rio de Janeiro: 2004.
- ACWA. Review of the Proposed Public Health Goal for Aluminum In Drinking Water. Association of California Water Agencies, 2000.
- Adamson, A.W. Physical Chemistry of Surfaces. 5.ed. New York: John Wiley Sons, Inc. 1990. 777p.
- Alberts, B. Molecular Biology of the Cell. New York. Garland Science. 2008.
- Alexander, M. Bioremediation Technologies, In Biodegradation and Bioremediation, p. 248-271, San Diego: Academic Press, 1994.
- Amaral Filho, J. R. Avaliação do Potencial de Aproveitamento dos Rejeitos de Carvão da Carbonífera Criciúma S/A. Dissertação de Mestrado Apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- American Society for Testing and Material - ASTM. Standard Test Method For Accelerated Weathering Of Solid Materials Using A Modified Humidity Cell. ASTM D 5744, 1996, 13p.
- APHA - American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th Edition. Washington D.C: APHA-AWWA-WEF, 1134p., 2005.
- Atkins, P.W. Química Física: 6a. ed. Barcelona : Omega, 1018p. 1999.
- Backer, B.J; Banfield, J.F. Microbial Communities in Acid Mine Drainage. FEMS-Microbiology Ecology, v. 44, p. 139-152, 2003.

- Ballester, A. Mecanismo de la Biolixiviación. Fundamento y Perspectivas de las Tecnologías Biomineras. Capítulo 1: 9-24, 2001.
- Beck, J.V., 1967. The Role Of Bacteria In Copper Mining Operations. *Biotechnology and Bioengineering* 9, 487–497.
- Beliaeff, B.; Mary, J. Y. The Most Probable Number Estimates and the Usefulness of Confidence Intervals. Comment on War. Res. Public Health Laboratory Service Communicable Disease Surveillance Centre, v. 29(4), p. 1213-1214, 1995.
- Biagiola, S.; Solsona, J.; Milocco, R. Estimation of Kinetic Rates in Batch *Thiobacillus ferrooxidans* cultures. *Journal of Biotechnology*, v. 84, p. 13-25, 2000.
- Biocologia. Entrada Secundária: Corrosão Microbiológica. 1ed. São Paulo: Edgard Blücher v. 5, 1975.
- Borma, L. S.; Soares, P. S. M. Drenagem Ácida e Gestão de Resíduos Sólidos da Mineração. Capítulo 10, p. 243-265. 2001.
- Bosecker, K. Bioleaching: Metal Solubilization by Microorganisms. *FEMS - Microbiology Reviews* 20: 591-604. 1997.
- Brandl, H. Microbial Leaching of Metals in Microbial Diversity in Bioleaching Environments. Capítulo 8, p. 192-206. 2001
- BRASIL. Justiça Federal. 1ª Vara Federal de Criciúma, SC. Processo nº 2000.72.04.002543-9. Autor: Ministério Público Federal. Réu: Nova Próspera Mineração S. A. e outros. Recuperação dos passivos ambientais decorrentes da mineração de carvão no sul do Estado de Santa Catarina. Segundo relatório de monitoramento dos indicadores ambientais. Criciúma, jul. 2008. 192p.
- Bratby, J. Coagulation and Flocculation: with an Emphasis on Water and Wastewater Treatment. Croydon, Upland Press, p. 354, 1980.
- Brierley, J. A. A Perspective on Developments in Biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy* v. 94, p. 2-7, 2008.
- Brierley, J.A., Brierley, C.L. Microbial Leaching of Copper at Ambient and Elevated Temperatures. In: Murr, L.E., A.E., Brierley, J.A. (Eds.), *Metallurgical Applications of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena*. Academic Press Inc., New York, pp. 477–490, 1978.
- Brierley, J.A. Heap Leaching of Gold Bearing Deposits, Theory and Operational Description. In: Rawlings, D. (Ed.), *Biomining: Theory, Microbes and Industrial Processes*. Springer-Verlag, New York, pp. 103–115, 1997.

Brierley, J.A., Luinstra, L. Biooxidation-Heap Concept For Pretreatment Of Refractory Gold Ore. In: Torma, A.E., Wey, J.E., Lakshmanan, V.I. (Eds.), Biohydrometallurgical Technologies, Vol. I Bioleaching Processes. The Minerals, Metals & Materials Society (TMS), Warrendale, Pennsylvania, pp. 437–448, 1993.

Brock, T. D. Biology of Microorganisms. 1ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, p. 847, 1984.

Brock, T. D.; Gustafson, J. Ferric Iron Reduction by Sulfur and Iron-Oxidizing Bacteria. Applied and Environmental Microbiology. v. 32(4), p. 567-571, 1976.

Cameron, R. A.; Lastra, R.; Mortazavi, S.; Bedard, P. L.; Morin, L.; Gould, W. D.; Kennedy, K. J. Bioleaching of a Low-grade Ultramafic Nickel Sulphide Ore in Stirred-Tank Reactors at Elevated pH. Hydrometallurgy, v. 97, p. 213-220, 2009.

Campbell, R. Ecología microbiana. México: Limusa, p. 268, 1987.

Carvão e Meio Ambiente. Centro de Ecologia (UFRGS). Editora: UFRGS. Porto Alegre, p. 1006, 2000.

Carissimi, E. Desenvolvimento do Reator Gerador de Flocos (RGF). Aspectos Teóricos e Aplicações no Tratamento e Reúso de Águas e Efluentes. Tese de Doutorado. PPGEM, UFRGS, Porto Alegre, 2007.

CETEM/MCT. Carvão Brasileiro: Tecnologia e Meio Ambiente. Eds. Paulo Sérgio Moreira Soares, Maria Dionísia Costa dos Santos, Mario Valente Possa. Rio de Janeiro, 2008.

CETEM/MCT. Projeto Conceitual para Recuperação Ambiental da Bacia Carbonífera Sul Catarinense. RT 33/2000 – Relatório Técnico I elaborado para o SIECESC I, 2001a.

CETEM/MCT. Projeto Conceitual para Recuperação Ambiental da Bacia Carbonífera Sul Catarinense. RT 46/2000 – Relatório Técnico III elaborado para o SIECESC, 2001b.

CETEM. Recuperação Ambiental de Áreas Mineradas. Disponível em: <http://www.cetem.gov.br/publicacao/CTs/CT2004-154-00.pdf>

Colling, A. V.; Menezes, J. C. S. S.; Hidalgo, G. E. N.; Schneider, I. A. H. Biolixiviação de Rejeito de Carvão para a Produção do Coagulante Sulfato Férrico In: XXIII Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, Gramado. Anais, v. 2, p. 309-315, 2009.

CONAMA 357/2005. Conselho Nacional do Meio Ambiente, Ministério do Meio Ambiente. Resolução N°357. Classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento. Estabelece as condições padrões de lançamento de efluentes. Brasília, março 2005.

COPELMI MINERAÇÃO LTDA .Disponível em:
http://www.copelmi.com.br/index.php?option=com_content&task=view&id=38&Itemid=1

Costa, M. C.; *et al.* Wine Wastes as Carbon Source for Biological Treatment of Acid Mine Drainage. *Chemosphere In Press*, 2009.

Crundwell, F. The Formation of Biofilms of Iron-Oxidising Bacteria on Pyrite. *Minerals Engineering*, v. 9(10), p. 1081-1089, 1996.

Crundwell, F.K., Holmes, P.R., Fowler, T.A. How Do Bacteria Interact With Minerals? *The Journal of the South African Institute of Mining and Metallurgy* 399–401 November/December, 2000.

Das, B. K., Roy, A., Koschorreck, M., Mandal, S. M., Wendt-Potthoff, K., Bhattacharya, J. Occurrence and Role of Algae and Fungi in Acid Mine Drainage Environment with Special Reference to Metals and Sulfate Immobilization. *Water Research* 43: 883-894. 2009.

De Luca, S. Medidas Corretivas E Preventivas De Impactos Da Mineração De Carvão. In: *Carvão Mineral. Volume II*. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1991.

Domic, E.M. A Review Of The Development And Current Status Of Copper Bioleaching Operations In Chile: 25 Years Of Successful Commercial Implementation. In: Rawlings, D.E., Johnson, B. (Eds.), *Biomining*. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, pp. 81–112, 2007.

Dopson, M., Lindstrom, E.B. Potential Role Of *Thiobacillus Caldus* In Arsenopyrite Bioleaching. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, pp. 36–40, 1999.

Duarte Filho, P. *Cinética Microbiana - Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos - Engenharia Bioquímica*, 2006.

Druschel, G. K.; Baker, B. J.; Gihring, T. M.; Banfield, J. F. Acid Mine Drainage Biogeochemistry At Iron Mountain, California. *Geochemical Transactions*, v. 5(2), p. 13-32, 2004.

Durkin, T. V.; Herrmann, J. G. Focusing on the Problem of Mining Wastes: An Introduction to Acid Mine Drainage. Reprint From EPA Seminar Publication no. EPA/625/R-95/007 - *Managing Environmental Problems at Inactive and Abandoned Metals Mine Sites*.

Editorial 16th International Biohydrometallurgy Symposium, IBS2005, Cape Town, p. 25-29 September 2005. *Hydrometallurgy*, v. 83, p. 1-2, 2006.

Edwards, K.J., Bond, P.L., Gihring, T.M., Banfield, J.F. An archaeal iron-oxidizing extreme acidophile important in acid mine drainage. *Science* 287, 1796–1799, 2000.

Ehrlich, H. L. Past, Present And Future Of Biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy*, v. 59, p. 127-134, 2001.

Elberling, B. Temperature And Oxygen Control On Pyrite Oxidation In Frozen Mine Tailings. *Cold Regions Science and Technology*, v. 41, p. 121-133, 2005.

EPA-Environmental Protection Agency. Technical Document. Acid Mine Drainage Prediction. EPA530-R-94-036, 48 p., 1994.

EPA-3052: Microwave Assisted Acid Digestion of Siliceous and Organically Biomatrices. Disponível em: <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3052.pdf>.

Escobar, B.; Bustos, K.; Morales, G.; Salazar, O. Rapid and Specific Detection of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans* by PCR. Hydrometallurgy, v. 92, p. 102-106, 2008.

Escobar, B.; Rubio, J.; Badilla-Ohlbaum, R. Adverse Effect of Surface-active Reagents on the Bioleaching of Pyrite and Chalcopyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. World Journal of Microbiology & Biotechnology, v. 11, p. 599-600, 1995.

Evangelou, V. P. Pyrite Oxidation and its Control, Editorial press CRC, New York, 1995.

Falco, L.; P., C.; Curutchet, G. Donati, E. A Comparasion of Bioleaching of Covallite Using Pure Cultures of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* or a Mixed culture of *Leptospirillum ferrooxidans* an *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Hydrometallurgy, v. 71, p. 31-36, 2003.

Farfan, J. R. J. Z.; Barbosa Filho, O.; Souza, V. P. Avaliação do Potencial de Drenagem Ácida de Rejeitos da Indústria Mineral. Série Tecnologia Ambiental CETEM - MCT: 1-58, 2004.

Fogler, H. S. Elementos de Engenharia das Reações Químicas. Rio de Janeiro, LTC, 2002.

Fouchera, S.; et al. Evolution of the Bacterial Population During the Batch Bioleaching of a Cobaltiferous Pyrite in a Suspended-solids Bubble Column and Comparison with a Mechanically Agitated Reactor. Hydrometallurgy, v. 71, p. 5-12, 2003.

Freitas, A. P. P.; Schwarzbald, A.; Schneider, I.A.H. Algas em Águas Impactadas por Drenagem Ácida de Minas. Anais do XXIII Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, Gramado, RS, 2009.

Fungaro, D. A.; Izidoro, J. C. Remediação de Drenagem Ácida de Mina Usando Zeólitas Sintetizadas a Partir de Cinzas Leves de Carvão. Quím. Nova, São Paulo-SP, v. 29, nº 4, p. 735-740, 2006.

Gaivizzo, L. B.; Vidor, C.; Tedesco, M. J. Recuperação de Áreas Utilizadas para Depósitos de Rejeito de Minas de Carvão. Cap. 14 do livro Carvão e Meio Ambiente – Centro de Ecologia UFRGS – Editora da Universidade – UFRGS, p. 480-491, 2000.

García, C.; Ballester, A.; González, F.; Blázquez, M. L. Factors Affecting the Transformation of a Pyritic Tailing: Scaled-up Column Tests. Journal of Hazardous Materials, v. A118, p. 35-43, 2005.

García, C.; Ballester, A.; González, F.; Blázquez, M. L. Pyrite Behaviour in a Tailings Pond. *Hydrometallurgy*, v. 76, p. 25-36, 2005.

Garcia Jr. O.; Estudos da Biolixiviação de Minérios de Urânio por *Thiobacillus ferrooxidans*. Tese de Doutorado apresentada no Instituto de Biologia. Campinas/SP, UNICAMP, 1989.

Garcia Jr. O.; Urenha, L. C. Lixiviação Bacteriana de Minérios. In: Urgel de Almeida Lima; Eugênio Aquarone; W. Borzani; W. Schmidel. (Org.). *Biotecnologia Industrial-Processos Fermentativos Industriais*. 1ed. São Paulo: Edgard Blücher Editora, v. 3, p. 485-512, 2001.

Gleisner, M.; Herbert Jr. R. B.; Kockum, P. C. F. Pyrite oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans* at Various Concentrations of Dissolved Oxygen. *Chemical Geology*, v. 225, p. 16-29, 2006.

Gomes, A. J. P. Estratégica na Produção de Eletricidade no Sul do Brasil, Carvão do Brasil, Turfa Agrícola/ Geologia, Meio Ambiente e Participação, Porto Alegre: EST, p 164, 2002.

Gomes, C. J. B. Projeto para Recuperação Ambiental da Bacia Carbonífera Sul Catarinense: Relatório de Atividades –www.siecesc.com.br/meio ambiente. Fevereiro de 2004.

Gómez, J. M.; Cantero, D. Modelling of Ferrous Sulphate Oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans* in Discontinuous Culture: Influence of Temperature, pH and Agitation Rate. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, v. 86 (I), p. 79-83, 1998.

Guidelines: Coal Mining and Production Industry, Sector Guidelines Pollution Prevention and Abatement Handbook World Bank Group, 1998.

Hackl, R. P.; *Biological Mineralogical Interactions*; Ottawa, p. 25-143, 1997.

Hao, Y.; Dick, W. A.; Tuovinen, O. H. PCR Amplification of 16S rDNA Sequences in Fe-rich Sediment of Coal Refuse Drainage. *Biotechnology Letters*, v. 24, p. 1049-1053, 2002.

Holmes, D. S. Review of International Biohydrometallurgy Symposium, Frankfurt, 2007. Technical note in *Hydrometallurgy*, v. 92, p. 69-72, 2008.

Holmes, P.R., Fowler, T.A., Crundwell, F.K., 1999. The Mechanism Of Bacterial Action In The Leaching Of Pyrite By *Thiobacillus Ferrooxidans* An Electrochemical Study. *Journal of The Electrochemical Society* 146, 2906–2912.

Hosseini, T. R.; Kolahtoozan, M.; Tabatabaei, Y. S. M; Oliazadeh, M.; Noaparast, M.; Eslami, A.; Manafi, Z.; Alfantazi, A. Bioflotation of Sarcheshmeh Cooper ore Using *Thiobacillus ferrooxidans* Bacteria. *Engineering Minerals*, v. 18, p. 371-374, 2005.

Hunter, R.J. *Zeta Potential in Colloid Science*. London: Academic Press, 1981. 386p.

Hutchins, S.R., Davidson, M.S., Brierley, J.A. 1988. Thermophilic microbial treatment of precious metal ores. U.S. Patent No. 4,729,788.

IBRAM, I. B. M. Parceria inova em projeto de concentrado de cobre. Indústria da Mineração Ano II – 6, 2007.

IBRAM, I. B. M. Mineração Caraíba investe em tecnologia inovadora para extração de cobre. Indústria da Mineração Ano III – 20, 2008.

Indústria Carbonífera Rio Deserto Ltda. Análise do Potencial de Acidificação e de Neutralização em Rejeitos do Beneficiamento do Carvão Mineral da Região Carbonífera. Relatório Técnico, Empresas Rio Deserto, Criciúma, SC, 58p, 2004.

Institute, W. C. El Carbón Como Recurso: Una Visión general del carbón. www.worldcoal.org, 2005.

ISO - International Organization For Standardization. Hard Coal - Determination of Forms of Sulfur. ISO 157, 1996.

Jiang, J-Q.; Graham, N. J. D. Development of Optimal Poly-alumino-iron Sulphate Coagulant. Journal of Environmental Engineering, v. 129, p. 699-708, 2003.

Johnson, D. B. Acidophilic Microbial Communities: Candidates for Bioremediation of Acidic Mine Effluents. International Biodeterioration & Biodegradation, v.95, p. 41-58, 1995.

Johnson, D. B. Biodiversity and Ecology of Acidophilic Microorganisms. MiniReview in FEMS Microbiology Ecology, v. 27, p. 307-317, 1998.

Johnson, D. B. Biodiversity and Interactions of Acidophiles: Key to Understanding and Optimizing Microbial Processing of Ores and Concentrates. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, v. 18, p. 1367-1373, 2008.

Johnson, D. B.; Hallberg, K.B. Acid Mine Drainage Options: a Review. Science of the Total Environment, v.338, p. 3-14, 2005.

Johnson, D. B.; Hallberg, K. B. Biogeochemistry of the Compost Bioreactor Components of a Composite Acid Mine Drainage Passive Remediation System. Science of the Total Environment, v. 338, p. 81-93, 2005.

Johnson, D.B.; Hallberg, K.B. The Microbiology of Acidic Mine Waters. Research in Microbiology, v.154, p.466-473, 2003.

Johnson, D. B.; In: R. Amils & A. Ballester (Eds.), Proc. International Biohydrometallurgy Symposium, Madrid, Espanha; Elsevier, Amsterdam, ISBN: 0444501932 (A & B), part A, p. 645, 1999.

Junqueira, L. C. U.; Carneiro, J. *Biologia Celular e Molecular*. 8ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 332p, 2005.

Kelly, D. P.; Wood, A. P. Reclassification of Some Species of *Thiobacillus* to the Newly Designated Genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. Note in *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 50, p. 511–516, 2000.

Kontopoulos, A. Acid Mine Drainage Control. In: *Effluent Treatment in the Mining Industry*. Castro, S.H.; Vergara, F.; Sánchez, M.A (Editors), University of Concepción, p. 57-118, 1998.

Lazaroff, N. Sulfate Requirement for Iron Oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*. Downloaded from jb.asm.org by on January 9, 2009, v. 85, p. 1-6, 1963.

Leal, C. A.; Martín, J. G. A virtude da Moderação: Uma Orientação de Política Nacional para o Carvão no Sul do Brasil. Cap. 9 do livro *Carvão e Meio Ambiente – Centro de Ecologia UFRGS – Editora da Universidade – UFRGS*, p. 258-268, 2001.

Lehninger: *Princípios de Bioquímica*. 4ed. São Paulo: Sarvier, xxviii, 1202p., 2006.

Levenspiel, O. *Engenharia das Reações Químicas*. São Paulo, Editora Edgard Blücher Ltda, 2000.

Lilge, D.S; Hahn, M.B.; Schneider, I.A.H.; Silva, G.S.R.; Gomes, K.M.S.; Gomes, C.J.B. Ensaio Estáticos e Cinéticos na Previsão da Drenagem Ácida de Minas na Mineração de Carvão no Sul do Estado de Santa Catarina, RS – Brasil. *Anais do XXI Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa*, CD ROM, Natal, Brasil, 2005.

Logan, T.C., Seal, T., Brierley, J.A. Whole-ore heap biooxidation of sulfidic goldbearing ores. In: Rawlings, D.E., Johnson, B. (Eds.), *Biomining*. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, pp. 113–138, 2007.

Lundgren, D. G.; Vestal, J. R.; Tabita, F. R. *The Microbiology of Mine Drainage Pollution In Water Pollution Microbiology of Mitchell*, R. New York, Wiley Interscience, 1972.

Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Parker, J. *Brock Biology of Microorganisms*. 9ed. Upper Saddle River: Prentice-Hall, xix, 1044 p, 2000.

Magen, S. J.; Application of a Life Cycle Impact Assessment Framework to Evaluate and Compare Environmental Performances With Economic Values of Supplied Coal Products. *Journal of Cleaner Production*, v. 14, p.1071-1084, 2004.

Mahmouda, K. K.; Leducb, L.G.; Ferronic G.D. Detection of *Acidithiobacillus ferrooxidans* in Acid Mine Drainage Environments Using Fluorescent in Situ Hybridization (FISH). *Journal of Microbiological Methods*, v. 61, p. 33-45, 2005.

- Malki, M.; González-Toril, E.; Sanz, J. L.; F. Gómez, F.; Rodríguez, N.; Amils, R. Importance of the Iron Cycle in Biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy*, 2006.
- Marcello, R. R.; Galato, S.; Peterson, M.; Riella, H.G.; Bernardin, A.M. Inorganic Pigments Made from the Recycling of Coal Mine Drainage Treatment Sludge. *Journal of Environmental Management*, v. 88, p.1280-1284, 2008.
- McCauleya, C. A.; et al. Sulfate and Metal Removal in Bioreactors Treating Acid Mine Drainage Dominated with Iron and Aluminum. *Water Research*, v. 43, p. 961-970, 2009.
- Menezes, J. C. S. S. Produção de Coagulantes Férricos na Mineração de Carvão. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGEM, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 2009.
- Menezes, J. C. S. M.; Schneider, I. A. H. Produção do Coagulante - $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ - para o Tratamento de Águas e Efluentes a Partir da Pirita Presente em Rejeitos de Carvão. In: XXII Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 2007, Ouro Preto. Anais. Ouro Preto: UFOP/UFMG/CDTN, v.II, p. 393-399, 2007.
- Mesquita, L. M. S.; et al. Biobeneficiamento Mineral: potencialidades dos Micro-organismos como Reagentes de Flotação. Rio de Janeiro. CETEM/MCT. 35p, 2002.
- Metcalf & Eddy. *Wastewater Engineering. Treatment and Reuse*. Boston: McGraw-Hill, 2003.
- Miao, X. X., Zhang, J., Feng, M. Waste-filling in Fully-mechanized Coal Mining and its Application. *Journal of China University of Mining & Technology*. V18, n4, p. 479-482, 2008.
- Montealegre, R., Bustos, S. Industrial application of the bacterial thin layer process (BTL). In: Bacilla, R., Vargas, T., Herrera, L. (Eds.), *From Molecular Biology to Industrial Applications*. Universitaria, Santiago de Chile, pp. 95–106, 1990.
- Monteiro, K. V. Carvão: O Combustível de Ontem. Porto Alegre: Núcleo Amigos da Terra, 82p., 2004.
- Morales, E. M. J.; Cerda, P. M. La Bio-Hidrometalurgia en Codelco II Seminario para Periodistas “Hacia una mirada integral de Codelco”. Santiago, Chile, 25 de agosto de 2005.
- Moran, A.; Aller, A.; Cara, J.; Martinez, O.; Encinas, J.P.; Gómez, E. Microbiological Desulfurization of Column-packed Coal. *Fuel Processing Technology*, v. 52, p.155-164, 1997.
- Morin, D.H.R., d'Hugues, P. Biobleaching of a cobalt-containing pyrite in stirred reactors: a case study from laboratory scale to industrial application. In: Rawlings, D.E., 2007 Johnson, B. (Eds.), *Biomining*. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, pp. 35–54.

- Nemati, M.; Harrison, S.T.L.; Hansford, G. S.; Webb, C. Biological Oxidation of Ferrous Sulphate by *Thiobacillus ferrooxidans*: a Review on the Kinetic Aspects. *Biochemical Engineering Journal*, v. I, p. 171-190, 1998.
- Nascimento, F. M. F.; Mendonça, R. M. G.; Macêdo, M. I. F.; Soares, P. S. M.; Resumos do I Congresso Brasileiro de Mina a Céu Aberto & II Congresso Brasileiro de Mina Subterrânea, Belo Horizonte, Brasil, 2002.
- Osório, E.; Vilela, A. C. F.; Sampaio, C. H. Carvão Mineral e Coque Viabilização do Carvão Brasileiro. Nota Técnica: Estudo Prospectivo do Setor Siderúrgico Brasileiro Contrato CGEE/187/2008: p. 1-40, 2008.
- Pearson, F. H.; Nesbitt, J. B. Acid Mine Drainage as a Chemical Coagulant for Treatment of Municipal Wastewater. *Proc. 5th Symposium Coal Mine Drainage Research Lousville*. p. 181-191, 1974.
- Pelczar, M.; Reid, R.; Chan, E. C. S. *Microbiologia*. São Paulo, McGraw-Hill do Brasil, 1981.
- Peterson, M. Produção de Sulfato Ferroso a Partir da Pirita: Desenvolvimento Sustentável. Tese de Doutorado, Florianópolis (SC), Universidade Federal de Santa Catarina. 127p, 2008.
- Pitt, G. J.; Millward, G. R. *Coal and Modern Coal Processing an Introduction*. Ed. Academic Press, p 210, 1979.
- Portaria MS n.º 518/2004. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005. 28p. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental.
- Rao, S.R.; Gehr, R.; Riendenau, M.; Lu, D.; Finch, J.A. Acid Mine Drainage as a Coagulant. *Minerals Engineering*, 5:9, p. 1011-1020, 1992.
- Ravina, L. *Everything you want to know about Coagulation & Flocculation*. Staunton: Zeta-Meter Inc. 1993. 36p.
- Rawlings, D. E.; Tomonobu, K. Molecular Genetics of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Microbiological Reviews*, v. 58(1), p. 39-55, 1994.
- Rawlings, D.E., Tributsch, H., Hansford, G.S. Reasons why *Leptospirillum*-like species rather than *Thiobacillus ferrooxidans* are the dominant iron-oxidizing bacteria in many commercial processes for the biooxidation of pyrite and related ores. *Microbiology* 145, 5–13, 1999.
- Rawlings, D. E. The Molecular Genetics of *Thiobacillus ferrooxidans* and Other Mesophilic, Acidophilic, Chemolithotrophic, Iron or Sulfur-oxidizing Bacteria. *Hydrometallurgy*, v. 59, p. 187-201, 2001.

- Redivo, R. V. Análise do Potencial de Acidificação e de Neutralização em Rejeitos de Beneficiamento do Carvão Mineral da Região Carbonífera. Relatório Técnico, Empresas Rio Deserto. Criciúma, SC, 2004.
- Riefler, R. G.; Krohn, J.; Stuart, B.; Socotch, C. Role of Sulfur-reducing Bacteria in a Wetland System Treating Acid Mine Drainage. *Science on Total Environment*, v. 394, p. 222-229, 2008.
- Rodríguez, Y. B. A.; Ballester, A.; Blázquez, M. L.; González, F.; Muñoz, J. A. Mecanismos de Biolixiviación de Sulfuros Metálicos. *Revista de Metalurgia*, v. 37, 2001, p. 665-672.
- Rodríguez, Y. B. A.; Blázquez, M. L.; Ballester, A.; González, F.; Muñoz, J. A. Basic Studies on Bioleaching of Chalcopyrite, Sphalerite and Pyrite. *Biohidrometallurgy: Fundamentals, Technology and Sustainable Development, Part A*, p. 125-137, 2001.
- Rodríguez, Y. B. A.; Blázquez, M. L.; Ballester, A.; González, F.; Muñoz, J. A. La Biolixiviación al Comienzo del Siglo XXI. *Revista de Metalurgia*, v. 37, p. 616-627, 2001.
- Rodríguez, Y. B. A.; Blázquez, M. L.; González, F.; Muñoz, J. A. New Information on the Pyrite Bioleaching Mechanism at Low and High Temperature. *Ydrometallurgy*, v 1, p. 37-46, 2003.
- Rodríguez, Y. B. A.; Blázquez, M. L.; González, F.; Muñoz, J. A. Microbial Activity in Weathering Columns. *Journal of Hazardous Materials*, v. 141, p. 565-574, 2007.
- Rohwerder, T., Gehrke, T., Kinzler, K., Sand, W., 2003. Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. *Applied Microbiological Biotechnology* 63, 239–248.
- Rubio, J. Carvão Mineral Caracterização e Beneficiamento. Porto Alegre: Nova Linha Artes Gráficas, 240p., 1988.
- Rubio, J.; Silva, R. D. R.; Silveira, A. N., Técnicas para Tratamento e Aproveitamento de Águas Ácidas Residuais da Mineração de Carvão. III Workshop Gestão e Reúso de Água na Indústria - Florianópolis, SC, novembro de 2007.
- Rubio, J.; Silva, R. D. R.; Silveira, A. Técnicas para Tratamento e Alternativas de Reúso de Águas Ácidas de Minas de Carvão. VI Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental. A.-R. PUCRS/FENG. Porto Alegre/RS, 2008.
- Rubio, J.; Silva, R. D. R. Tratamento Ativo de Drenagem Ácida de Minas de Carvão: Situação Atual e Tendências Tecnológicas. XXIII ENTMMME – Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa. Gramado-RS, 2009.
- Rubio, J.; Tessele, F. Processos para o Tratamento de Efluentes na Mineração. Tratamento de Minérios 3a Edição – CETEM 639 Capítulo 16, p. 638-700. 2001.

Sampaio, C. H.; Tavares, L. M. M. Beneficiamento Gravimétrico. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 601p., 2005.

Sand, W., Gehrke, T., Jozsa, P. G., Schippers, A. (2001). (Bio) Chemistry of Bacterial Leaching - Direct vs. Indirect Bioleaching. *Hydrometallurgy*, v. 59, p.159-175, 2001.

Sand, W.; Rohde, K.; Sobotke, B., Zenneck, C. Evaluation of *Leptospirillum ferrooxidans* for Leaching. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58(1), p. 85-92. 1992.

Sasaki, K.; Tsunekawa, M.; Ohtsuka, T.; Konno, H. The Role of Sulfur-oxidizing Bacteria *Thiobacillus thiooxidans* in Pyrite Weathering. *Colloids and Surfaces*, v. 133, p. 269-278, 1998.

Schippers, A. Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification. In: Donati, E.R., Sand, W. (Eds.), *Microbial Processing of Metal Sulfides*. Springer Dordrecht, The Netherlands, pp. 3–33, 2007.

Schneider, C. H. Controle da Drenagem Ácida de Minas na Mineração de Carvão de Santa Catarina: Caso da mina UM II-VERDINHO. Dissertação de Mestrado Apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

Schneider, I. A. H. Controle da DAM na Área do Capão da Roça – Relatório Técnico Copelmi, 2006.

Schnell, H.A. Bioleaching of copper. In: Rawlings, D.E. (Ed.), *Biomining, Theory, Microbes and Industrial Processes*. Springer-Verlag, New York, pp. 21–43, 1997.

Schrenk, M. O.; Edwards, K. J.; Goodman, R. M.; Hamers, R. J.; Banfield, J. F. Distribution of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*: Implications for Generation of Acid Mine Drainage. *Science* disponível em www.sciencemag.org 279(6), 1998.

SENAI-RS. Implementação de Programas de Produção Mais Limpa. Porto Alegre, Centro Nacional de Tecnologias Mais Limpas SENAI-RS/UNIDO/INEP, 2003. 42p.

Sharmaa, P. K.; Dasb, A.; Raoa, A. K. H.; Forssberga, K S. E. Surface Characterization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* Cells Grown Under Different Conditions. *Hydrometallurgy*, p. 1-8, 2003.

Shuler, M. L.; Kargi, F. *Bioprocess Engineering: Basic Concepts*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 479p., 1992.

Shutey-McCann, M.L., Sawyer, F.P., Logan, T., Schindler, A.J., Perry, R.M. Operation of Newmont's biooxidation demonstration facility. In: Hausen, D.M. (Ed.), *Global Exploitation of Heap Leachable Gold Deposits*. The Minerals, Metals and Materials Society, Warrendale, Pennsylvania, pp. 75–82, 1997.

Silva, R. A.; Vigânico, E. M.; Arce, I. S.; Schneider, I. A. H. Produção de Magnetita a Partir da Drenagem Ácida de Minas. In: XXIII Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, Gramado. Anais, v. 2, p. 179-185, 2009.

Silva, R. D. R., Tratamento de Drenagens Ácidas de Minas de Carvão pelo Processo NFSL-Neutralização, Floculação e Sedimentação Lamelar. Dissertação (Mestrado) Apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.

Silveira, A. N.; Silva, R. D. R.;Rubio, J. Treatment of Acid Mine Drainage (AMD) in South Brazil Comparative Active Processes and Water Reuse. Int. J. Miner. Process, v. 93, p. 103-109, 2009.

Sisinno, C. L. S.; Oliveira, R. M. Resíduos Sólidos, Ambiente e Saúde uma Visão Multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 142p., 2000.

Skousen, J. G.; Sexstone, A.; Ziemkiewicz, P. F. Acid Mine Drainage Control and Treatment. American Society of Agronomy and American Society for Surface Mining and Reclamation. Agronomy 41(Capítulo 6), p. 1-42, 2000.

Soares, A. B., Ubaldo, M. O., Souza, V. P., Soares, P. S. M., Barbosa, M. C., Mendonça, M. G. Design of a Dry Cover Pilot Test for Acid Mine Drainage Abatement in Southern Brazil. I: Materials Characterization and Numerical Modeling. Mine Water and Environment, v. 28, n3, p. 219-231, 2009.

Solari, J. A.; Huerta, G.; Escobar, B.; Vargas, T.; Badilla-Ohlbaum, R.; Rubio, J. Interfacial Phenomena Affecting the Adhesion of *T. ferrooxidans* to Sulphite Mineral Surfaces. Colloids and Surfaces, v. 69, p. 159-166, 1992.

Songrong, Y.; Xie Jiyan, X.; Qiu Guanzhou, Q.; Yuehua, H. Research and Application of Bioleaching and Biooxidation Technologies in China. Technical Note in Minerals Engineering, v. 15, p. 361-363, 2002.

Stach, E. et al. Stach's Textbook of Coal Petrology. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 428p., 1975.

Tchobanoglous, G.; Burton, F.; Stensel, H. D. Wastewater Engineering Treatment and Reuse: Metcalf & Eddy. Boston: McGraw Hill, 1819p., 2003.

Teixeira, C. M.; Ramires, I.; Garcia Jr., O.; Guastaldi, A. C. Aplicação de Técnicas Eletroquímicas no Estudo da Dissolução Oxidativa da Covalita (CUS) por *Thiobacillus ferrooxidans*. Química Nova, v. 25(1), p. 20-26, 2002.

TRACTEBEL ENERGIA, Complexo Termelétrico Jorge Lacerda. Disponível em:
<http://www.tractebelenergia.com.br/modules/system/viewPage.asp?P=828&VID=default&SID=281644679357004&S=0&C=5099>

- Trajstman, A. C. A Note on the Characterisation of the Most Probable Number. *Statistics & Probability Letters*, v. 29, p. 293-295, 1996.
- Tributsch, H. Direct Versus Indirect Bioleaching. *Hydrometallurgy*, v. 59, p. 177-185, 2001.
- Valente, T. M.; Gomes, C. L. Occurrence, Properties and Pollution Potential of Environmental Minerals in Acid Mine Drainage. *Science of the Total Environment*, v. 407, p. 1135-1152, 2009.
- Van Aswegen, P.C., Niekerk, J., Oliver, W. The BIOX™ process for the treatment of refractory gold concentrates. In: Rawlings, D.E., Johnson, B. (Eds.), *Biomining*. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, pp. 1–33, 2007.
- Vasquez, B. A. F. Tratamento Secundário de Drenagem Ácida de Mina Em Banhados Construídos e Lagoa de Polimento. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2007.
- Vigânico, E. M. Produção de Sulfato Ferroso a partir de Rejeitos de Carvão. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.
- Walton, J.R. Aluminum in Hippocampal Neurons from Humans with Alzheimer's Disease. *NeuroToxicology*, v. 27, p. 385-394, 2006.
- Watling, H. R.; Elliot, A.D.; Maley, M, Bronswijk, M. W.; Hunter, C. Leaching of a low-grade, copper–nickel sulfide ore. 1. Key Parameters Impacting on Cu Recovery During Column Bioleaching. *Hydrometallurgy*, v. 97, p. 204-212, 2009.
- Weber Jr., W. J. *Physicochemical Processes for Water Quality Control*. New York: Wiley-Interscience, 750p., 1972.
- Wei, X.; Viadero, R.C.; Buzby, K.M.; Recovery of Iron and Aluminum from Acid Mine Drainage by Selective Precipitation. *Environmental Engineering*, v. 22, n6, p. 745-755, 2005.
- Whitehead, P. G.; Cosby, B.J.; Prior, H. The Wheal Jane Wetlands Model for Bioremediation of Acid Mine Drainage. *Science of the Total Environment*, v. 338, p. 125-135, 2005.
- Wilmo Jr., E. F.; Bevilaqua, D.; Garcia Jr., O. Estudo da Dissolução Oxidativa Microbiológica de uma Complexa Amostra Mineral contendo Pirita (FeS_2), Pirrotita (Fe_{1-x}S) e Molibdenita (MoS_2). *Química Nova*, v. 30(5), p. 1095-1099, 2007.
- Wolfgang, S.; et al. Bio/chemistry of Bacterial Leaching Direct vs. Indirect Bioleaching. *Hydrometallurgy*, v. (59), 159–175, 2001.
- World Coal Institute: *The Coal Resource: A Comprehensive Overview of Coal*. London, 2004. 44p.

Yahya, A.; Johnson, D. B. Bioleaching of Pyrite at Low pH and Low Redox Potentials by Novel Mesophilic Gram-positive Bacteria. *Hydrometallurgy*, v. 63, p. 181-188, 2002.

Xiao, S.; Xie, X.; Liu, J. Microbial Communities in Acid Water Environments of Two Mines, China. *Environmental Pollution*, v. 57, p. 1045-1050, 2009.

Zancan, L. C. F., De Luca, S. J. Aplicação da Biolixiviação para a Remoção de Enxofre de Carvões Brasileiros no Controle da Poluição do Ar. In. 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Anais. Fóz do Iguaçu: ABES, p. 1-12, 1997.

Zancan, L. C. F.; De Luca, S. J. Remoção por Biolixiviação de Enxofre de Carvões do Rio Grande do Sul como Forma de Atenuação nas Emissões de SO₂. Cap. 18. do livro Carvão e Meio Ambiente – Centro de Ecologia UFRGS – Editora da Universidade – UFRGS, p. 641-648, 2000.

Zhang, L.; et al. Bioleaching of Pyrite by *A. ferrooxidans* and *L. ferriphilum*. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, v. 18, p. 1415-1420, 2009.