

**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**

**BIOLIXIVIAÇÃO PARA O APROVEITAMENTO DA PIRITA**  
**PRESENTE EM REJEITOS DE CARVÃO MINERAL**

**TESE DE DOUTORADO**

**Angéli Viviani Colling**

**2014**

**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**

**BIOLIXIVIAÇÃO PARA O APROVEITAMENTO DA PIRITA**  
**PRESENTE EM REJEITOS DE CARVÃO MINERAL**

**por**

**Angéli Viviani Colling**

**Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia, Mestre em Engenharia**

**Trabalho realizado no Laboratório de Estudos Ambientais para a Metalurgia (LEAMet) do Departamento de Engenharia Metalúrgica (DEMET) e Laboratório de Tecnologia Mineral e Ambiental (LTM) do Departamento de Engenharia de Minas (DEMIN) ambos do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais (PPGE3M), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Engenharia.**

**Área de concentração: Tecnologia Mineral e Ambiental/Metalurgia Extrativa**

**Esta tese foi analisada e julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Engenharia, área de concentração em Tecnologia Mineral, Ambiental e Metalurgia Extrativa e aprovada em sua forma final pelo orientador, pela banca examinadora e pelo coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais (PPG3M).**

**Orientador: Prof. Dr. Ivo André Homrich Schneider**

**Banca Examinadora:**

**Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Gelsa Edith Navarro Hidalgo**

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS**

**Prof. Dr. Jean Carlos Salomé dos Santos Menezes**

**Universidade do Oeste de Santa Catarina - UNOESC**

**Prof. Dr. Claudio Luís Crescente Frankenberg**

**Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS**

**Prof. Dr. Telmo Roberto Strohaecker**

**Coordenador do PPGE3M/UFRGS**

*Que sequência de ideias, que espírito de aplicação, que massa e poder de esforço brotaram, em todos os caminhos, das obras como Brindley, Watt, Priestley, Arkwright... Em que caminho da vida pode estar um homem que não sinta estimulado ao ver a máquina a vapor de Watt?*

*Arthur Young, Viagens na Inglaterra e no País de Gales*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

- Ao governo do Brasil pelo investimento em educação e a todos os brasileiros que contribuem pelo pagamento de seus impostos;
- Ao Ministério da Educação, Ministério da Ciência e Tecnologia, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Departamento de Metalurgia da UFRGS (DEMET-UFRGS), Departamento de Minas da UFRGS (DEMIN-UFRGS), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais (PPGE3M) pelo auxílio financeiro e prestação de serviços públicos;
- À Rede de Carvão - Pesquisa, Desenvolvimento Tecnológico e Inovação em Carvão Mineral pelo auxílio financeiro intermediado por projetos;
- Ao Prof. Ivo André Homrich Schneider pela orientação;
- Ao pessoal do Laboratório de Estudos Ambientais para Metalurgia (LEAMet-UFRGS), Laboratório de Processamento Mineral (LAPROM-UFRGS), Laboratório de Corrosão (LACOR-UFRGS) e Laboratório de Tecnologia Mineral (LTM-UFRGS) pelas contribuições técnicas e amizade;
- Ao grupo de pesquisadores da microbiologia da UFRGS, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e Instituto de Química da UFRJ (IQ-UFRJ) que prestaram auxílio nas análises moleculares;
- Ao Paulo Sérgio, Vicente e Cláudia do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) pelas contribuições iniciais no Rio de Janeiro;
- Aos colegas pesquisadores do Laboratório de Modelagem, Simulação e Engenharia Molecular (ATOMS) da Escola de Química (EQ-UFRJ) e Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-graduação e Pesquisa de Engenharia (COPPE-UFRJ), em especial às professoras Eliana Flávia, Heloísa Lajas Sanches;
- À Carbonífera Criciúma S.A. que forneceu as amostras e sempre esteve disposta a contribuir com informações para o trabalho;

- Ao meu noivo, eu agradeço a compreensão, o amor, a presença e o apoio durante o período de doutorado;
- A Meise Pricila de Paiva pela amizade e apoio constantes;
- A minha família por me guiar pelo caminho da honestidade, justiça e verdade.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Geração de DAM a céu aberto de um módulo de rejeito da mineração de carvão na cidade de Criciúma, no Estado de Santa Catarina. Fonte: CETEM, (2001a).....	24
Figura 2. Vista aérea do pátio de módulos de rejeito e geração de DAM na cidade de Criciúma (SC). Fonte: CETEM, (2001b). .....	24
Figura 3. Geração de DAM de um módulo de rejeito da mineração de carvão na cidade de Criciúma (SC).....	26
Figura 4. Lodo gerado a partir do tratamento ativo da DAM. Fonte: Silva, (2009).....	26
Figura 5. Fluxograma de processos de utilização industrial do carvão mineral e da recuperação do concentrado e intermediário de pirita oriunda do re-beneficiamento do rejeito de carvão mineral. Fonte: Colling (2012).....	30
Figura 6. Diagrama de Pourbaix de ferro a 25°C e 1 atm. Fonte: Brookins et al. (1998). .....	32
Figura 7. Diversidade baseada nas regiões V4-V8 do rRNA. Fonte: Zettleer et al. (2011). ....	37
Figura 8. Drenagem ácida de minas da Iron Mountain. Fonte: <a href="http://wwwbrr.cr.usgs.gov/projects/GWC_chemtherm/ironmtn.htm">http://wwwbrr.cr.usgs.gov/projects/GWC_chemtherm/ironmtn.htm</a> . .....	38
Figura 9. Drenagem ácida gerada no Rio Tinto. Fonte: Rio Tinto Espanha, 2010. ....	38
Figura 10. Diversidade de organismos. Fonte: Brett et al. (2003).....	38
Figura 11. Imagem de <i>A. ferrooxidans</i> em AFM na superfície de grafite. Fonte: Ginsburg et al. (2007).....	41
Figura 12. Imagem da <i>A. thiooxidans</i> em microscopia eletrônica. Fonte: Khan et al. (2012). ..	41
Figura 13. Imagem de <i>A. acidophilus</i> . Fonte: Pronk et al. (1990).....	42
Figura 14. Imagem <i>L. ferrooxidans</i> . Fonte: Sand et al. (1991). ....	42
Figura 15. Imagem <i>S. thermosulfidooxidans</i> . Fonte: Kondrat'eva et al. (2012). .....	43
Figura 16. Imagem <i>S. acidocaldarius</i> . Fonte: Stetter et al. (1985). ....	43
Figura 17. Imagem <i>A. brierleyi</i> . Fonte: Mikkelsen et al. (2007). .....	44
Figura 18. Imagem <i>A. cryptum</i> . Fonte: <i>Bacmap Genome Atlas</i> ( <a href="http://bacmap.wishartlab.com/organisms/509#biography">http://bacmap.wishartlab.com/organisms/509#biography</a> ) .....	44
Figura 19. Distribuição das principais pesquisas em bio-hidrometalurgia.....	47
Figura 20. Mecanismo de contato direto. Fonte: Adaptado de Crundwell, 2003.....	51
Figura 21. Mecanismo de contato indireto. Fonte: Adaptado de Crundwell, 2003.....	52
Figura 22. Mecanismo indireto. Fonte: Adaptado de Crundwell, 2003. ....	52
Figura 23. Interação de mecanismos. Fonte: Adaptado de Tributsch, 2001. ....	53

Figura 24. Mecanismo de atuação da bactéria <i>A. ferrooxidans</i> na pirita. Fonte: Adaptado de Garcia (2001).....	54
Figura 25. Mecanismos do tiosulfato e polissulfeto. Fonte: Adaptado de Sand et al., 2001. .	55
Figura 26. Lixiviação bacteriana da arsenopirita. Fonte: Adaptado de Garcia (1986).....	58
Figura 27. Lixiviação bacteriana da calcopirita. Adaptado de Garcia (1986). .....	60
Figura 28. Lixiviação bacteriana da uraninita. Fonte: Adaptado de Garcia (1986). .....	63
Figura 29. Esquema simplificado de lixiviação em pilhas. Fonte: Colling, 2012.....	67
Figura 30. Etapas de desenvolvimento de um processo produtivo.....	68
Figura 31. Rejeito de carvão.....	75
Figura 32. Complexo industrial da Mina do Verdinho. Fonte: Carbonífera Criciúma S.A. ....	76
Figura 33. Fluxograma da metodologia aplicada para os experimentos. ....	78
Figura 34. Reator de escala laboratorial para ensaios de biolixiviação.....	80
Figura 35. Montagem do experimento em nível de bancada. Fonte: Colling, 2012. ....	80
Figura 36. Aspecto construtivo da planta piloto. Fonte: Colling, 2012. ....	82
Figura 37. Planta piloto. Fonte: Colling, 2012. ....	83
Figura 38. Aspectos construtivos em 3D da planta piloto de biolixiviação. Fonte: Colling, 2012. ....	84
Figura 39. Medidas para construção da planta piloto.....	84
Figura 40. Planta industrial na carbonífera em Criciúma (SC). Fonte: Carbonífera Criciúma, 2012. ....	86
Figura 41. Fluxograma da metodologia aplicada para a determinação da diversidade de organismos pela técnica DGGE.....	91
Figura 42. Tubos de ensaio da análise do NMP:100mL mostrando o resultado positivo para <i>A. ferrooxidans</i> .....	92
Figura 43. Rio Guandu, local de adução da água bruta para a ETA Guandu e local de coleta da água bruta para a realização do teste de jarros, Seropédica/RJ. ....	95
Figura 44. Distribuição granulométrica do rejeito de carvão. ....	98
Figura 45. Fluorescência de raio-x do rejeito de carvão.....	100
Figura 46. Análise de difração de raio-x do rejeito de carvão.....	102
Figura 47. 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. ....	103

Figura 48. Comportamento anual da acidez da EDR4. Fonte: Cortesia Carbonífera Cricúma S.A. ....	105
Figura 49 - Local da coleta do inóculo. Fonte: Colling, (2012). ....	108
Figura 50. Cultivo de bactérias em diferentes meios seletivos.....	110
Figura 51. Imagem obtida em MEV de diferentes áreas de um grão de rejeito de carvão de lixiviação com inóculo e micronutrientes mostrando a presença de bactérias acidofílicas. O comprimento da barra (escala) é equivalente a 1µm. ....	111
Figura 52. Colônias formadas a partir de amostras do processo de biolixiviação. ....	112
Figura 53. Gel de eletroforese apresentando bandas de micro-organismos. ....	113
Figura 54. Comportamento do pH nas três colunas onde foi utilizada a água natural. ....	115
Figura 55. Comportamento do pH nas três colunas onde foi utilizada a EDR4.....	115
Figura 56. Comportamento de Eh nas 3 colunas com água natural. ....	116
Figura 57. Comportamento de Eh nas 3 colunas com água EDR4.....	116
Figura 58. Comportamento do ferro total, g.L <sup>-1</sup> , nas 3 colunas com água natural. ....	116
Figura 59. Comportamento do ferro total, g.L <sup>-1</sup> , nas 3 colunas com água EDR4. ....	116
Figura 60. Comportamento do Fe <sup>3+</sup> e Fe <sup>2+</sup> , g.L <sup>-1</sup> , nas 3 colunas com água natural.....	116
Figura 61. Comportamento do Fe <sup>3+</sup> e Fe <sup>2+</sup> , g.L <sup>-1</sup> , nas 3 colunas com água EDR4.....	116
Figura 62. Comportamento da cor nas três colunas com água natural. ....	118
Figura 63. Comportamento da cor nas três colunas com EDR4.....	118
Figura 64. Comparação do comportamento da cor e ferro total nas três condições bancada com água natural.....	119
Figura 65. Comparação do comportamento da cor e ferro total nas três condições bancada com EDR4. ....	119
Figura 66. Lixívia obtida na quarta semana de biolixiviação em colunas. Na esquerda, a lixívia da coluna controle e à direita a lixívia da coluna com bactérias e nutrientes sintéticos. ....	120
Figura 67. Comportamento do sulfato nas 3 colunas com ureia e água natural. ....	121
Figura 68. Comportamento nas 3 colunas com ureia e EDR4.....	121
Figura 69. NMP:100mL de <i>A. ferrooxidans</i> em suspensão em função das semanas do experimento de lixiviação com água natural. ....	121
Figura 70. NMP:100mL de <i>A. ferrooxidans</i> em suspensão em função das semanas do experimento de lixiviação com EDR4.....	121

Figura 71. Concentrado férrico obtido após nove semanas de biolixiviação. À esquerda o sulfato férrico da coluna controle e à direita o mesmo reagente da coluna com nutriente sintético.....	123
Figura 72. Comportamento do pH na condição controle.....	124
Figura 73. Comportamento pH na condição ideal. ....	124
Figura 74. Comportamento do Eh na condição controle. ....	125
Figura 75. Comportamento Eh na condição ideal. ....	125
Figura 76. Comportamento do ferro total na condição controle.....	125
Figura 77. Comportamento do ferro total na condição ideal. ....	125
Figura 78. Comportamento do $Fe^{3+}$ e $Fe^{2+}$ na condição controle.....	125
Figura 79. Comportamento do $Fe^{3+}$ e $Fe^{2+}$ na condição ideal. ....	125
Figura 80. Comparação do comportamento da cor no experimento controle e ideal.....	126
Figura 81. Comportamento da concentração de sulfato na planta controle.....	127
Figura 82. Comportamento da concentração de sulfato na condição ideal. ....	127
Figura 83. NMP:100mL de <i>A. ferrooxidans</i> em suspensão em função das semanas do experimento de lixiviação na planta piloto.....	127
Figura 84. Diagrama esquemático do metabolismo microbiano de oxidação da pirita. Fonte: Adaptado de Backer e Banfield, 2003. ....	131
Figura 85. Lixívias obtidas nas plantas controle (esquerda) e ideal (direita).....	133
Figura 86. Sulfato ferroso evaporado. Fonte: Colling, 2012. ....	134
Figura 87. Sulfato ferroso cristalizado. Fonte: Colling, 2012. ....	134
Figura 88. Imagem obtida em MEV do produto cristalizado obtido da condição controle na planta piloto. O comprimento da barra (escala) é equivalente a 5 $\mu$ m. ....	134
Figura 89. Relação $Fe^{3+}/Fe^{2+}$ .....	135
Figura 90. Proposta de construção de módulos de biolixiviação para nível industrial. Fonte: Colling, 2012. ....	137
Figura 91. Comparação do pH nos diferentes níveis de processo. ....	140
Figura 92. Comparação da extração de ferro nas diferentes escalas de processo. ....	140
Figura 93. Comparação da extração de sulfato nos diferentes níveis de processo.....	141
Figura 94. Relação Molar Ferro/Sulfato nas três escalas de experimentos. ....	141
Figura 95. Rótulo do produto <i>Sulfaclean</i> . ....	144
Figura 96. Rótulo do produto <i>Biohyextract</i> . ....	144
Figura 97. Sulfato férrico líquido, <i>Sulfaclean</i> e <i>Biohyextract</i> . ....	145

Figura 98. <i>Sulfaclean</i> e <i>Biohyextract</i> no estado sólido.....	145
Figura 99. Água bruta e tratada com o coagulante produzido a partir do rejeito de carvão...	145
Figura 100. Etapa de sedimentação no teste de jarros. O tempo de sedimentação foi de 10 min. .....	146
Figura 101. Etapas do processo de ampliação de escala. ....	148
Figura 102. Escala inicial de desenvolvimento de processo. ....	149
Figura 103. Escala de bancada contendo volume de 1L.....	149
Figura 104. Escala de volume de até 500L.....	149
Figura 105. Relação de $\eta_{sp}/c$ e $\eta_{sp}/c^2$ .....	153
Figura 106. Laboratório de microbiologia montado no LTM-UFRGS ao longo da tese de doutorado.....	162

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Métodos de controle de DAM. Fonte: Adaptado de Kontopoulos, 1998. ....	25
Tabela 2. Diversidade de organismos em ambientes ácidos. Fonte: Johnson (2008). ....	40
Tabela 3. Alguns dos principais pesquisadores em bio-hidrometalurgia no mundo. Fonte: Adaptado IBS, 2013. ....	48
Tabela 4. Alguns avanços nas pesquisas em bio-hidrometalúrgica. Fonte: Adaptado de Brierley, 2008. ....	50
Tabela 5. Alguns sulfetos com possibilidade de lixiviação. Adaptado de Garcia (2001). ....	61
Tabela 6. Parâmetros que podem influenciar na lixiviação bacteriana. ....	65
Tabela 7. Tipos de processos/reatores comumente empregados na biolixiviação. ....	66
Tabela 8. Equipamentos utilizados nas análises físicas, químicas e biológicas. ....	77
Tabela 9. Análises realizadas no lixiviado obtido a cada semana nos ensaios de biolixiviação. .....	87
Tabela 10. Teste qualitativo da presença de bactérias acidofílicas. ....	90
Tabela 11. Análises realizadas no coagulante. ....	93
Tabela 12. Análises realizadas na água tratada. ....	96
Tabela 13. Análise imediata e de enxofre do rejeito de carvão. ....	99
Tabela 14. Análise semi-quantitativa por fluorescência de raio-x. ....	101
Tabela 15. Análise elementar do rejeito de carvão. ....	101
Tabela 16. Características da água de circulação utilizada nos ensaios de colunas. ....	104
Tabela 17. Características da água de circulação, EDR4, utilizada nos ensaios piloto e industrial. ....	105
Tabela 18. Caracterização de águas ácidas. ....	107
Tabela 19. Características da DAM utilizada como inóculo. ....	108
Tabela 20. Análise microbiológica utilizando meios de cultura seletivos. ....	109
Tabela 21. Relação mássica Fe/SO <sub>4</sub> (M/M). ....	122
Tabela 22. Relação mássica Fe/SO <sub>4</sub> (M/M). ....	128
Tabela 23. Resultado comparativo antes e após o controle microbiológico do processo de biolixiviação. ....	138
Tabela 24. Comparação dos extratos obtidos nos níveis bancada, piloto e industrial. ....	139
Tabela 25. Características do rejeito de carvão após o ensaio de lixiviação. ....	142

Tabela 26. Composição química do sulfato férrico, coagulante produzido da biolixiviação do rejeito de carvão.....	143
Tabela 27. Características da água bruta e tratada com o coagulante produzido. ....	147
Tabela 28. Matriz dos parâmetros em dimensões básicas. ....	150
Tabela 29. Valores dos parâmetros do processo nas escalas de laboratório e piloto. ....	152

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

APHA	American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater
ATP	Adenosina Trifosfato
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEDAE	Companhia Estadual de Águas e Esgotos do Rio de Janeiro
CEPAC	Centro de Excelência em Pesquisa e Inovação em Petróleo, Recursos Minerais e Armazenamento de Carbono
CETEM	Centro de Tecnologia Mineral
CHNS	Equipamento para análise de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
COPPE	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-graduação e Pesquisa de Engenharia
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DAM	Drenagem Ácida de Minas
DMAE	Departamento de Águas e Esgoto de Porto Alegre
DEMET	Departamento de Metalurgia
DEMIN	Departamento de Minas
DGGE	<i>Denaturing Gradient Gel Electrophoresis</i> Eletroforese em gel em gradiente desnaturante.
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DRX	Difração de Raios X
EDS	Espectroscopia por Dispersão de Energia
Eh	Potencial de oxi-redução
FATMA	Fundação do Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina
LASID	Laboratório de Siderurgia
LEAMet	Laboratório de Estudos Ambientais para a Metalurgia
LTM	Laboratório de Tecnologia Mineral e Ambiental
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
m/m	Massa/Massa
NBR	Norma Técnica Brasileira

NMP	Número Mais Provável
OMG	Organismo Geneticamente Modificado
p.a.	Para Análise
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> – Reação em cadeia da polimerase
PEAD	Polietileno de alta densidade
pH	Potencial Hidrogeniônico
PPG3M	Programa de Pós Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais
PUC-RS	Pontifícia Universidade do Rio Grande do Sul
RNA	Ácido Ribonucléico
ROM	<i>Run Of Mine</i>
rpm	Rotações Por Minuto
SIECESC	Sindicato da Indústria de Extração de Carvão do Estado de Santa Catarina
TAC	Termo de Ajuste de Conduta
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
$T$	Temperatura
$c_p$	Capacidade calorífica a pressão constante
$k$	Condutividade térmica
$\Delta H_R$	Entalpia da reação
$[Fe]_{alim}$	Concentração de ferro na alimentação
$[Fe]_{prod}$	Concentração de ferro produzido
$[bac]$	Concentração de inóculo
$r$	Taxa de reação
$\rho$	Densidade do fluido
$\mu$	Viscosidade do fluido
$\tau$	Tempo de residência da solução da pilha
$\bar{d}_p$	Diâmetro médio das partículas do rejeito
$D$	Diâmetro da pilha

## RESUMO

O carvão mineral brasileiro corresponde a cerca de 2% da matriz energética do país. Suas reservas são estimadas em 32 bilhões de toneladas. As principais reservas estão localizadas nos estados do Paraná, de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul. Uma das características deste carvão é a elevada concentração de pirita,  $\text{FeS}_2$ , no material lavrado. Por este motivo são necessários processos de beneficiamento que descartam cerca de 60-70% do material minerado. Portanto, um dos principais problemas enfrentados pelo setor é justamente a geração de grandes quantidades de rejeito piritoso que são descartadas diariamente nos pátios industriais. Este material, que permace a céu aberto, em contato com a água da chuva, oxigênio atmosférico e bactérias, que vivem em ambientes ácidos, gera a drenagem ácida de minas (DAM). Este efluente possui elevada concentração de íons de metais dissolvidos e sulfato que contaminam as bacias hidrográficas da região prejudicando o meio ambiente e a população. Medidas fiscalizatórias e jurídicas têm sido tomadas com o objetivo de obrigar uma solução para o problema, mas a sua dimensão é um grande desafio. Este fato leva as empresas a buscarem alternativas tecnológicas diversas para amenizar a questão. Portanto, com o objetivo de contribuir com alternativas para este problema, a presente tese de doutorado realiza o estudo da aplicação do processo bio-hidrometalúrgico para a oxidação de pirita dos rejeitos oriundos da mineração de carvão gerando produtos com valor agregado. O processo utiliza bactérias acidofílicas que têm a capacidade de metabolizar os compostos de ferro e transformar em produtos de interesse. A metodologia do trabalho consistiu, inicialmente, na caracterização do rejeito de carvão, da fonte de inóculo de bactérias e da água de circulação do sistema. O processo foi conduzido nos níveis bancada, piloto e uma prévia instalação industrial. Estudos em nível de bancada determinaram os parâmetros de operação da planta em escala piloto. As colunas empregadas em bancada foram montadas com 1 kg de rejeito de carvão disposto na forma de leito empacotado, nas seguintes condições: (a) rejeito-controle, (b) rejeito com micronutrientes sintéticos e inóculo bacteriano, (c) rejeito com micronutriente ureia e inóculo bacteriano. A unidade de biolixiviação, montada em escala piloto, continha 200kg de rejeito de carvão e foi operada na condição controle e ideal. Os principais parâmetros observados no processo foram o pH, potencial de oxi-redução, ferro total,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , metais, cor, sulfatos e número mais provável de bactérias acidofílicas. Os

resultados da caracterização do rejeito de carvão mostraram que os elementos majoritários na composição foram o ferro e o enxofre, dispostos na forma de pirita. A avaliação por mais de um teste microbiológico comprovou a presença da bactéria *A. ferrooxidans* no processo. Os ensaios realizados em colunas mostraram que o uso de nutriente sintético e ureia apresentam resultados semelhantes para a extração de ferro. A utilização de água natural e EDR4, águas de circulação, também apresentaram resultados semelhantes, porém houve uma leve vantagem para a utilização da EDR4. A planta piloto operada na condição controle e ideal mostrou que com a presença de bactérias aumentou a extração de ferro, aumentou o potencial redox e a maior parte do ferro extraído em solução estava na forma de  $Fe^{3+}$ . No caso da planta controle, onde o número de bactérias era baixo, houve menor extração de ferro, baixos valores de potencial redox e a maior parte dos íons, neste caso, estavam na forma de  $Fe^{2+}$ . Portanto, houve formação de dois produtos o sulfato férrico e ferroso pelo controle da presença da bactéria *A. ferrooxidans* no sistema. Após nove semanas de biolixiviação, com a presença de  $10^8$  bactérias *A. ferrooxidans* em 100mL, foi gerado o concentrado férrico que filtrado e evaporado atingiu a concentração desejável de ferro para a comercialização como coagulante de água e efluentes que é cerca de  $120 \text{ g.L}^{-1}$ . O produto mostrou-se eficaz no tratamento de água do Rio Guandu, atendendo aos parâmetros exigidos pela Portaria Brasileira 2.914/2011 do Ministério da Saúde. Foram criadas, ao final do trabalho, duas marcas de produtos para o sulfato férrico produzido: o *Sulfaclean* e o *Biohyextract*. Se processados mensalmente 3.200t de rejeito de carvão seria possível abastecer com água tratada uma cidade com porte de 200.000 habitantes. A implantação deste processo é de baixo custo uma vez que a matéria-prima é o rejeito e a transformação do sistema é realizada por bactérias. Porém, um dos desafios ainda é a velocidade do processo, que ainda é lenta, embora as bactérias aumentem a velocidade em 4 vezes.

## ABSTRACT

The Brazilian coal accounts for about 2% of the country's energy. Its reserves are estimated at 32 billion tons. The main reserves are located in the states of Parana, Santa Catarina and Rio Grande do Sul. One of the characteristics of this coal is the high concentration of pyrite ( $\text{FeS}_2$ ). For this reason, the beneficiation processes imply on discarding about 60-70% of the mined material. Therefore, one of the main problems of the sector is precisely the generation of large amounts of pyritic tailings which are discarded in industrial yards. This material in contact with rainwater, oxygen and bacteria, that lives in acidic environments, generates acid mine drainage (AMD). This effluent has high concentration of metal ions and dissolved sulphate that contaminate the environment. Legal measures have been taken to solve the problem. This leads many companies to seek alternative technologies to mitigate the issue. Thus, with the aim of contributing to this problem, this thesis conducts a study of the application of bio-hydrometallurgical processes in order to oxidize pyrite tailings originated from coal mining and to generate add-valued products. The process uses acidophilic bacteria that have the ability to metabolize iron compounds and to transform it into products of interest. The methodology of the study consisted initially in the characterization of the coal tailing, of the bacteria used in the process and of the circulating water system. The process was conducted in levels, laboratory, pilot plant and a previous industrial plant. Level countertop studies determined operational parameters of the plant on a pilot scale. The columns used in countertops were fulfilled by 1 kg of waste which were disposed in the form of coal packed bed. The experiment was developed under the following conditions: (a) Reject control, (b) reject with synthetic micronutrients and bacterial inoculum, (c) reject with micronutrient urea and bacterial inoculum. The bioleaching unit, mounted on a pilot scale, contained 200kg of coal waste and operated under the control condition and the ideal condition. The main parameters process were observed in pH, redox potential, total iron,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , metals, color, sulfates, and most likely number of acidophilic bacteria. The results of the characterization of coal waste showed that the majority of the elements in the composition are iron and sulfur, arranged in the form of pyrite. The rating for more than a microbiological test showed the presence of the bacterium *A. ferrooxidans* in the process. Tests performed on columns showed that the use of a synthetic nutrient and urea have similar results for the

extraction of iron, although the use of synthetic nutrient presents a slight advantage. The use of natural water and EDR4, water circulation, also showed similar results, although there was a slight advantage to the use of EDR4. The pilot plant operated at ideal control condition and it showed that the presence of bacteria increased the extraction of iron, as well as the redox potential and most of the iron in solution in the form of  $\text{Fe}^{3+}$ . In the particular case of the plant control, where the number of bacteria was low, there was a lower iron extraction, a lower redox potential values and the majority of ions in this case was in the form of  $\text{Fe}^{2+}$ . Therefore, the formation of two products (ferric sulfate and ferrous sulfate) is controlled by *A. ferrooxidans* bacteria in the system. After nine weeks of bioleaching in the presence of  $10^8$  *A. ferrooxidans* bacteria: 100ml, it was generated a ferric filtered which was evaporated and concentrate. After that, this ferric filtered has reached the desired iron concentration (about  $120\text{g.L}^{-1}$ ) in order to be commercialized as a coagulant in water treatment. The product was effective in the treatment of water from Guandu River, given the parameters required by the Brazilian Ministry of Health's Decree 2,914/2011. In the end of the work, it was created two brands of products for the produced ferric sulfate: the Sulfaclean and Biohyextract. If 3.200t of coal waste were processed each month, it would be possible to supply a 200,000 inhabitant city with treated water. The implementation of this process has low cost because the raw material is coal tailing and its processing system is performed by bacteria. However, one challenge is still the speed of the process, which is still slow, even though the bacteria has already increase the speed process by 4 times.

## ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVOS.....	20
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1 Exploração do carvão mineral e suas implicações ambientais.....	21
3.1.1 Carvão mineral.....	21
3.1.2 Rejeitos de carvão mineral e DAM em Santa Catarina.....	22
3.1.3 Métodos de controle da DAM.....	25
3.1.4 Contextualização jurídica de Santa Catarina.....	26
3.1.5 Novas perspectivas ambientais no Brasil.....	27
3.2 Reações da oxidação da pirita.....	31
3.3 Diversidade de micro-organismos.....	33
3.3.1 Técnicas moleculares aplicadas à identificação de micro-organismos.....	34
3.3.2 Diversidade de organismos acidofílicos.....	36
3.4 Bio-hidrometalurgia.....	45
3.5 Interações dos micro-organismos acidofílicos.....	51
3.5.1 Mecanismos de atuação.....	51
3.5.2 Metabolismo.....	56
3.5.3 Lixiviação bacteriana.....	58
3.6 Controle do processo.....	63
3.7 Reatores de biolixiviação.....	66
3.8 Variação de escala.....	67
3.9 Aplicações dos sais e óxidos férricos.....	72
4 EXPERIMENTAL.....	74
4.1 Materiais.....	74
4.1.1 Rejeito de carvão.....	74
4.1.2 Água de circulação.....	75
4.1.3 Reagentes analíticos e comerciais.....	76
4.1.4 Equipamentos.....	77
4.1.4.1 Equipamentos gerais.....	77
4.1.4.2 Ensaios de biolixiviação.....	78

4.2 Análises.....	86
4.2.1 Caracterização do rejeito de carvão .....	86
4.2.2 Monitoramento do processo de lixiviação .....	87
4.2.3 Diversidade de bactérias acidofílicas e quantificação bacteriana .....	88
4.2.3.1 Meios seletivos .....	88
4.2.3.2 Formação de colônias em meios sólidos .....	90
4.2.3.3 DGGE .....	90
4.2.3.4 Quantificação de bactérias.....	92
4.2.4 Preparativos para a produção do coagulante .....	93
4.2.5 Ensaio de coagulação.....	94
4.3 Aumento de escala .....	96
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	98
5.1 Caracterização do rejeito de carvão .....	98
5.1.1 Distribuição granulométrica.....	98
5.1.2 Análise imediata e enxofre .....	99
5.1.3 Fluorescência de raio-x .....	100
5.1.4 Análise elementar .....	101
5.1.5 Difração de raio-x.....	102
5.1.6 MEV-EDS .....	103
5.2 Água de circulação.....	104
5.3 Inóculo .....	106
5.4 Diversidade de micro-organismos acidofílicos.....	109
5.4.1 Testes seletivos.....	109
5.4.2 Identificação das bactérias por MEV .....	111
5.4.3 Formação de colônias.....	111
5.4.4 Diversidade de micro-organismos acidofílicos por DGGE.....	112
5.5 Ensaio de biolixiviação .....	113
5.5.1 Bancada .....	114
5.5.2 Planta piloto.....	123
5.5.3 Planta industrial.....	136
5.6 Produção do coagulante .....	139
5.7 Ensaio de coagulação .....	145

5.8 Aumento de escala .....	147
5.9 Aspecto econômico-ambiental da implantação do processo .....	154
6. CONCLUSÕES .....	155
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	159
PRODUÇÃO CIENTÍFICA ASSOCIADA À TESE.....	160
REFERÊNCIAS .....	163

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de energia no mundo, em geral, torna necessário o maior consumo de combustíveis não renováveis, uma vez que as tecnologias renováveis ainda não são suficientes para suprir a demanda. Nesse sentido, desafios referentes às emissões atmosféricas, geração de resíduos e efluentes estão sendo amplamente discutidos pelos Estados em debates mundiais sobre mudanças climáticas e questões ambientais internacionais.

Os desafios ambientais tornam-se ainda mais críticos porque as relações econômicas estão fortemente consolidadas com os combustíveis fósseis. E, na maioria dos casos, o aumento no consumo de energia industrial está relacionado ao maior desenvolvimento econômico do país. Em alguns países como China, Estados Unidos e Austrália a exploração do carvão mineral, por exemplo, teve e tem uma participação significativa na economia, pertencendo estes países ao *ranking* dos dez maiores exploradores de carvão mineral conforme o *World Coal Association* (2013).

Já a relação do Brasil com a utilização do carvão mineral é mais modesta e corresponde a cerca de 2% da matriz energética do país. Embora existam dados referentes a camadas carboníferas de melhor qualidade na região amazônica e também próximas ao litoral do Rio Grande do Sul, poucas são as expectativas de exploração, pois estas regiões são áreas de conservação ambiental. O carvão mineral utilizado no Brasil está concentrado, principalmente, na região sul do país, nos estados do Rio Grande do Sul, leste de Santa Catarina e Paraná. Os locais de maior exploração são Candiota (RS), região do Baixo Jacuí (RS) e Região Carbonífera do Sul Catarinense (SC). O carvão extraído possui aumento no conteúdo de minerais de rochas sedimentares, como sulfeto de ferro (pirita), do sul para o norte.

O principal uso do carvão mineral brasileiro é na termoelectricidade. Embora o carvão catarinense contenha propriedades para uso no coque, a presença de porcentagem considerável de pirita na sua composição compromete a aplicação. Por este motivo, as usinas de beneficiamento de carvão mineral descartam cerca de 30 a 70% de todo o material minerado. Volumes consideráveis deste rejeito são dispostos em áreas próximas ao local de mineração, sendo considerado material sem valor comercial conforme Gaivizzo et al., (2000). Os depósitos de rejeito permanecem a céu aberto e representam uma fonte de poluição com severo controle ambiental por parte das entidades fiscalizadoras. O maior problema enfrentado, além das grandes áreas ocupadas por rejeitos, é a oxidação da pirita. As reações

de oxidação da pirita geram um fenômeno conhecido, nas regiões de mineração, como drenagem ácida de minas (DAM). A DAM, segundo Kontopoulos (1998) é o termo usado para descrever a drenagem que ocorre como resultado da oxidação natural de sulfetos metálicos, quando expostos à combinação da ação de água e oxigênio atmosférico. Este efluente ácido contém elevadas concentrações de íons de metais dissolvidos e sulfato, baixo pH e alta acidez comprometendo a qualidade dos recursos hídricos regionais. Em períodos de precipitação pluviométrica, a água de percolação das pilhas de rejeito contribui para o aumento do ciclo auto-catalítico de acidez e da poluição do solo e da água.

Para o controle da DAM em áreas de mineração de carvão, podem ser utilizados métodos preventivos, de contenção e de remediação (Kontopoulos, 1998). Algumas ações têm sido recentemente investigadas. Uma delas é o 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). Essas técnicas, entretanto, acarretam altos custos, contínuo monitoramento ambiental da área e apenas atenuam o problema. Assim, a solução ainda tem sido o emprego de técnicas de final de tubo, conforme Silveira et al. (2009), utilizando o tratamento ativo da DAM, onde os custos também são elevados, mas de outra natureza, pela utilização de reagentes para o tratamento, operação do sistema e disposição de lodos.

Nesta linha de raciocínio, é indispensável considerar a necessidade de pesquisa e de projetos alternativos em relação ao destino dado aos rejeitos de beneficiamento. Trata-se de uma massa mineral não aproveitada e que, até onde se sabe, deve-se justamente à falta de projetos de pesquisa e de ações voltadas ao aproveitamento integral dos recursos minerais presentes na massa de rejeitos Schneider, 2006.

Diante deste cenário, ferramentas da engenharia podem servir como alternativa para concentrar e transformar a pirita, por meio do processo hidrometalúrgico, gerando produtos ao invés da perda de material com valor agregado na forma DAM. Os produtos gerados podem ser sais e óxidos férricos e ferrosos como já mencionados por Menezes (2009); Colling (2009) e Silva (2009). O processo está baseado, principalmente, no fato de que a oxidação da pirita, em presença de ar e água, gera o sulfato férrico. Nesse sentido, Menezes e Schneider (2007) e Schneider (2006) propuseram a produção de sulfato férrico pela 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 também reparou que no processo, há a presença de bactérias acidofílicas. Em suas investigações, entretanto, não houve controle das condições microbiológicas que podem influenciar de forma significativa na velocidade do processo. Posteriormente, Colling (2009) monitorou, em nível bancada, o comportamento microbiológico do processo. Desta forma, aumentou em quatro vezes a extração de ferro da pirita presente nos rejeitos de carvão, utilizando uma composição sintética de nutrientes (principalmente fontes de nitrogênio e fósforo) e micro-organismos acidofílicos.

Muitas questões para o controle do processo, entretanto, estão em aberto. Entre elas pode-se citar a identificação da comunidade bacteriana presente no material, a necessidade de uso de nutrientes para a aceleração do processo, o comportamento de íons férricos e ferrosos no reator, estudos em planta piloto para obtenção de lotes de produtos e dados de projeto para a escala industrial.

Nesse contexto, o presente trabalho enquadra-se nos métodos preventivos, aplicando a bio-hidrometalurgia na obtenção de produtos com valor agregado e de larga aplicação comercial a partir da pirita presente em rejeitos do beneficiamento de carvão. Este trabalho, também, contempla o objetivo declarado no Decreto nº 6041, de 8 de fevereiro de 2007, que institui a Política de Desenvolvimento da Biotecnologia, citando, na página 19, o incentivo ao desenvolvimento de tecnologias de biolixiviação no tratamento de resíduos da indústria de mineração.

As vantagens do processo são o baixo consumo de energia e de reagentes. Um dos principais agentes do processo são bactérias acidofílicas, que toleram altas concentrações de metais e atuam por mecanismos de contato e não contato nos minerais sulfetados, acelerando a liberação de ferro e sulfato para a solução.

## 2. OBJETIVOS

O objetivo geral da presente tese de doutorado foi investigar e viabilizar o processo de biolixiviação para o aproveitamento da pirita presente em rejeitos de carvão mineral brasileiro para a produção de um concentrado férrico. Esse concentrado férrico poderá ser aplicado como coagulante ou agente oxidante, bem como insumo para a produção de sulfato ferroso e pigmentos férricos.

Os objetivos específicos foram:

1. Caracterizar a matéria prima do trabalho, o rejeito de carvão;
2. Identificar e quantificar as espécies bacterianas acidofílicas presentes no desenvolvimento do processo gerador de sulfato férrico e na DAM (utilizada como fonte de inóculo);
3. Realizar e determinar as condições, em escala bancada, do processo no uso de nutrientes sintéticos (fósforo, nitrogênio) e comerciais (ureia), assim como verificar o efeito da água de lixiviação e sua significativa contribuição para acelerar o processo de biolixiviação na planta piloto;
4. Testar os melhores parâmetros encontrados na escala bancada na planta piloto;
5. Estudar o comportamento do equilíbrio de formação de produtos no reator;
6. Estudar parâmetros matemáticos de análise dimensional/adimensional, para o aumento da escala, baseados em estudos do Teorema Pi de Vaschy-Buckingham;
7. Caracterizar o produto gerado no processo;
8. Aplicar o coagulante obtido no processo no tratamento de águas.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Exploração do carvão mineral e suas implicações ambientais

##### 3.1.1 Carvão mineral

O carvão mineral, uma rocha sedimentar combustível, está disposto na forma de camadas e é resultado do soterramento de várias espécies de vegetais (plantas tropicais e subtropicais) em ambiente aquático durante a era Paleozoica nos períodos Carbonífero e Permiano. O aumento da pressão e temperatura, aliados à ação de micro-organismos anaeróbios sobre a matéria orgânica, concentrou carbono, expulsando hidrogênio e oxigênio (Pitt, 1979). A composição do carvão é basicamente carbono, quantidades variáveis de enxofre, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio e outros elementos dependendo da associação mineral. Diferentes graus de carbonificação são identificados, crescendo na seguinte ordem: vegetação, turfa, linhito, carvão e antracito. O antracito possui o maior grau de carbonificação ou *rank* (Osório et al., 2008; Stach, 1975).

Existem relatos do uso de carvão mineral desde o século XIII na Europa, porém foi na Revolução Industrial, após 1780, que o carvão impulsionou, juntamente com o ferro, as atividades industriais daquela época. Mais tarde, já no século XX, seria substituído em parte por outra fonte de energia, o petróleo.

O processamento de carvão mineral inicia-se na exploração, utilizando o método de lavra, retirando-se o carvão ROM (*run of mine*) ou minério bruto obtido diretamente da mina. Para o processo de obtenção do carvão ROM pode ser realizada a mineração a céu aberto ou a mineração em mina subterrânea. Nos processos industriais, é necessário que a concentração de matéria inorgânica seja baixa, pois estas geram cinzas e compostos de enxofre durante a queima do carvão, prejudicando o processo. Desta maneira, para a separação do material inorgânico, são utilizadas operações de beneficiamento. O material com alto poder calorífico é comercializado para a geração de energia elétrica ou coque. O resíduo sólido, rico em matéria inorgânica, muitas vezes, é disposto em áreas próximas à da mineração, conhecidas como módulos de rejeito.

Tanto a exploração quanto o uso do carvão mineral implicam em variados problemas de natureza ambiental, que vão desde a geração de dióxido de carbono, agravando o problema do aquecimento global, até a presença de enxofre, que emite gases que contribuem para a formação da chuva ácida. Além disso, muitas vezes, durante a queima do carvão, há liberação de metais pesados como mercúrio, vanádio, cádmio, arsênio e chumbo, que são altamente

tóxicos aos seres vivos. A presença de quantidades significativas de pirita nas camadas de carvão mineral pode, ainda, contribuir na geração de efluentes ácidos como a DAM. Estima-se que, no mundo, existam reservas de carvão na ordem de sete trilhões de toneladas, o suficientes para atender a demanda durante alguns séculos nas taxas atuais de consumo e, também, contribuir enormemente para potenciais impactos ao nosso ambiente.

Dessa forma, são necessárias iniciativas tecnológicas nos processos, para separar, recuperar e utilizar os elementos indesejáveis da exploração e do uso desse combustível fóssil, uma vez que a contenção da exploração econômica desse recurso é bastante difícil.

Os recursos identificados de carvão mineral, no Brasil, estão na ordem de 32 bilhões de toneladas. Reserva modesta, se comparada com as reservas da China, que sozinha produziu, em 2008, quase a metade do carvão mineral do mundo (cerca de 2,8 bilhões de toneladas), dados do *World Coal Association*. Do montante de carvão produzido no território nacional, aproximadamente 87% são destinados à produção de energia elétrica, suprimindo 2% da matriz energética no país. A localização das reservas está principalmente na Região Sul do país, nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Os locais de maior exploração são Candiota (RS), região do Baixo Jacuí (RS) e Região Carbonífera do Sul Catarinense (SC). Cabe destacar que o carvão produzido no Estado de Santa Catarina possui propriedades coqueificantes de interesse à indústria siderúrgica nacional, especialmente o carvão associado às camadas Barro Branco e Irapuá (Brasil, 2003). A mineração de carvão no Brasil ocorre pelos métodos de lavra a céu aberto e de lavra subterrânea. No Estado de Santa Catarina, em especial, praticamente toda a produção é obtida por operações de lavra em minas subterrâneas totalmente mecanizadas, onde o método empregado é o de “câmara e pilares”.

Os carvões brasileiros apresentam uma porcentagem alta de pirita na sua composição, sendo essa característica mais presente à medida que se avança do sul para o norte. Devido a esta associação com a matéria mineral, os carvões nacionais necessitam passar por processos de beneficiamento (Rubio, 1988, Tavares e Sampaio, 2005), gerando resíduos com teores de enxofre que chegam à ordem de 15% (Redivo, 2004; Lilge et al, 2005).

### **3.1.2 Rejeitos de carvão mineral e DAM em Santa Catarina**

A massa de rejeitos gerada pelos processos de beneficiamento está presente em cerca de três mil hectares expostos na Bacia Carbonífera de Santa Catarina. Atualmente, esse material encontra-se sob um rígido cronograma de recuperação ambiental. 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 aproximado de 950 hectares correspondendo a cerca de 200 milhões de toneladas de rejeito acumulado nos últimos 30 anos. Todos esses locais geram DAM, cujo volume tratado ainda é baixo, o que contribui para a contaminação dos recursos hídricos em cerca de 800 km de cursos de água pertencentes às bacias hidrográficas dos rios Araranguá, Tubarão e Urussanga (Gomes, 2004; Brasil, 2008). Conforme a Confederação Nacional da Indústria (CNI, 2013) para cada tonelada de carvão mineral extraído são necessários cerca de  $6,25\text{m}^3$  de água gerando aproximadamente  $5\text{m}^3$  de efluente. Para efeitos de cálculos parciais, uma empresa deste ramo que produz cerca de 2.760.000 tROM/ano gera cerca de  $13.800.000\text{m}^3$  de efluente/ano.

Desta forma, o principal impacto ambiental gerado pela etapa de beneficiamento é a geração dos rejeitos constituídos de materiais carbonosos, silicatos e minerais sulfetados. Esse material, quando disposto nos módulos de rejeito, entra em contato com o oxigênio atmosférico, a água da chuva e a umidade relativa do ar, gerando a DAM, que é mostrada na Figura 1. Assim, fica evidenciada a importância de ações de recuperação ambiental dos rejeitos de beneficiamento. Esta recuperação é exigida porque as alterações verificadas, tanto na qualidade da água quanto do solo, prejudicam a integridade da fauna, flora, ambiente e saúde humana.

Os resíduos da mineração de carvão são classificados, conforme a NBR 10004/2004 (ABNT, 2004), como resíduo não perigoso e não inerte, de classificação: Classe II-A. Apresentam um alto potencial de geração de acidez, com valores de potencial de neutralização líquido (NNP) na ordem de -250 a -350 quilogramas de carbonato de cálcio por tonelada de material ( $\text{CaCO}_3/\text{t}$ ), conforme Redivo (2004).

A região carbonífera de Criciúma, por exemplo, enfrenta diversos problemas decorrentes da disposição inadequada de rejeitos da mineração de carvão. Muitos empreendimentos estão localizados próximos às zonas residenciais, como pode ser observado na Figura 2. Nesta figura, é observada uma interessante relação de aspecto social, econômico e ambiental.



Figura 1. Geração de DAM a céu aberto de um módulo de rejeito da mineração de carvão na cidade de Criciúma, no Estado de Santa Catarina. Fonte: CETEM, (2001a).

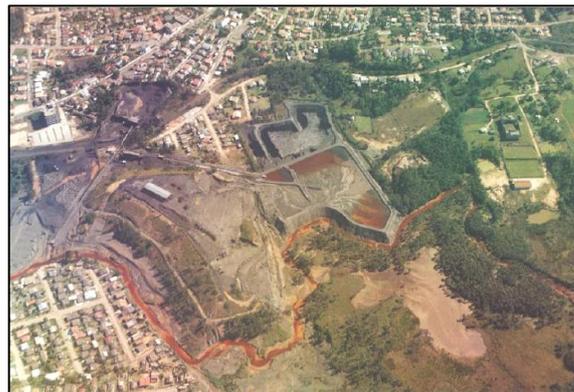


Figura 2. Vista aérea do pátio de módulos de rejeito e geração de DAM na cidade de Criciúma (SC). Fonte: CETEM, (2001b).

A região próxima à disposição dos rejeitos de carvão é prejudicada com a contaminação do solo, água e ar. Ao mesmo tempo, a principal atividade econômica da cidade é a exploração de carvão mineral, e muitas famílias possuem, no mínimo, uma pessoa trabalhando nesta atividade. Da mesma forma que a comunidade mais próxima é afetada diretamente pelo empreendimento, o fluxo aquoso ácido gerado também é um grave problema para comunidades vizinhas, porque apresenta potenciais danos ambientais à contaminação dos recursos hídricos. As residências desta região vizinha recebem, porém a energia elétrica proveniente da queima de carvão em termoelétricas.

É possível perceber, portanto, que, conforme citam os autores Kontopoulos (1998); Skousen et al. (2000) e García et al. (2005) o fluxo de DAM, em empreendimentos de mineração, representa um impacto de difícil solução pela natureza e amplitude do problema. Mas alguns métodos estão sendo adotados pelas empresas carboníferas, para prever, remediar ou tratar o fluxo aquoso gerado.

*Further, when the ores are washed, the water which has been used poisons the brooks and streams, and either destroys the fish or drives them away. Therefore the inhabitants of these regions, on account of the devastation of their fields, woods, groves, brooks and rivers, find great difficulties in procuring the necessaries of life... Thus it is clear to all there is a greater detriment from mining than the value of the metals which the mining produces.*

*Agrícola, 1556.*

### 3.1.3 Métodos de controle da DAM

Atualmente, as tecnologias disponíveis para o controle da DAM podem ser classificadas em três categorias: métodos de prevenção, contenção e remediação (Kontopoulos, 1998; Skousen et al., 2000).

- a) Nos métodos de prevenção, o principal objetivo é impedir o contato dos sulfetos com o oxigênio, água e bactérias que aceleram a reação de oxidação da pirita;
- b) Os métodos de contenção buscam conter a migração da DAM para o ambiente;
- c) No método de controle de geração de DAM estão os sistemas ativos e passivos de tratamento, atuando como final de tubo (tratamento do efluente depois de gerado).

A Tabela 1 mostra alguns exemplos de aplicações dos métodos para o controle da DAM.

Tabela 1. Métodos de controle de DAM. Fonte: Adaptado de Kontopoulos, 1998.

	Aditivos alcalinos
	Agentes bactericidas
Prevenção	Exclusão de oxigênio por cobertura de água
	Exclusão de oxigênio por cobertura seca
	Remoção ou isolamento dos sulfetos
	Prevenção do fluxo de água
Contenção	Disposição em estruturas de contenção
	Paredes reativas porosas
Remediação	Banhados Construídos
	Drenos anóxicos de calcário
	Filtros de calcário
	Neutralização e precipitação

Na Figura 3 é mostrado um módulo de rejeito de carvão mineral que realiza o direcionamento de seu efluente para tratamento ativo de DAM. Na Figura 4 é mostrado o lodo gerado a partir deste tratamento ativo com a DAM. O lodo precisa ser disposto em bacias de decantação onde ocorre a redução de massa por secagem. Após este processo de secagem, o mesmo é disposto como resíduo sólido em aterros industriais. Dessa forma, é possível

perceber que o tratamento ativo apenas remedeia o problema de DAM.



Figura 3. Geração de DAM de um módulo de rejeito da mineração de carvão na cidade de Criciúma (SC).



Figura 4. Lodo gerado a partir do tratamento ativo da DAM. Fonte: Silva, (2009).

### 3.1.4 Contextualização jurídica de Santa Catarina

Por muitos anos, não houve em Santa Catarina qualquer preocupação com a recuperação das áreas mineradas de carvão. Devido à crescente problemática ambiental nestas áreas, o Ministério Público, juntamente com a Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina (FATMA), concedeu 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 dessas determinações, o Sindicato das Indústrias de Carvão do Estado de Santa Catarina (SIECESC), juntamente com as mineradoras, assumiu a responsabilidade de desenvolver e apoiar pesquisas de mitigação de impactos ambientais causados pela geração de DAM nas minas já extintas ou ainda existentes. Essa condição, aliada ao compromisso com a sociedade, estimulou universidades e centros de pesquisa a estudarem metodologias de redução dos impactos causados pelo setor da mineração. A gravidade da situação ambiental na Região Carbonífera do Sul de Santa Catarina levou-a a ser enquadrada pelo Decreto Federal 86.206 como a 14ª Área Crítica para efeito do Plano Nacional de Controle da Poluição Ambiental.

### 3.1.5 Novas perspectivas ambientais no Brasil

Para destacar novas perspectivas ambientais no Brasil, faz-se necessário traçar um paralelo à perspectiva histórica do debate ambiental internacional. O modo de produção e a exploração, até os anos 60, eram guiados pela exploração dos recursos naturais com poucos debates sobre as consequências ambientais. Após a Conferência da Biosfera, realizada em Paris em 1968, o primeiro alerta ambiental internacional era dado referente aos modos de produção. Quatro anos após, na Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente Humano, é criado o conceito de ecodesenvolvimento e a declaração sobre os princípios ambientais ou Declaração de Estocolmo. Em 1973, quando é criada a PNUMA (Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente) são questionadas as questões de responsabilidade ambiental dos países desenvolvidos (preservacionistas) e países em desenvolvimento (desenvolvimentistas). Este cenário abriu as discussões a respeito das responsabilidades da exploração dos recursos e do desenvolvimento econômico dos países. Somente em 1987, existe de fato um documento, o Relatório de *Gro Brundtland* ou Relatório Nosso Futuro Comum que discute a respeito das responsabilidades comuns dos países e o desenvolvimento sustentável. Neste mesmo ano, ocorre a proibição da utilização do CFC (Cloro, Flúor e Carbono) durante o Protocolo de Montreal.

A partir dos anos 90, em especial na Rio 92, onde são discutidas as responsabilidades comuns, porém diferenciadas, os países em desenvolvimento teriam um saldo positivo para continuar sua exploração nos níveis atuais, uma vez que os países desenvolvidos como Inglaterra, por exemplo, já tivessem emitido toneladas de CO<sub>2</sub> e desmatado a maioria de suas florestas durante a Revolução Industrial. Também foram discutidos os princípios florestais, assegurando a soberania sobre as florestas.

As discussões posteriores, como a criação do Protocolo de Kyoto, são associadas não só à redução das emissões de gases de efeito estufa, levando nos anos seguintes ao surgimento do Mecanismo de Desenvolvimento Limpo, assim como a introdução de tecnologias de redução destes gases nos países em desenvolvimento. Com a chegada de uma crise internacional, principalmente a partir de 2008, todos estes acordos internacionais perderam força, principalmente por fatores econômicos e devido à falta de adesão às iniciativas ambientais de alguns países, principalmente os Estados Unidos.

Associados a todas estas iniciativas ambientais internacionais, inúmeros projetos têm sido desenvolvidos no mundo por universidades e organizações comerciais, buscando aplicar

conceitos sustentáveis aos produtos gerados, seguindo a nova tendência. A pressão de organismos ambientais também passou a ser incentivadora da publicidade e geração de produtos ecológicos. De todas as discussões ambientais, o Relatório de *Gro Brundtland*, emitido em 1987, é o que mais destaca a preservação do ambiente sob todos os aspectos, emissões atmosféricas, recursos hídricos e geração de resíduos. Duzentos anos atrás, no auge da Revolução Industrial, quando foram criados os conceitos de capitalismo, de indústria e da própria engenharia, o lema era produzir e aumentar a produção em massa. Este fenômeno conduziu o mundo a um ciclo tão vicioso de dependência da produção em série que, atualmente, é impossível retornar às formas artesanais de produção sem comprometer a demanda por insumos básicos à população. Neste aspecto, 200 anos após, surge uma nova forma de fazer engenharia. Atualmente, o desafio dos engenheiros é de continuar produzindo, atendendo a demanda existente da população, mas reduzindo a poluição durante a produção. Diante de um cenário de discussões ambientais, ainda incompleto e incipiente, o papel do engenheiro é justamente atacar na questão ambiental e econômica do processo, para que possa de fato convencer e sustentar sua nova forma de produzir. É aberta uma nova porta de desenvolvimento onde são utilizadas tecnologias já descritas na literatura, porém de forma mais sustentável, e inúmeras transformações podem ser realizadas aumentando a eficiência.

Neste mesmo tema em discussão, no Brasil, pode-se citar a exploração e o uso do carvão mineral. O carvão mineral está longe de ser novidade no ramo industrial, mas a sua exploração em condições menos agressivas ao ambiente, esta, sim, ainda é um desafio. A Rede de Carvão foi criada para ser uma rede de pesquisa, desenvolvimento e inovação do carvão mineral brasileiro. Esta rede recebe o apoio do governo federal e possui abrangência nacional. Ela nasceu em plenária realizada na cidade de Canela, no Rio Grande do Sul, em 2007. O seu principal objetivo é servir de instrumento de ação integrada e sinérgica, gerando conhecimento, tecnologia e inovação, dando suporte à cadeia produtiva do carvão mineral com vistas ao uso sustentável do carvão nacional. As principais áreas temáticas da Rede de Carvão estão relacionadas à produção, conversão e proteção ambiental da exploração e do uso do carvão mineral brasileiro (Rede de Carvão, 2013).

Na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), especialmente no Laboratório de Estudos Ambientais para a Metalurgia (LEAMet) e no Laboratório de Tecnologia Mineral e Ambiental (LTM), estão sendo realizados estudos para aproveitar o rejeito de carvão rico em pirita. Esses estudos estão relacionados com a conversão do material disposto nos módulos de rejeito em produtos úteis e de valor comercial agregado. Os

materiais a serem aproveitados estão divididos em frações de rebeneficiamento por processos gravimétricos. As frações obtidas por este processo são: a fração de carvão mineral, com cerca de 90% de material carbonoso; fração intermediária, com 25% de material pirítico; e fração pirítica, com 70% de pirita. Realizando o processo de rebeneficiamento do rejeito, o acesso às técnicas mais adequadas para o aproveitamento integral da massa torna-se facilitado.

Detalhando mais os produtos e técnicas em desenvolvimento, é possível citar o reaproveitamento da fração rica em carbono para a queima em termoelétricas. Essa matéria mineral é recuperada dos processos de beneficiamento ineficientes das décadas passadas. Para esse trabalho, Amaral Filho (2009) tem estudado alternativas, na etapa de beneficiamento, que recuperem a fração que ainda pode ser comercializada como, por exemplo, o carvão mineral já disposto por muitos anos como rejeito. Outra forma de atuar na etapa de beneficiamento foi estudada por Englert (2011), onde o autor utiliza a técnica de elutriação para a concentração de pirita em de finos de rejeitos de carvão.

O material intermediário do processo de rebeneficiamento está sendo estudado para enriquecimento de solos (Firpo, 2012) e, também, para a fabricação de blocos de concreto com potencial aplicação na construção civil (Santos et al., 2011).

O concentrado pirítico obtido após os processos de rebeneficiamento é direcionado ao reator de biolixiviação e é utilizado para a geração e concentração de efluentes ricos em  $\text{Fe}^{3+}$  ou sulfato férrico. (Menezes, 2009; Colling, 2010). A fração residual do processo bio-hidrometalúrgico é associada à fração intermediária obtida no processo de rebeneficiamento. As aplicações do sulfato férrico ocorrem, principalmente, como coagulante de tratamento de águas e efluentes ou, então, é como concentrado de íons férricos para a produção de sulfato ferroso e óxidos. Os óxidos podem ser comercializados como pigmentos, catalisadores e matéria prima para a produção de ferro e aço (Madeira, 2010; Silva, 2009).

As etapas de separação dos materiais para aproveitamento integral dos rejeitos estão apresentadas no fluxograma da Figura 5. Nesse fluxograma, é mostrado que a fração pirítica do processo foi direcionada para os pátios de rejeitos após o processo de beneficiamento. Esse rejeito corresponde à matéria-prima rebeneficiada para a obtenção de produtos de valor agregado.

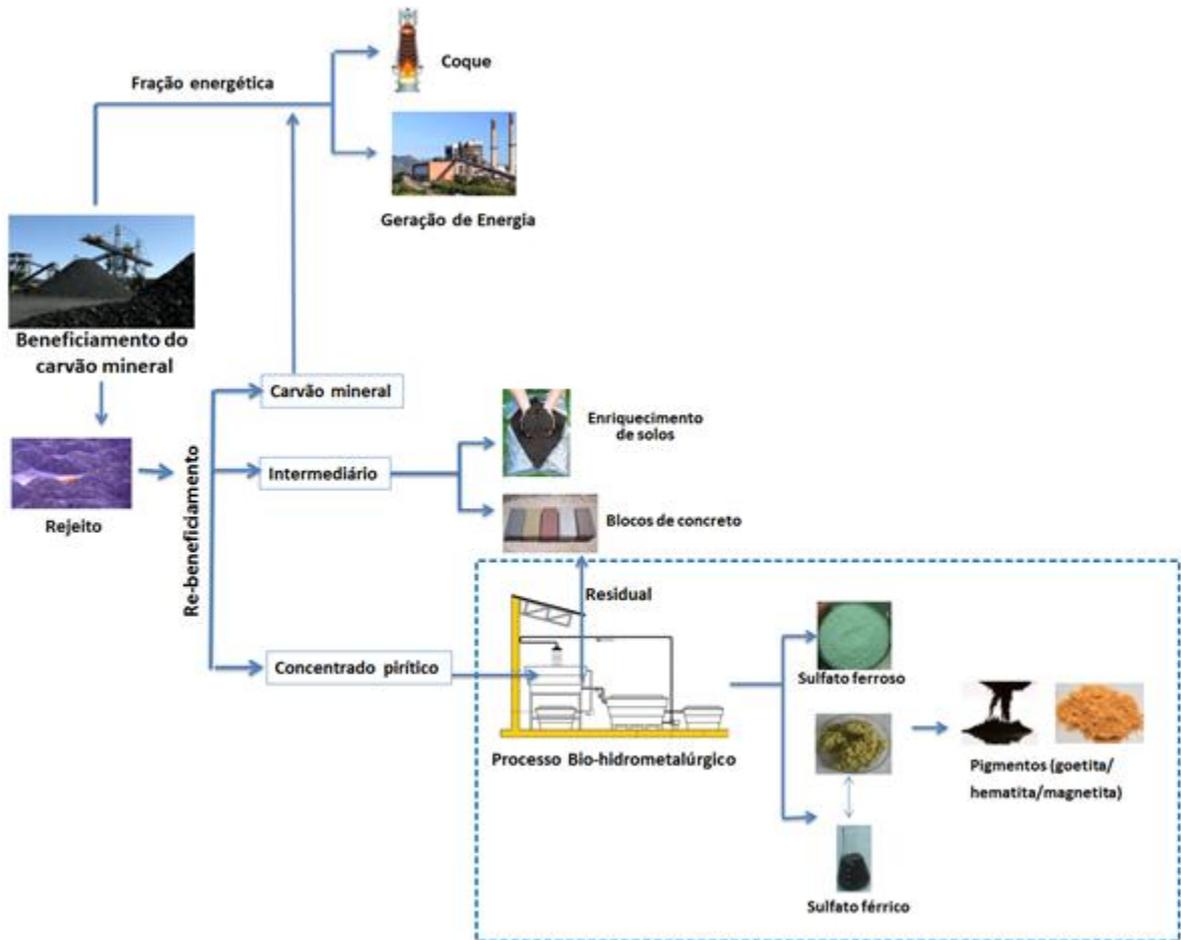


Figura 5. Fluxograma de processos de utilização industrial do carvão mineral e da recuperação do concentrado e intermediário de pirita oriunda do re-beneficiamento do rejeito de carvão mineral. Fonte: Colling (2012).

A proposta descrita na Figura 5 sugere, justamente, o aproveitamento integral dos materiais residuais da exploração do carvão mineral. Essas medidas conseguem agregar valor comercial ao material e seguem os objetivos propostos pela Rede de Carvão.

Outras medidas ambientais, principalmente referentes à contenção de gases de efeito estufa durante a queima de carvão mineral, são tema de estudo no Laboratório de Siderurgia (LASID-UFRGS). Este busca a utilização sustentável de carvão na geração de energia utilizando a tecnologia *oxi-fuel* e a co-combustão de carvão e biomassa, conforme Zen, et al. ((2011). Estudos realizados na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS), especialmente no Centro de Excelência em Pesquisa e Inovação em Petróleo, Recursos Minerais e Armazenamento de Carbono (CEPAC), são realizados em escala piloto para o armazenamento geológico de gás carbônico.

### 3.2 Reações da oxidação da pirita

A pirita é um mineral abundante na superfície da Terra. Ela é encontrada geralmente associada a outros sulfetos ou óxidos, rochas sedimentares ou metamórficas e leitos de carvão (Sasaki et al., 1998; Schrenk et al., 1998). A oxidação da pirita é um complexo processo biogeoquímico, envolvendo reações de redução por hidrólise ou complexação de íons. Estas reações ocorrem naturalmente nos depósitos de rejeito da mineração de carvão (Kontopoulos, 1998; Sharma et al., 2003; Valente e Gomes, 2009), podendo ocorrer de forma direta como é mostrado na Reação 01.



A Reação 1 produz acidez e é considerada uma reação de intemperismo químico (Sasaki et al., 1998), podendo 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.

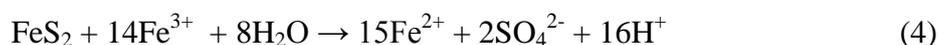
Se o potencial de redução for mantido, a oxidação do íon  $\text{Fe}^{2+}$  para  $\text{Fe}^{3+}$  ocorrerá (Reação 2), consumindo parte dos íons  $\text{H}^+$  decorrentes da oxidação da pirita com a consequente redução do oxigênio dissolvido no líquido.



Fornecendo valores de pH maiores ou iguais a 3, o  $\text{Fe}^{3+}$ , gerado na Reação 2, tenderá a hidrolisar precipitando na forma de hidróxido e gerando mais prótons  $\text{H}^+$  conforme a Reação 3:



Por sua vez, se o pH da solução for menor do que 3, o  $\text{Fe}^{3+}$ , gerado na Reação 2, poderá desempenhar o papel de catalisador ao oxidar a pirita ( $\text{FeS}_2$ ) pela Reação 4. Esta reação é comumente descrita como o mecanismo indireto de oxidação da pirita.



A Reação (2) pode ser acelerada pela ação de bactérias quimiolitotróficas acidófilas dos gêneros *Acidithiobacillus* (Evangelou, 1995; Rimstidt e Vaughan, 2003 APUD Elberling, 2005; Gleisner et al., 2006; Zhang, 2009) e *Leptospirillum* (entre outras). Essas bactérias catalisam bioquimicamente tal reação, que pode ser acelerada em até  $10^6$  vezes (Kelly e Wood, 2000). Os gêneros microbianos descritos anteriormente são ativos na faixa de pH de 1,4 a 4,0 e na faixa de temperaturas entre 5 e  $35^\circ\text{C}$ , sendo que as condições ótimas estão em pH 2,0 e temperatura entre 30 e  $35^\circ\text{C}$ . Assim, o  $\text{Fe}^{2+}$  resultante será oxidado para  $\text{Fe}^{3+}$  pela Reação 2 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. De maneira geral, os fatores que direcionam a formação de íon férrico ou ferroso estão associados à relação do pH com o potencial de redução. O diagrama de fases apresentado na Figura 6 mostra os valores correspondentes de pH e potencial de oxi-redução (Eh) preferenciais à formação de íon ferroso ou férrico.

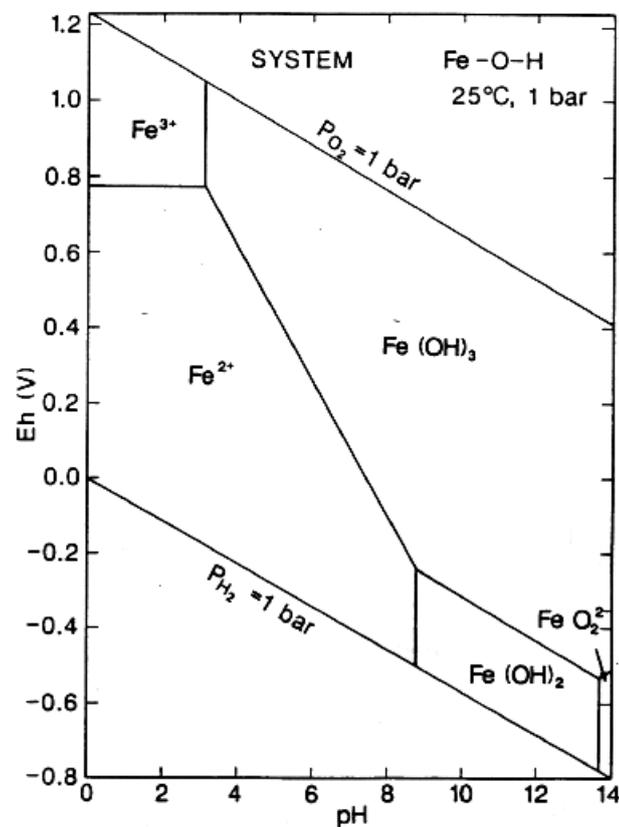


Figura 6. Diagrama de Pourbaix de ferro a  $25^\circ\text{C}$  e 1 atm. Fonte: Brookins et al. (1998).

Pode-se afirmar, resumidamente, que o resultado da ação bacteriana sobre os sulfetos metálicos formará o sulfato metálico correspondente, conforme a Reação 5 (Giaveno et al., 2011). As bactérias atuam no mineral por adesão à superfície, solubilizando o material.



Conforme Garcia Jr. (1989), no local onde ocorre a adesão da bactéria, são observados pontos de corrosão. Esses pontos podem ser pequenos ou, até mesmo, causar a formação de trincas no material e provocar o desmembramento do mineral.

Devido ao baixo pH, também podem ocorrer reações de solubilização de outros metais presentes na composição da rocha. Entre alguns metais comuns de serem encontrados em águas ácidas de mineração de carvão destacam-se o alumínio, manganês e zinco.

### 3.3 Diversidade de micro-organismos

Os micro-organismos, que representam a base da cadeia alimentar no solo e nos recursos hídricos naturais, apresentam-se de forma individual muito pequena, sendo necessário o uso de um microscópio para a visualização. De acordo com a classificação dos organismos, seguindo as observações realizadas no RNA ribossômico (RNAr), os domínios dos organismos são o *Bacteria*, *Archaea* e *Eucarya*. Os três domínios diferem-se principalmente pela estrutura lipídica da membrana plasmática, pela sequência de nucleotídeos do RNA ribossômico e pela sensibilidade a antibióticos.

Os organismos são classificados de forma que possam ser agrupados, apresentando relações semelhantes. Na avaliação de diferentes atuações no meio ambiente é possível verificar funções semelhantes em seres geneticamente mais próximos. Sob aspectos taxonômicos, os organismos são identificados principalmente em gênero e espécie o que corresponde a uma linguagem internacional de comunicação científica.

Muitas vezes, a presença de determinados micro-organismos está associada a uma infinidade de doenças. É fato que o conhecimento de diferentes micro-organismos torna-se importante para o estudo de formas de controle de organismos patogênicos. Uma infinidade de processos, porém, possui atuação biotecnológica desde a produção de vacinas, antibióticos, vinhos, queijos e tratamento de minérios por lixiviação.

Entre diversos micro-organismos, as bactérias são amplamente utilizadas pela facilidade de mobilidade entre os substratos e a alta capacidade de reprodução que é essencialmente por fissão binária. Elas são organismos relativamente simples, unicelulares, aparecendo de forma isolada ou agrupada e podem assumir formas de bacilos, cocos, espirilo, esfera. O material genético encontra-se disperso no citoplasma não envolto por membrana nuclear. Alguns tipos de organismos metabolizam compostos orgânicos ou inorgânicos e também podem realizar fotossíntese. Na natureza, é comum as células de bactérias encontrarem-se agrupadas em uma superfície sólida chamada de biofilme. O biofilme confere uma região propícia à defesa do grupo e está associado à manutenção das condições essenciais de vida.

Criar um esquema de classificação dos organismos fornece uma lista de características e meios de comparação para ajudar na identificação e nas funções do ambiente. Para os organismos, que não possuem diferenças de tamanho e forma, desenvolveram-se uma variedade de métodos que testam as reações metabólicas, testes bioquímicos ou moleculares. Os testes bioquímicos são boas ferramentas porque são técnicas consolidadas e, em geral, são facilmente realizadas. Entre os métodos gerais de classificação e identificação utilizados podem ser citadas as chaves dicotômicas, cladogramas, as características morfológicas, coloração diferencial, testes químicos, sorologia, perfil de ácidos graxos, cada uma com sua particularidade. A utilização de meios de cultura seletivos, que são descritos no APHA (2005), servem de ferramenta muito útil em uma avaliação e caracterização inicial de espécies. Após a descoberta do DNA nos anos 50 e posterior invenção da técnica de PCR por volta dos anos 80, têm aumentado o número de técnicas moleculares para a identificação de micro-organismos. Com o passar dos anos, as técnicas tornam-se cada vez mais sofisticadas e com melhor sensibilidade, conferindo maior confiança aos resultados.

### **3.3.1 Técnicas moleculares aplicadas à identificação de micro-organismos**

A metagenômica estuda o material genético obtido diretamente a partir de amostras ambientais. A metagenômica para a identificação, em geral, utiliza o gene 16S, ou seja, regiões altamente conservadas. Esta técnica também está geralmente associada ao sequenciamento Sanger e ao pirosequenciamento para a obtenção dos organismos presentes na amostra.

Na determinação da diversidade de organismos nos ambientes ácidos, ou em processos de lixiviação de minérios já foram utilizados métodos moleculares. Entre os métodos descritos na bibliografia podem ser citados a hibridização de DNA, o sequenciamento da subunidade 16S de RNA, e a técnica de *Fluorescence In Situ Hybridization* (FISH) (Schrenk et al., 1998; Mahmouda et al., 2005). Ainda, foram utilizadas as técnicas imunoquímicas como forma de pesquisa destes organismos (Holmes, 2008; Mahmouda et al., 2005). Escobar et al. (2008) utilizou um método rápido e específico de detecção de *A. ferrooxidans* e *L. ferrooxidans* através da amplificação de 16S rDNA pela técnica de PCR com marcadores moleculares *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism* (tRFLP). Hao et al. (2002) utilizou o PCR e 16SrDNA para o maior entendimento da comunidade bacteriana em sedimentos de carvão.

Groudeva (1970) iniciou estudos pioneiros de genética clássica da *A. ferrooxidans* comprovando neste estudo a possibilidade de melhoramento genético para o processo de lixiviação mais eficiente. DiSpirito e Tuovinen constataram grande variabilidade natural de *A. ferrooxidans* quanto à resistência de urânio e tório.

A técnica de DGGE é conhecida por separar o DNA, por meio da diferença na composição de nucleotídeos previamente amplificados por PCR. Inicialmente é realizada a extração do DNA total e a amplificação do gene de interesse, utilizando primers com o grampo G-C. A eletroforese em gel de poliacrilamida é realizada contendo a ureia ou formamida, que é um gradiente desnaturante de DNA.

A mobilidade eletroforética, que depende principalmente das proporções relativas de GC e AT, é resultado da distribuição do amplicon da baixa à alta concentração dos desnaturantes em um só sentido. A desnaturação completa do DNA de cadeia dupla cessa a migração. A presença de um grampo de GC em um dos iniciadores acaba impedindo a desnaturação completa do fragmento amplificado. Cada banda que aparece no gel corresponde a uma única espécie de micro-organismo. O DGGE é sensível para a identificação para uma única diferença de nucleótido do amplificado por PCR. Após esta técnica, as bandas podem ser recortadas do gel e sequenciadas identificando a população microbiana.

### 3.3.2 Diversidade de organismos acidofílicos

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 entre os domínios *Bacteria* e *Archaea* (Johnson, 1995; Backer e Banfield, 2003; Johnson, 2008). Há, porém, um pequeno número de eucariontes que cresce 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) verificaram a presença de algas ácido-tolerantes na DAM na região carbonífera de Criciúma mesmo local onde Colling et al. (2009) quantificou um alto número de *A. ferrooxidans* ( $10^5$ .mL<sup>-1</sup>).

Valores similares tem sido registrados por Lundgren et al. (1972); Bosecker, (1997). Johnson (1998) afirma que a utilização de culturas mistas de micro-organismos acidofílicos tem sido mais eficiente 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 (Kelly e Wood, 2000; Teixeira et al., 2002; Sharma et al., 2003). 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) com a finalidade de melhorar a sua adesão à superfície do mineral e formação de biofilmes (Crundwell, 1996).

O mecanismo de atuação mais conhecido parece ser o denominado mecanismo de contato em que há solubilização do ferro em contato direto com a pirita. No mecanismo de não contato, a bactéria associa-se aos íons Fe<sup>2+</sup> em solução, sendo absorvidos na camada bactéria-mineral e transformados em Fe<sup>3+</sup>. Em seguida, o Fe<sup>3+</sup> oxida mais mineral pelo fenômeno auto-catalítico (Crundwell, 1996, Bosecker, 1997 e Ballester, 2001). É, porém, mais comum ocorrer o mecanismo de cooperação, onde os dois mecanismos, direto e indireto, atuam simultaneamente e serão detalhados mais à frente.

Muitos destes organismos encontram-se no filo das *proteobactérias*, e principalmente, nas *beta* e *alfa proteobactérias*. Também foram encontradas espécies pertencentes aos filios das *actinobactérias* e *firmicutes* conforme mostra a Figura 7.

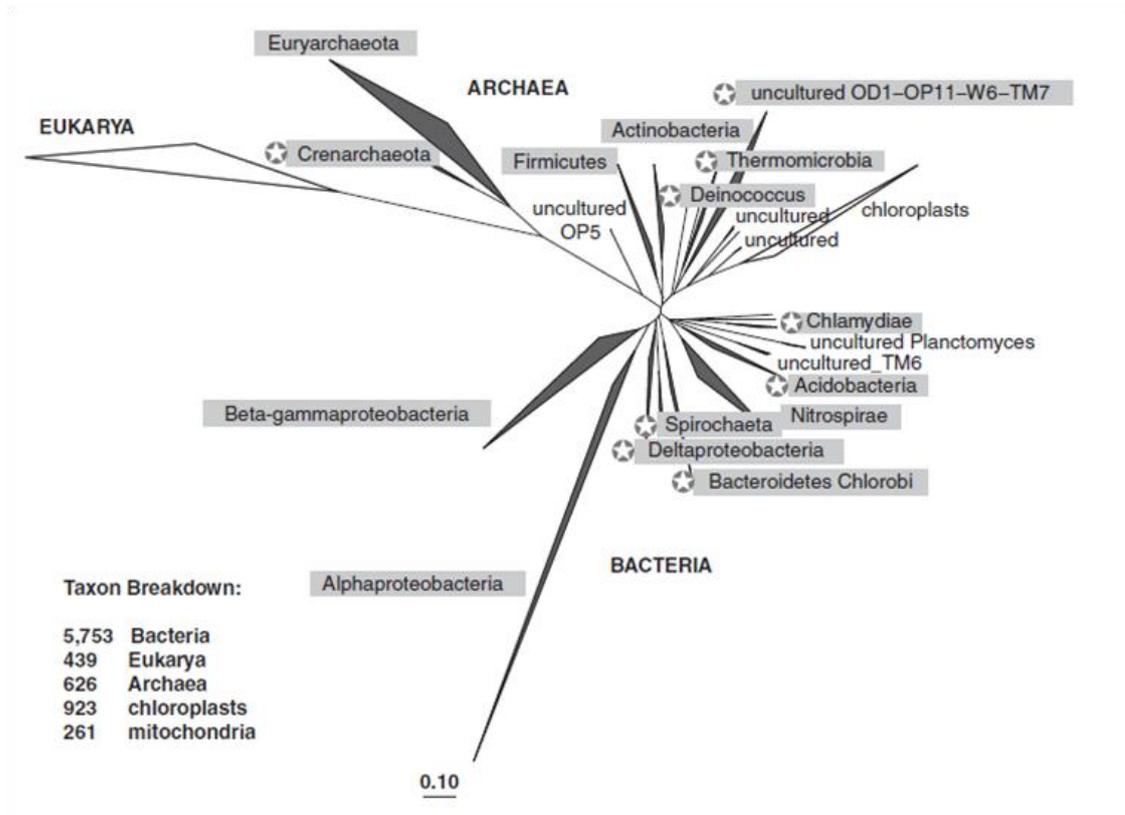


Figura 7. Diversidade baseada nas regiões V4-V8 do rRNA. Fonte: Zettler et al. (2011).

A região da Iron Mountain, Califórnia-Estados Unidos, foi uma região de intensa exploração mineral. Ela apresenta grandes quantidades de geração de DAM como mostra a Figura 8, e é alvo de diversas pesquisas de vida em ambientes extremos. Várias análises moleculares têm sido realizadas com a finalidade de encontrar vida de organismos extremófilos. Até mesmo já foram encontradas nanobactérias com características quimiolitotróficas.

O Rio Tinto, Figura 9, é um rio de aproximadamente 100km de comprimento no sudoeste da Espanha, na província de Huelva, Andaluzia-Espanha. Possui uma coloração vermelha característica da presença de ferro e possui pH ácido, aproximadamente 2,0. Esta condição não permite o desenvolvimento de diversidade biológica. Nos últimos anos, porém, a NASA tem se interessado pelas condições extremas de vida dos organismos encontrados neste rio e que poderiam ter semelhanças com organismos do planeta Marte (Zettler et al. 2011).



Figura 8. Drenagem ácida de minas da Iron Mountain. Fonte: [http://www.brr.cr.usgs.gov/projects/GWC\\_chemtherm/ironmtn.htm](http://www.brr.cr.usgs.gov/projects/GWC_chemtherm/ironmtn.htm).



Figura 9. Drenagem ácida gerada no Rio Tinto. Fonte: Rio Tinto Espanha, 2010.

No Rio Tinto, Figura 10, foram encontradas bactérias *beta*, *gamma*, *actinobacterias*, *firmicutes*, *archaea*. Na maioria dos casos, são organismos procarióticos e gram-negativos, na forma de bacilos ou espirilo.

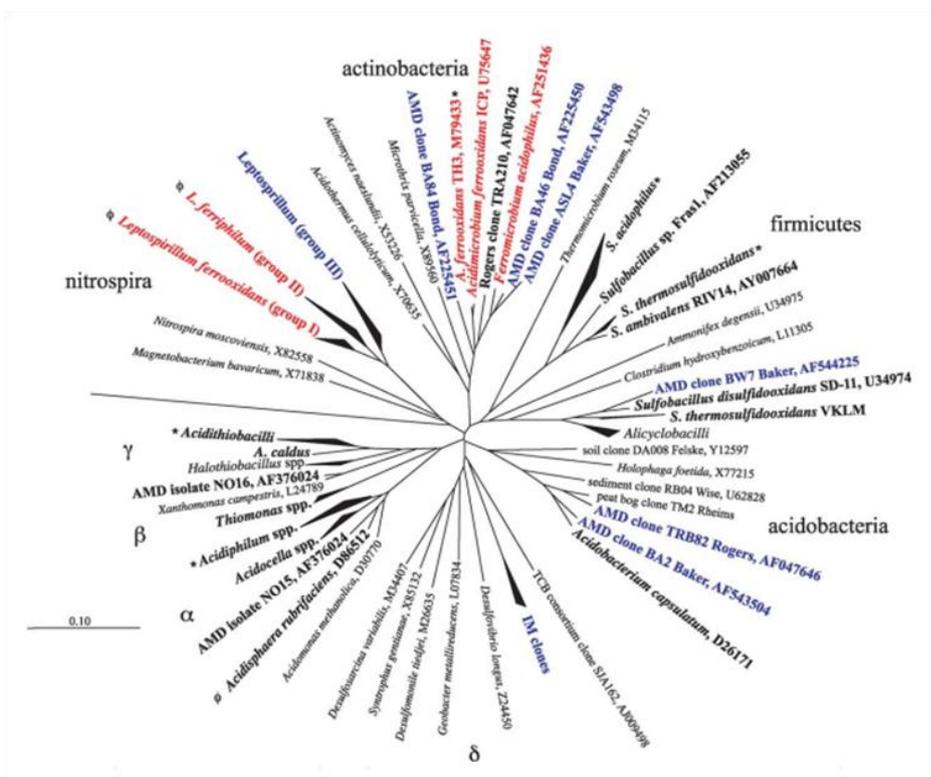


Figura 10. Diversidade de organismos. Fonte: Brett et al. (2003).

Johnson (2008) em sua pesquisa relata a presença de organismos eucarióticos, encontrados em ambientes de drenagem ácida de minas, mas ainda não utilizados em processos industriais. Entre alguns organismos encontrados em ambientes ácidos, podemos citar os seguintes nomes: *A. ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Metallosphaera archae*, *Acidianus archae*, *Leptospirillum ferrooxidans*, *Acidithiobacillus acidophilus*, *T. organoparus*, *Sulfobacillus thermotolerans*, *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, *Sulfobacillus acidocaldarius*, *Acidianus brierley*, *Acidiphilium cryptum*, *Ferroplasma acidarmanus*, *Acidithiobacillus caldus*, *Alicyclobacillus*, *Thermoplasma*, *Bactérias Crenothrix*, *Gallionella ferrugínea*, *Sphaerotilus natans*, *Siderocapsa treubi*, *Desulfovibrio*, *Chromatium okenii*, *Thiospirillum jenense*, *Beggiatoa alba*, *Thiodendran mucoson*, *Thiothrix unzii*, *Thiovolum majuss* descritos na APHA (2005).

Conforme Johnson (2008), a Tabela 2 lista a diversidade de micro-organismos já encontrados em águas ácidas.

Tabela 2. Diversidade de organismos em ambientes ácidos. Fonte: Johnson (2008).

Domínio <i>Bacteria</i>	
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 <i>Archaea</i>	
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>

Conforme APHA (2005), os principais organismos encontrados em águas ácidas são as bactérias apresentadas a seguir com maiores detalhes:

- ***A. ferrooxidans***: Células na forma de bacilos, gram negativas, de tamanho entre 0,3 a 0,5  $\mu\text{m}$  por 1,0 a 1,7  $\mu\text{m}$  de comprimento, aeróbias, mesofílicas com temperatura ótima de 30 a 35°C, acidofílicas com pH ótimo abaixo de 2,8. São quimiolitotróficas usando formas reduzidas de enxofre inorgânico, íon ferroso e sulfetos minerais como fonte de energia. *A. ferrooxidans*, Figura 11, foi a primeira espécie isolada das regiões de mineração. As células são móveis por flagelo polar e a espécie não é patogênica, encontram-se geralmente isoladas ou em duplas.

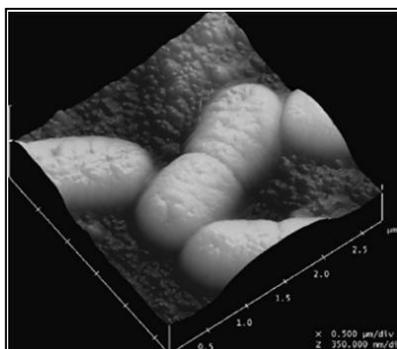


Figura 11. Imagem de *A. ferrooxidans* em AFM na superfície de grafite. Fonte: Ginsburg et al. (2007).

- ***Acidithiobacillus thiooxidans***: Células na forma de bacilos com 0,5 até 1,0  $\mu\text{m}$  de largura até 2,0  $\mu\text{m}$  de comprimento, são gram negativas, aeróbias, mesofílicas, sendo a temperatura ótima entre 28 e 30°C. *A. thiooxidans*, Figura 12, são organismos acidofílicos com pH ótimo entre 2,0 e 3,5, quimiolitotróficas, utilizando formas reduzidas de enxofre inorgânico, mas não utilizam íon ferroso como fonte de energia.



Figura 12. Imagem da *A. thiooxidans* em microscopia eletrônica. Fonte: Khan et al. (2012).

- ***Acidithiobacillus acidophilus***: Células no formato de bacilos, com largura de 0,5 até 0,8  $\mu\text{m}$  de largura e 1,0 até 1,5  $\mu\text{m}$  de comprimento, aeróbias, mesofílicas com temperatura ótima entre 27 e 30°C. *A. acidophilus*, Figura 13, são bactérias acidofílicas com pH ótimo entre 2,5 e 3,0, quimiolitotróficas facultativas usando formas reduzidas de enxofre inorgânico (autotróficas), glicose e alguns ácidos orgânicos (heterotróficas), ou a mistura de glicose com enxofre reduzido (mixotróficas).

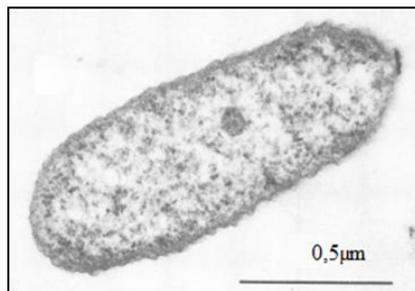


Figura 13. Imagem de *A. acidophilus*. Fonte: Pronk et al. (1990).

- ***Leptospirillum ferrooxidans***: Células no formato de espirilo, com largura de 0,4 até 0,9  $\mu\text{m}$  e comprimento de aproximadamente 1,1  $\mu\text{m}$ , gram negativas, aeróbias, temperatura mesofílica e ótima de 30°C, termofílica facultativa de 40 a 45°C. *L. ferrooxidans*, Figura 14, são acidofílicas com pH ótimo de 2,5 até 3,0. Organismos quimiolitotróficas, usando íon ferroso, mas não enxofre reduzido como forma de energia.

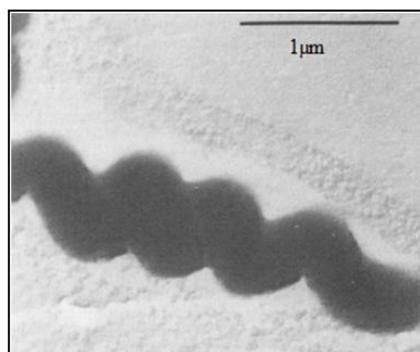


Figura 14. Imagem *L. ferrooxidans*. Fonte: Sand et al. (1991).

- ***Sulfobacillus thermosulfidooxidans***: Células no formato de bacilos de 0,6 a 0,8  $\mu\text{m}$  de largura e comprimento de 1,0 a 3,0  $\mu\text{m}$ , gram positivas, podem viver encapsuladas e na forma de agregados, aeróbias, termofílicas com temperatura ótima de 50 até 55°C, acidofílicas com pH ótimo de 1,7 até 2,4. *S. thermosulfidooxidans*, Figura 15, são quimiolitotróficas facultativas podendo usar materiais sulfúricos, enxofre, íon ferroso (autotrófica) ou glicose, sacarose e ácido glutâmico (heterotrófica).

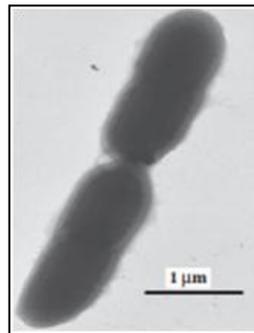


Figura 15. Imagem *S. thermosulfidooxidans*. Fonte: Kondrat'eva et al. (2012).

- ***Sulfolobus acidocaldarius***: Células irregulares espiroidais com tamanho entre 0,8 até 1,0  $\mu\text{m}$ , gram negativas, aeróbia, termofílica entre 55 até 85°C. *S. acidocaldarius*, Figura 16, é também acidofílica com pH ótimo de 2,0 até 3,0. São mixotróficas, utilizando enxofre e heterotróficas com vários componentes orgânicos.

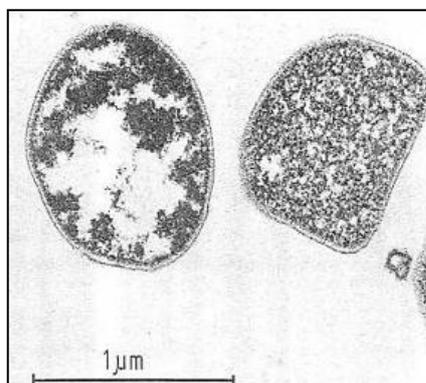


Figura 16. Imagem *S. acidocaldarius*. Fonte: Stetter et al. (1985).

- ***Acidianus brierleyi***: Células espiroidais de 1,0 a 1,5  $\mu\text{m}$ , gram negativas, aeróbias facultativas, termofílicas com temperatura entre 45 e 75°C, acidofílicas com pH ótimo

entre 1,5 e 2,0. *A. brierleyi*, Figura 17, são quimiolitotróficas facultativas com sulfetos minerais, enxofre, mixotróficas com componentes orgânicos.

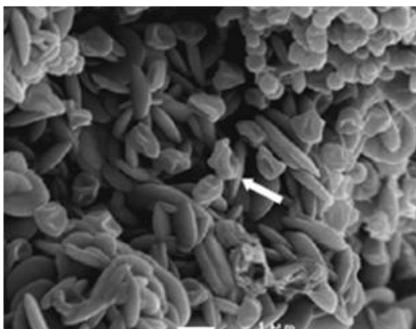


Figura 17. Imagem *A. brierleyi*. Fonte: Mikkelsen et al. (2007).

- ***Acidiphilium cryptum***: Células no formato de bacilos com 0,3 até 0,5  $\mu\text{m}$  de largura e 0,6 até 1,5 $\mu\text{m}$  de comprimento, gram negativas, mesofílicas (31 até 41°C), acidofílicas com pH ótimo de 2,5 até 5,9. *A. cryptum*, Figura 18, são quimiolitotróficas, utilizando complexos solúveis de matéria orgânica.



Figura 18. Imagem *A. cryptum*. Fonte: *Bacmap Genome Atlas*  
(<http://bacmap.wishartlab.com/organisms/509#biography>)

A maioria dos organismos descritos anteriormente faz parte de um conjunto de organismos aeróbios que foram descobertos a partir dos anos 50 após o isolamento e identificação da bactéria *A. ferrooxidans*. A partir dos anos 80, foram descobertos os primeiros organismos com a capacidade de viver reduzindo ferro em ambientes anóxicos. Trata-se do processo inverso à oxidação, a redução, onde o organismo reduz e, ao mesmo tempo, pode armazenar energia.

Conforme Ballester (2011) os organismos anaeróbios mais conhecidos são a *Shewanella oneidensis*, *Geobacter metallireducens*, *S. oneidensis*, *Ferrimonas*, *Aeromonas*,

*Geothrix fermentans*, *Geovibrio ferrireducens*, *Deferribacter thermophilus*, *Ferribacter limneticum*, *Sulfurospirillum barnesii*, *Acidithiobacillus ferrooxidans* (que é uma bactéria geralmente aeróbia), *Pyrobaculum islandicum* (hipertermófila), *Pyrobaculum aerophilum* (hipertermófila), *Thermotoga maritima* (hipertermófila), *Serratia fonticola*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium celerecrescens*, *Serratia fonticola*. Ainda, há uma classe de organismos que são anaeróbios facultativos como *Clostridium celerecrescens* e anaeróbia estrita como a *aeromonas hydrophila*.

### 3.4 Bio-hidrometalurgia

A biotecnologia utiliza micro-organismos, células ou componentes celulares gerando produtos. Esta tecnologia tem sido utilizada na produção de alimentos, vacinas, antibióticos e vitaminas há anos. Um exemplo de processo biotecnológico são as bactérias utilizadas na mineração para extrair elementos valiosos do mineral. Este processo é conhecido como lixiviação bacteriana de minérios ou 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), extraíndo metais de interesse em meio aquoso. A lixiviação bacteriana ou bio-hidrometalurgia é o processo pelo qual bactérias promovem a solubilização de determinados componentes em uma amostra mineral (Atlas & Bartha, 1993; Garcia,1986). Os micro-organismos utilizam a transferência de elétrons como forma de energia para sua sobrevivência, liberando metal para o meio, sem precisar de outras fontes externas de energia (Rodríguez, 2001). Uma grande vantagem deste processo é que as bactérias acidofílicas toleram altas concentrações de metais, consomem pouca energia no processo e requerem baixa demanda por reagentes. Em 1949 foi isolada e, em 1951-1952, identificada a bactéria *A. ferrooxidans*. Esta bactéria e a *A. thiooxidans* são consideradas as principais responsáveis pela ação microbiana na lixiviação (Garcia e Urenha, 2001). Antes desta descoberta, a geração da lixívia ácida em regiões de mineração era atribuída a processos químicos desconhecidos. A descoberta da *A. ferrooxidans* na dissolução oxidativa dos sulfetos minerais acabou determinando os interesses científicos e tecnológicos do fenômeno. Atualmente, sabe-se que vários tipos de bactérias, fungos e algas têm seu habitat em depósitos minerais e que não há apenas um tipo de bactérias, mas vários como descritos no capítulo anterior.

As evidências do uso da lixiviação bacteriana são detectados desde períodos de 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 realizada a utilização desta técnica na obtenção de sulfato de cobre (Garcia e Urenha, 2001). Estes mesmos autores descrevem o uso da lixiviação durante a Idade Média na Alemanha, Hungria e Itália; porém, convém dar destaque para o Rio Tinto, cerca de 1752, primeiro registro do emprego de lixiviação em pilhas em escala industrial para a produção de cobre. Segundo Holmes (2008) e Ehrlich (2001), escritas chinesas descrevem o uso da biolixiviação cerca de 2 mil anos atrás, sugerindo a bio-recuperação de metais como uma 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 bio-hidrometalúrgicos 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. Em 1880, já era utilizada a redução de compostos de enxofre para a formação de ácido sulfúrico (Holmes, 2008).

Em 1922, considerou-se que a oxidação de sulfeto de zinco a sulfato de zinco teria 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. 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 a recuperação de metais principalmente de cobre, urânio e ouro nos Estados Unidos, 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*, por meio de uma parceria, criaram a empresa BioSigma que investe no desenvolvimento de plantas de biolixiviação de cobre em níveis de escalas piloto e industrial. 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*.

Além disso, vários pesquisadores no mundo estudam meios de melhorar o processo. A Figura 19 mostra a distribuição das principais pesquisas em biolixiviação no mundo conforme o Comitê Internacional de Biohidrometalurgia (IBS, 2013).



Figura 19. Distribuição das principais pesquisas em bio-hidrometalurgia.

A Tabela 3 mostra os principais pesquisadores na área de bio-hidrometalurgia.

Tabela 3. Alguns dos principais pesquisadores em bio-hidrometalurgia no mundo. Fonte: Adaptado IBS, 2013.

País	Universidade	Pesquisador
África do Sul	Universidade de Witwatersrand	Crundwell, F. K.
	Universidade de Stellenbosch	Gericke, M.
	Universidade de Cape Town	Harrison, S.
	Universidade de Cape Town	Petersen, J.
	Universidade de Cape Town	Rawlings, D.
Alemanha	Universidade de Duisburg-Essen	Sand, W.
	Geomicrobiologia, BGR	Schippers, A.
	Instituto Hahn-Meitner	Tributsch, H.
Argentina	CINDEFI (CONICET, UNLP)	Donati, E.
Austrália	AMIRA Internacional	Plessis, C.
	Equipe de Investigação, CSIRO	Kaksonen, A.
	CSIRO	Watling, H.
Bulgária	Universidade de Minas e Engenharia	Groudev, S.
China	Universidade de Donghua	Liu, J. Liu, X. Qiu, G.
Espanha	Universidade Autónoma de Madrid	Amils, R.
	Universidade Complutense de Madrid	Ballester, A.
Finlândia	Universidade de Tampere	Puhakka, J.
França	Universidade de Aix-Marseille	Bonnefoy, V.
	Ecole des Mines d'Alès	Guibal, E.
Estados	Brierley Consultancy LLC	Brierley, C.
	Investigador Independente, EEUU	Brierley, J.
	Profissional independente de metais e materiais	Ehrlich, H.

Unidos	Universidade de Ohio	Tuovinen, O.
Grécia	Universidade de Athens	Tsezos, M.
Índia	Instituto Indiano de Ciências	Natarajan, K. A.
Itália	Universidade de Cagliari	Rossi, G.
Japão	Universidade Okayama	Sugio, T.
Brasil	Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG	Ciminelli, V.
	Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) Universidade Federal do Rio de Janeiro	Sobral, L. G. S.
	Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho	Bevilaqua, D. Garcia, J.
	Universidade Federal de Ouro Preto	Teixeira, M. Leão, V.A.
	Universidade Federal do Rio Grande do Sul	Hidalgo, G. E. H. Schneider, I. A. H.
Chile	Universidade Católica do Norte	Demergasso, C.
	Universidade do Chile	Guiliani, N.
	Fundação Ciências para a Vida	Holmes, D.
	Universidade do Chile	Jerez, C.
	Universidade do Chile	Vargas, T.
México	Universidade Nacional Autónoma de México	Santillan, R. R.
Suécia	Universidade de Umeå	Dopson, M.
Reino Unido	Universidade de Bangor	Hallberg, K Johnson, B.

Na Tabela 4 são apresentados alguns dos avanços de aplicações em biolixiviação. Atualmente, um dos destaques na área é a biorredução utilizando principalmente micro-organismos anaeróbios (Ballester, 2012).

Tabela 4. Alguns avanços nas pesquisas em bio-hidrometalúrgica. Fonte: Adaptado de 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; Toril <i>et al.</i> , 2010; Zettler <i>et al.</i> , 2011; Johnson & Hallberg, 2003; Brett <i>et al.</i> , 2003, Moyano, 2007
	Microbiologia de ambientes ácidos	
	Biorredução	Pronk <i>et al.</i> , 1992, Bridge, 1998; Hallberg, 2009; Castro <i>et al.</i> , 2012;
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; Tributsch, 2000; Rohwerder <i>et al.</i> , 2003
	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
Escala industrial e piloto	Biolixiviação de cobre	Beck, 1967; Schnell, 1997; Montealegre e Bustos, 2000; Domic, 2007; CETEM, 2008 (IBRAM 2007; IBRAM, 2008); Panda <i>et al.</i> , 2012;
		Brierley e Luinstra, 1993; Brierley, 1997; Shutley-McCann

Biolixiviação de ouro	<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

### 3.5 Interações dos micro-organismos acidofílicos

#### 3.5.1 Mecanismos de atuação

Os principais meios de atuação das bactérias na técnica de biolixiviação são: a adesão aos minerais com a destruição da estrutura cristalina, captação e transporte de íons através da célula para a produção de energia e liberação dos produtos da oxidação (Garcia, 2001). Além de atuarem diretamente nos minerais, os micro-organismos podem, ainda, oxidar os íons ferrosos presentes em solução.

Existem três tipos de mecanismos de biolixiviação. Conforme descreve Crundwell (2003), eles podem ser chamados de mecanismo de contato direto e indireto, e, também, mecanismo indireto. A Figura 20 mostra o mecanismo de contato direto, onde a bactéria atua diretamente na superfície do mineral utilizando o ataque enzimático. Neste mecanismo, as reações bioquímicas ocorridas são oriundas da extração direta de elétrons do mineral.

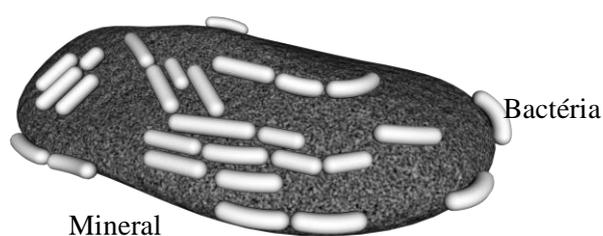


Figura 20. Mecanismo de contato direto. Fonte: Adaptado de Crundwell, 2003.

O segundo modo de atuação, mostrado na Figura 21, é o mecanismo de contato indireto onde é possível verificar a presença de uma camada polimérica, entre o contato do mineral com o micro-organismo, que é conhecida como EPS (camada polimérica extracelular). Através desta camada, ocorrem as interações e reações mineral/célula (Crundwell, 2003; Watling, 2006). Conforme Rodrigues (2003), o material exopolimérico é,

também, importante para a adesão microbiana na superfície mineral, promovendo uma interação eletrostática.

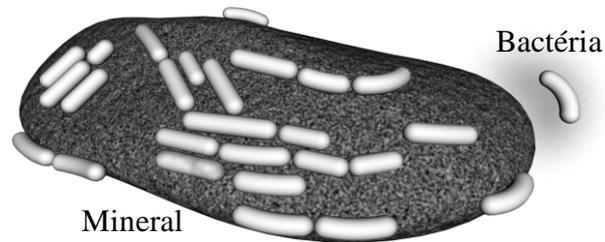


Figura 21. Mecanismo de contato indireto. Fonte: Adaptado de Crundwell, 2003.

No mecanismo indireto, Figura 22, o mineral já oxidado quimicamente, e que está em solução na forma de íon ferroso, é regenerado a íon férrico pelos micro-organismos em suspensão (não aderidos), Crundwell, (2003); Watling, (2006).

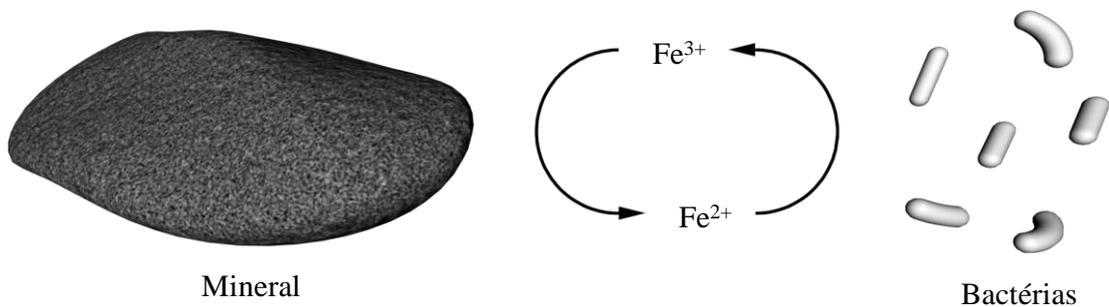


Figura 22. Mecanismo indireto. Fonte: Adaptado de Crundwell, 2003.

Na realidade, o que ocorre durante a biolixiviação é uma interação de mecanismos de contato (direto e indireto) e mecanismo indireto. À medida que algumas bactérias atuam por adesão ao minério, outras oxidam íons em solução, conforme mostra a Figura 23.

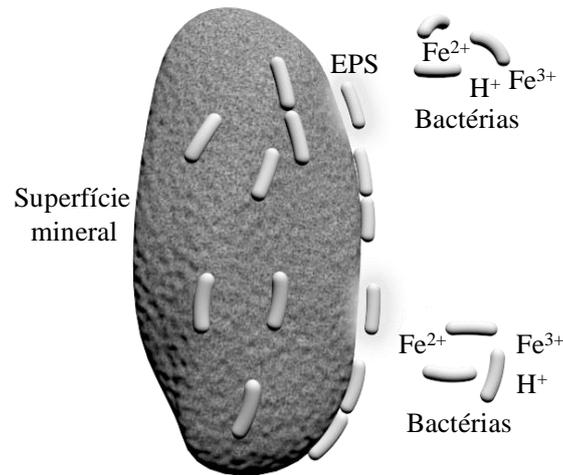
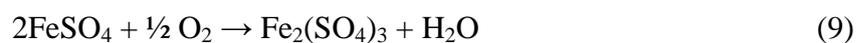


Figura 23. Interação de mecanismos. Fonte: Adaptado de Tributsch, 2001.

As Reações 6 e 7 mostram a geração de sulfato férrico e ácido sulfúrico resultantes dos mecanismos de atuação das bactérias nos sulfetos minerais, que, em geral, possuem sulfeto de ferro na composição.



Justamente pela presença comum de pirita associada a diversos minerais, ela é um dos sulfetos metálicos mais estudados. Conforme já mencionado nas Reações 6 e 7, a pirita é convertida a íon férrico, ácido sulfúrico ou a solução ácida de sulfato férrico, conforme as Reações 8 e 9.



A pirita, além de sofrer o ataque das bactérias acidofílicas, pode ser oxidada, também, pelo sulfato férrico já em solução gerando sulfato ferroso e enxofre (Reação 10).



A bactéria *A. ferrooxidans*, poderá oxidar o sulfato ferroso e o enxofre novamente utilizando o mecanismo de não contato. A Figura 24 mostra a interação da bactéria na oxidação da pirita.

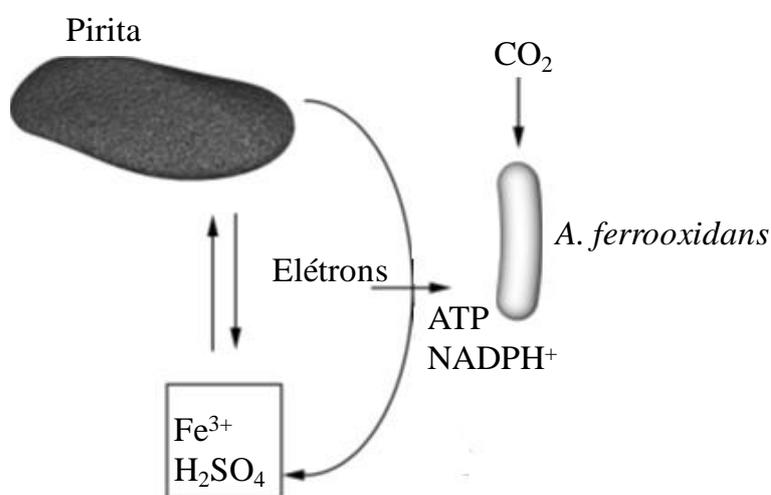
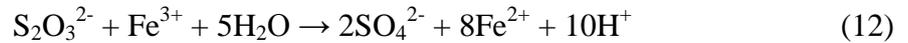
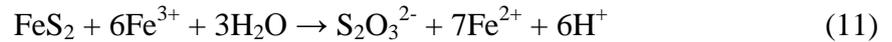


Figura 24. Mecanismo de atuação da bactéria *A. ferrooxidans* na pirita. Fonte: Adaptado de Garcia (2001).

Na literatura são descritos principalmente dois tipos de mecanismos indiretos da oxidação de sulfetos: o mecanismo do tiosulfato e do polissulfeto Shippers e Sand (1999) e Sand et al. (2001).

Conforme citam em seus trabalhos Gentina, 2005; Oliveira, 2011 (APUD Sand et al., 2001) e Rivadeneira, (2011); Giaveno et al., (2011), o mecanismo do tiosulfato é principalmente observado nos sulfetos de molibdenita (MoS<sub>2</sub>), pirita (FeS<sub>2</sub>) e tungstenita (WS<sub>2</sub>). Todos estes sulfetos têm em comum a solubilização dos elementos por ataque oxidativo. Neste caso, a oxidação do mineral pelo íon férrico irá gerar o intermediário tiosulfato conforme a Reação 11. Já o tiosulfato formado será novamente oxidado pelo íon férrico para a formação de sulfato e íon ferroso, conforme a Reação 12. Os micro-organismos irão participar nas reações, principalmente, na formação de íons férricos, em ambiente aeróbio.



A Figura 25 mostra o esquema dos dois tipos de mecanismos de oxidação dos sulfetos.

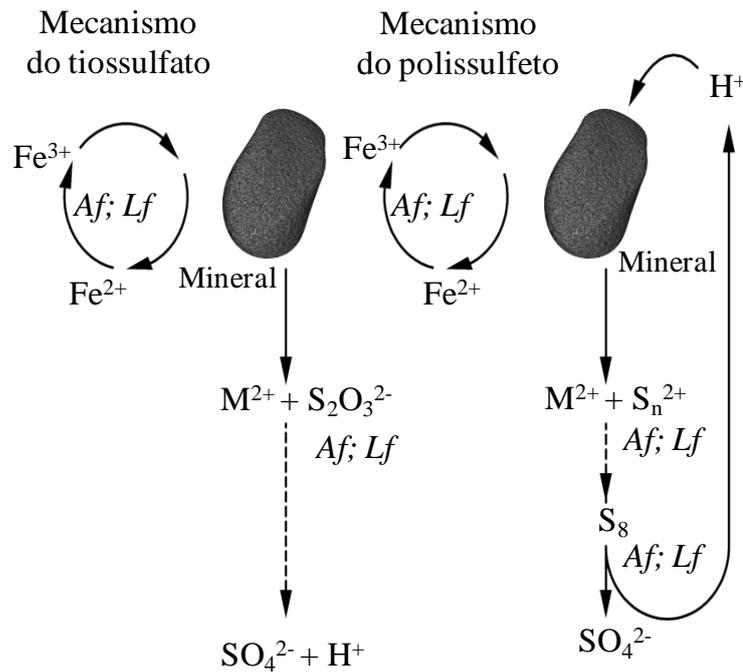
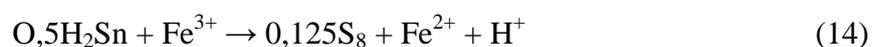
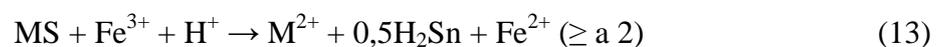


Figura 25. Mecanismos do tiosulfato e polissulfeto. Fonte: Adaptado de Sand et al., 2001.

No mecanismo do polissulfeto, os minerais são atacados, principalmente, por ataque protônico (Rivadeneira, 2011; Giaveno et al., 2011). A Reação 13 mostra a formação do ácido sulfúrico pelo ataque de prótons ( $\text{H}^+$ ). O ácido sulfúrico gerado será convertido a enxofre (Reação 14), que, em ambiente ácido, irá gerar o sulfato conforme a Reação 15. Os minerais calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ), esfarelita ( $\text{ZnS}$ ) e galena ( $\text{PbS}$ ) são mais facilmente atacados pelo ataque protônico (Shippers, 1999). A estrutura cristalina do mineral pode ser o principal fator do direcionamento da oxidação do sulfeto: o caminho do tiosulfato ou do polissulfeto.





### 3.5.2 Metabolismo

A geração de energia para os micro-organismos quimiolitotróficos, ou a produção de ATP (adenosina de trifosfato), estão condicionados à transferência de elétrons da reação de oxidação do íon ferroso, formas reduzidas de enxofre e sulfeto metálico pela via respiratória.

Conforme apresentado por Garcia (2001), as Reações 16, 17 e 18 apresentam a variação energética da oxidação do  $Fe^{2+}$  de um sulfeto elementar.



$$\Delta G = -48,5 \text{ kcal/mol a pH } 7,00$$



$$\Delta G = -140,6 \text{ kcal/mol a ph}=7,0$$



$$\Delta G = -17,0 \text{ kcal/mol a pH entre 2-3}$$

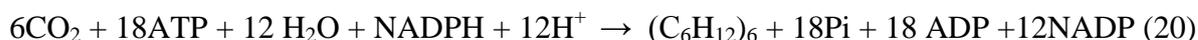
Assim, a produção de 1 mol de ATP demanda condições padrão de 7,3 kcal de energia, que é liberada quando ocorre a hidrólise, Reação 19.



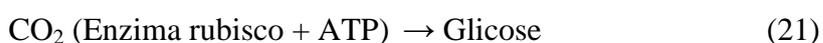
$$\Delta G = -7,3 \text{ kcal (pH = 7,0 em } 25^\circ\text{C)}$$

Algumas bactérias do domínio *Archea* como *Metallosphaera*, *Acidianus*, *Sulfolobus spp.* utilizam a via do hidroxipropionato para a fixação do  $CO_2$ . De forma geral, porém, os micro-organismos da biolixiviação obtém a energia para o armazenamento de sua composição orgânica pelo Ciclo de Calvin e, para isso, necessitam da oxidação de minerais para a geração de elétrons que constituem a formação de ATP (geração de energia) conforme a Reação 20. Na bactéria *A. ferrooxidans* deve ser destacada a importância da enzima rusticianina, primeiro

acceptor de elétrons da cadeia respiratória conforme Ingledew, 2005, e a enzima rubisco, conforme Garcia (2001), para a fixação de CO<sub>2</sub>, mostrada na Reação 21.



Conforme é mostrado é necessário oxidar 2 moles de íon ferroso para formar um mol de moléculas de adenosina trifosfato (ATP). E são necessários 3 moles de ATP para fixar um mol de CO<sub>2</sub>.



O processo de oxidação pode ser monitorado pelo potencial de oxi-redução que segue a equação de Nernst. No caso da pirita, a reação envolve as espécies de Fe<sup>2+</sup> (reduzida) e Fe<sup>3+</sup> (oxidada). A razão entre o íon férrico e ferroso é determinantes deste potencial, uma vez que os demais termos da fórmula são constantes. O potencial de equilíbrio para a reação Fe<sup>2+</sup> → Fe<sup>3+</sup> + e<sup>-</sup> é de 0,75V. No momento que ocorre o crescimento de *A. ferrooxidans*, em meio aeróbio e ácido, e consequente aumento de íons férricos na solução, o potencial redox atinge valores de 0,7 e 0,76V. Assim, em sistemas aeróbios, é observado um ambiente altamente oxidante. O oxigênio, acceptor final de elétrons é assimilado pelas bactérias formando água (Garcia, 2001). As reações de oxidação (Reação 22) e de redução (Reação 23) são mostradas a seguir:

Reação de oxidação:



Reação de redução:



E somando-se temos a reação global:



### 3.5.3 Lixiviação bacteriana

Serão apresentados neste capítulo alguns minerais onde mais comumente é utilizada a biolixiviação. Além da pirita, descrita anteriormente, outro mineral de importância na biolixiviação é a arsenopirita. Este mineral é bastante encontrado em associação com o ouro. Geralmente, o ouro fica ocluído em meio ao mineral, situação que dificulta a sua extração. Com a utilização das bactérias, é possível, com a adição do processo de cianetação, recuperar o ouro. O principal modo de atuação das bactérias é a oxidação do sulfeto correspondente.

Garcia (2001) relata que a recuperação biológica do ouro tem se tornado muito promissora sob o ponto de vista econômico, e várias unidades piloto e industriais em vários países (EUA, Canadá, África do Sul) têm utilizado a oxidação bacteriana como pré-tratamento do mineral para posterior recuperação do ouro.

Na Figura 26 é mostrado o mecanismo de atuação das bactérias na oxidação da arsenopirita. A oxidação da arsenopirita gera arseniato e ácido sulfúrico, conforme a Reação 25. Esta oxidação irá disponibilizar o ouro para a próxima etapa convencional de cianetação.

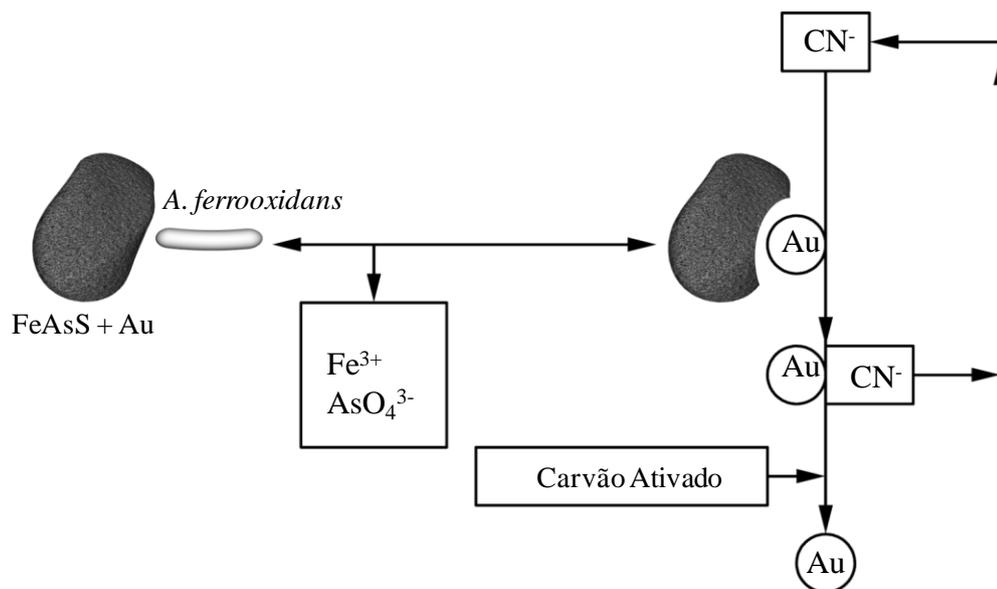
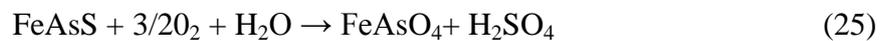
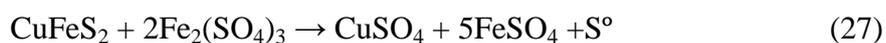


Figura 26. Lixiviação bacteriana da arsenopirita. Fonte: Adaptado de Garcia (1986).

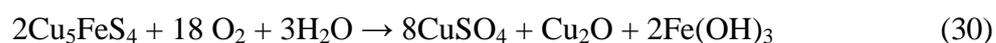
Outra aplicação da biolixiviação é na recuperação de cobre em minérios com baixos teores de calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ). Este mineral é um dos mais abundantes minerais sulfetados de cobre. Inicialmente, a calcopirita sofre a oxidação bacteriana direta gerando sulfato de cobre, sulfato férrico e água conforme a Reação 26.



Como mostrado anteriormente nos mecanismos de biolixiviação, o sulfato férrico, pelo mecanismo indireto, também solubiliza mais cobre, neste caso, uma reação puramente química com a formação de sulfato ferroso e enxofre como mostrada na Reação 27. Estes compostos serão novamente oxidados, agora pelo ataque das bactérias.



Outros três minerais sulfetados de cobre são solubilizados pelas bactérias, são eles: a covelita (Reação 28) a calcocita (Reação 29) e a bornita (Reação 30).



Na Figura 27 é mostrado o mecanismo de atuação das bactérias sobre a calcopirita. A bactéria obtém a energia necessária ao seu metabolismo pelos elétrons oriundos da oxidação do sulfeto. Desta forma são liberados para a solução o sulfato férrico e sulfato de cobre.

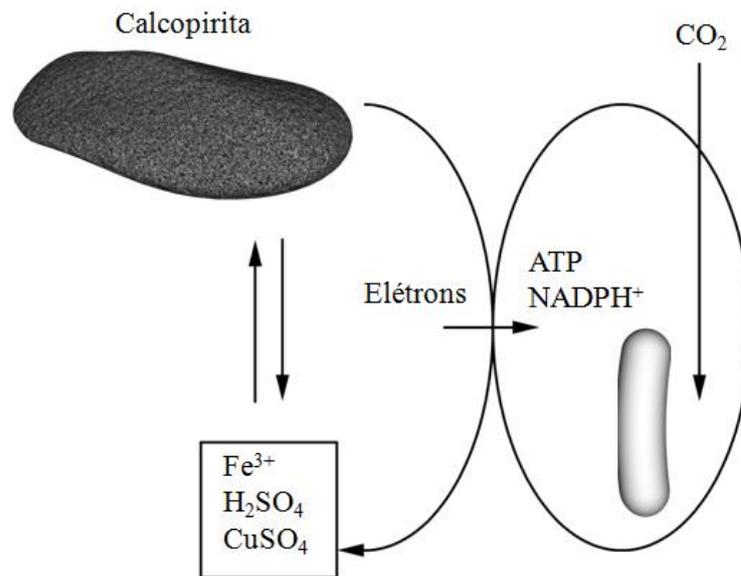


Figura 27. Lixiviação bacteriana da calcopirita. Adaptado de Garcia (1986).

Outros minerais sulfetados de prata, zinco, chumbo, níquel, cobalto, antimônio podem sofrer o ataque de bactérias lixiviantes conforme Brock et al. (1987). Alguns minerais sofrem mais facilmente a oxidação por bactérias a outros. Em geral, a bactéria mais utilizada nestes casos é a *A. ferrooxidans*, porém, outros tipos de procariontes podem ser utilizados em diferentes minerais. A Tabela 5 mostra outros exemplos de minerais possíveis de serem biolixiviados.

Tabela 5. Alguns sulfetos com possibilidade de lixiviação. Adaptado de Garcia (2001).

Imagens Fonte: *Wikimedia Commons*.

	Pirrotita – FeS
	Calcocita - Cu <sub>2</sub> S
	Covelita – CuS
	Tetraedrita - 3Cu <sub>2</sub> S.Sb <sub>2</sub> S <sub>3</sub>
	Bornita - Cu <sub>5</sub> FeS <sub>4</sub>
	Galena – PbS
	Arsenopirita - FeAsS



Esfalerita – ZnS

Pirita - FeS<sub>2</sub>Enargita -  
3Cu<sub>2</sub>S.As<sub>2</sub>S<sub>5</sub>Marcassita - FeS<sub>2</sub>Calcopirita - CuFeS<sub>2</sub>Molibdenita - MoS<sub>2</sub>

Nos elementos de terras raras, por exemplo (gálio e germânio) também foi relatada a lixiviação bacteriana. A lixiviação ocorre pelo ataque direto aos sulfetos correspondentes ou, ainda, os subprodutos da oxidação de minerais primários. Garcia et al. (1995) estudaram que a

galena (PbS) e a esfarelita (ZnS) também podem ser lixiviados por *A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans*.

No caso do urânio, normalmente, ele está na natureza na forma de óxidos insolúveis como a uraninita (UO<sub>2</sub>) e pitchblenda (UO<sub>2</sub>/UO<sub>3</sub>) apresentando-se na forma reduzida e insolúvel de (U<sup>4+</sup>). Um dos objetivos é obter o U<sup>6+</sup> (forma oxidada e solúvel) e para isto são utilizados íons Fe<sup>3+</sup>, conforme mostra a Figura 28 e a Reação 30. A utilização do processo de biolixiviação, neste caso, serve para a produção de sulfato férrico, através da pirita obtendo o urânio de forma solúvel.

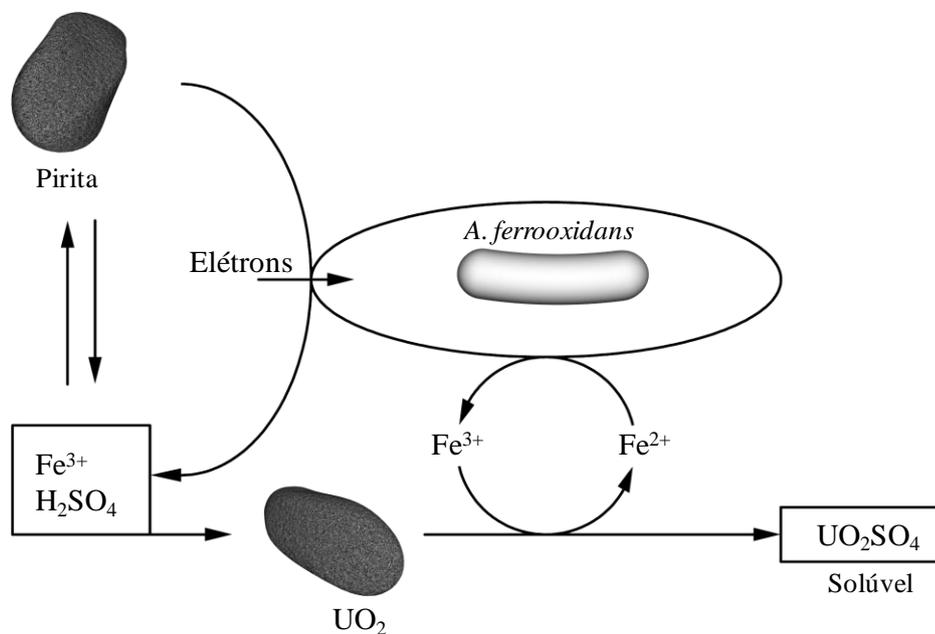
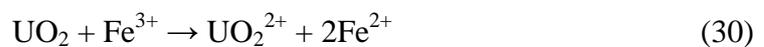


Figura 28. Lixiviação bacteriana da uraninita. Fonte: Adaptado de Garcia (1986).

### 3.6 Controle do processo

A importância de monitorar os processos de biolixiviação consiste em proporcionar as condições ideais para o crescimento bacteriano. A intenção é estimular o aumento do número de micro-organismos presentes e a consequente geração de produtos. Neste raciocínio, existem fatores associados à velocidade do crescimento microbiano, ocorrendo o estímulo das atividades microbianas. Existem vários fatores físicos, químicos e biológicos que são responsáveis pela cinética das reações de origem biológica (Brandl, 2001). Vários fatores

como: temperatura, pH, Eh, pressão osmótica, disponibilidade de nutrientes, disponibilidade de oxigênio e gás carbônico, metais tóxicos que possam afetar o crescimento bacteriano, irrigação do minério com a lixívia, composição mineral, tamanho da partícula, interações galvânicas entre minerais presentes, estrutura química e cristalina deles, presença de agentes químicos estranhos ao processo como solventes orgânicos e agentes surfactantes e a eficiência das bactérias no processo cinético de biolixiviação (Garcia, 2004; Rivadeneira, 2011). Além destes, outros fatores podem influenciar na lixiviação bacteriana como: a presença de inibidores, grande diversidade biológica, distribuição preferencial de micro-organismos, porosidade, tipo de lixiviação, geometria da pilha. O máximo rendimento da extração do metal ocorre somente quando as condições ótimas de crescimento são dadas à bactéria (Bosecker, 1997). Na Tabela 6 são apresentados alguns parâmetros de controle do processo bio-hidrometalúrgico.

Tabela 6. Parâmetros que podem influenciar na lixiviação bacteriana.

Parâmetro	Característica
Temperatura	As bactérias capazes de atacar minerais sulfetados trabalham geralmente na faixa de temperatura das mesófilas, termófilas moderadas e termófilas extremas (Ballester, 2001).
pH	É necessário para o crescimento das bactérias a faixa ideal de pH, onde, na biolixiviação, a faixa é ácida (Bosecker, 1997).
Pressão Osmótica	Altas concentrações de sais podem inibir o crescimento das bactérias (Bosecker, 1997).
Carbono	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, ou por meio do gás carbônico. Os micro-organismos na biolixiviação fixam o CO <sub>2</sub> atmosférico pelo ciclo de Calvin (Madigan et al. (2004). Segundo Barron (1990), para o crescimento de <i>A. ferrooxidans</i> foram observados de 7 a 8% de CO <sub>2</sub> . Metade do peso seco de uma célula bacteriana é composta de carbono (Pelczar, 1981; Brock, 1984; Madigan, 2000).
Micronutrientes	São necessários apenas suplementos de amônia, fosfato e magnésio para a realização da síntese de proteínas como ATP, DNA, RNA e enzimas responsáveis pelas atividades metabólicas e formação estrutural da célula (Bosecker, 1997).
Oxigênio	A disponibilidade de oxigênio varia conforme a demanda para bactérias aeróbias e anaeróbias (Bosecker, 1997).
Características da amostra mineral	É importante verificar a característica da amostra mineral, verificando a possibilidade de extração por determinado tipo de bactéria (Monteiro, 2010).
Tamanho das partículas	Tamanho de partículas superiores a 10mm podem diminuir a velocidade de ataque das bactérias (Garcia, 2001; Monteiro, 2010).

### 3.7 Reatores de biolixiviação

Os biorreatores podem incluir dispositivos com controles que permitam aeração, mistura, controle de pH, temperatura, adição de nutrientes, entre outros parâmetros. Esses processos podem ser inoculados com micro-organismos em cultura pura ou mista. Os principais modos de condução de um bioprocessos são o descontínuo, conhecido como batelada, descontínuo alimentado, semicontínuo, contínuo ou fermentação em estado sólido (Schmidell et al., 2001).

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). No caso da biolixiviação, o processo é mais lento e a disposição dos reatores deve ser adequada ao objetivo já que não se trata de um bioprocessos convencional (Schmidell et al., 2001; Brierley, 2010). Os tipos mais comuns de reatores e processos empregados na biolixiviação estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7. Tipos de processos/reatores comumente empregados na biolixiviação.

Tipo de Processos	Descrição
Lixiviação em Pilhas	Material disposto em forma de pilha em área impermeabilizada com irrigação da superfície da pilha formada. O substrato contribui para a fixação e crescimento dos biofilmes. Pode ser operado em regime ascendente ou descendente.
Lixiviação em Tanques	O material/substrato é disposto em tanques para que ocorram as reações de lixiviação no seu interior.
Lixiviação Subterrânea	Bactérias injetadas em perfurações, o sistema requer impermeabilização e bombeamento da solução concentrada.

Entre os processos citados na Tabela 6, merece uma atenção especial o processo de lixiviação em pilhas, um dos mais aplicados pela indústria da mineração pela praticidade de montagem e custos mais reduzidos de implantação (Garcia, 1986). Existem, porém, algumas dificuldades impostas pelo sistema, tais como a distribuição irregular de solução lixiviada pela

pilha. Na Figura 29, é mostrado um esquema simplificado de operação de biolixiviação em pilhas.

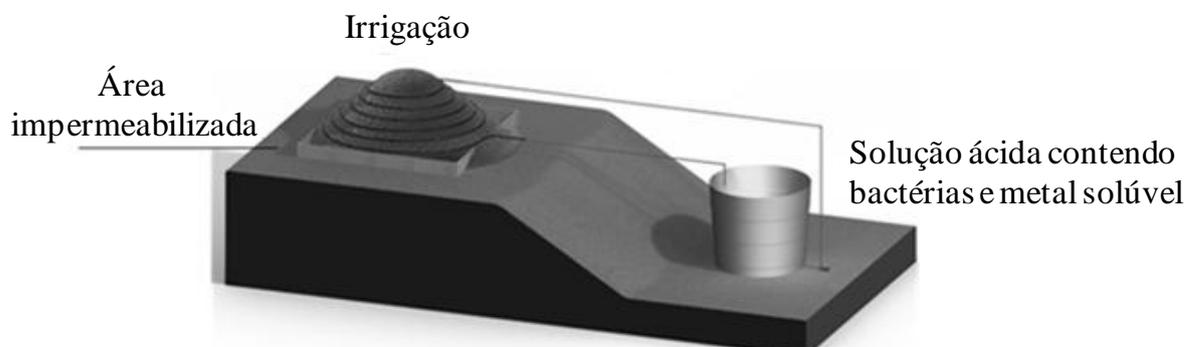


Figura 29. Esquema simplificado de lixiviação em pilhas. Fonte: Colling, 2012.

O minério a ser lixiviado é disposto em forma de pilha sobre uma área impermeabilizada com constante irrigação. A solução lixiviada é concentrada em um tanque de onde sai novamente o líquido que irá circular pela pilha. Desta forma, a lixiviação é intensificada pela ação bacteriana e pelo fenômeno auto-catalítico da reação química.

O processo de lixiviação em pilha, de concentrados de pirita de rejeito de carvão e obtenção de produtos ferrosos (óxidos e sais), parece ser inédito no Brasil, não tendo sido encontrado na revisão bibliográfica deste trabalho nenhum indício que aplique o seu uso também fora do Brasil. Por este motivo algumas carboníferas estão interessadas em iniciativas concretas de implantação de unidades de biolixiviação para obtenção de produtos com valores agregados.

### 3.8 Variação de escala

Conforme Schimidell & Badino (2001) quando são encontradas as condições econômicas adequadas de operação em bancada e a possibilidade de demanda do produto gerado é interessante avaliar o aumento da escala de produção. Geralmente, a produção ocorre da menor para a maior conhecido como “*scale-up*”. Caso contrário, quando já está se operando uma instalação industrial e há necessidade de elaborar ensaios em pequena escala, realiza-se a redução de escala ou conhecida como “*scale-down*”. Os principais interesses no

aumento de escala são associados à transposição de dados de equipamentos de escala de laboratório e piloto para a instalação industrial.

O desenvolvimento tradicional de processos fermentativos é usualmente executado em três estágios ou escalas: escala bancada, escala piloto e escala industrial. Estas etapas podem durar até duas décadas de pesquisa até a implantação comercial e cumprir as fases implica em obter os dados necessários para a tomada de decisões do projeto (White, 1999; Brierley, 2010).

A Figura 30 mostra o fluxograma de etapas a serem cumpridas para a continuidade de aumento de escala de produção.

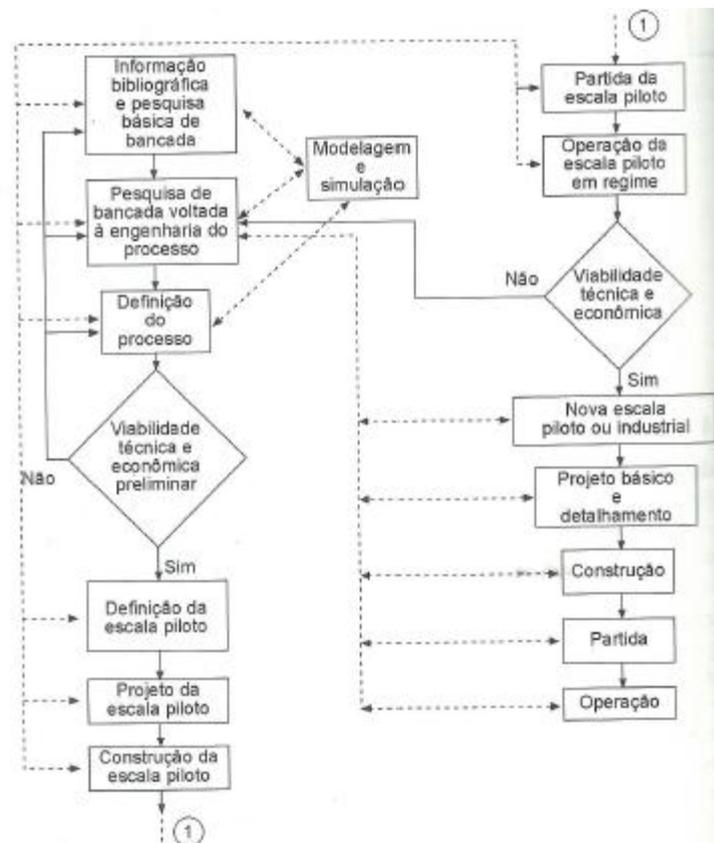


Figura 30. Etapas de desenvolvimento de um processo produtivo.

Na escala de bancada, devido à flexibilidade e menor custo, os dados básicos do processo devem ser levantados. Ainda, este levantamento de dados, deve permitir a elaboração de modelos matemáticos que possam visualizar o desempenho do reator de

condições não pesquisadas experimentalmente. Na escala piloto, como a operação é onerosa, deve-se manter constante grande parte das variáveis.

Assim, um grande problema está em criar um bom desempenho na escala industrial com os dados da escala de bancada. Para reatores convencionais, alguns critérios de aumento de escala podem ser utilizados: constância da potência no sistema não aerado por unidade de volume no meio; constância do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio; constância da velocidade na extremidade do impelidor; constância da capacidade de bombeamento do impelidor; constância no número de Reynolds e constância da pressão parcial ou concentração de oxigênio dissolvido. No caso de reatores não convencionais é necessário um desenvolvimento mais criterioso para a ampliação de escala. Muitas vezes, deve-se confiar no bom senso para a escolha do melhor critério, o que faz da ampliação de escala uma verdadeira arte (Schmidell & Badino, 2001).

No processo de lixiviação, o material granulométrico é percolado por uma solução lixiviante que irá dissolver o sólido gerando uma solução que possui os constituintes de interesse. O desempenho de determinado material é descrito após ser submetido ao teste de lixiviação em colunas ou pequenas pilhas. Estes testes dão a ideia do consumo da solução lixiviante, concentração da solução de interesse, evolução temporal do processo (Lima et al., 2002). O mesmo autor citado afirma que há dificuldades para o escalonamento de pilhas industriais e suas condições hidrodinâmicas associadas ao custo e tempo dos ensaios. Alguns exemplos de trabalhos realizados neste sentido são de Chae (1997) que utiliza a equação da continuidade para descrever o escoamento da solução no leito da pilha e um modelo cinético derivado do modelo de centro não reagido para descrever a reação minério-lixiviante. Dixon & Hendrix (1993), apresentaram um modelo que utiliza um equacionamento rigoroso, resolução por diferenças finitas e validação com resultados de experimentos de cianetação de um minério sintético de prata. Sanchez-Chacon & Lapidus (1997) apresentaram recentemente uma abordagem similar à anteriormente descrita, mas modificando o modelo cinético, uma das condições de contorno e o método de resolução numérica do problema. Dentre os modelos simplificados destaca-se o modelo de Roman inicialmente proposto para descrever a lixiviação ácida de minérios oxidados de cobre. Neste modelo, um algoritmo, que permite contornar a resolução do sistema de equações diferenciais, foi utilizado para descrever o escoamento, livre de dispersão axial (pistom) da fase líquida no interior da pilha e o modelo de centro não reagido foi utilizado para representar a reação do minério com o lixiviante. O modelo proposto por Box & Prosser (1986) é uma generalização do modelo de Roman. Ele

leva em consideração a interação simultânea de diversos minerais e lixiviantes, além dos próprios produtos de lixiviação, que eventualmente possam participar deste sistema reagente. Neste caso, o modelo de centro não reagido foi utilizado para descrever as reações sólidos-reagentes e o algoritmo de Roman foi utilizado para descrever o escoamento pistom do líquido no leito da pilha. Além disto, foram acrescentadas correlações empíricas para estimar o volume de líquido retido na pilha Roman et al. (1974). Este modelo foi posteriormente particularizado para o caso da lixiviação cianídrica de minérios auríferos na qual podem participar outros metais lixiviáveis, Prosser (1988). No presente trabalho, buscou-se um estudo simples que pudesse servir de base para futuros estudos de biolixiviação utilizando a análise dimensional.

Basicamente, análise dimensional é um método para reduzir o número e a complexidade de variáveis experimentais utilizando uma técnica compacta. Muitos cientistas associam a análise dimensional (DA) ao Teorema  $\pi$  de Vaschy-Buckingham, publicado em 1914. Com o auxílio deste teorema, a análise dimensional pode ser usada para determinar o número e a forma dos grupos dimensionais descritos por um sistema fluido. Estabelece que, se em uma equação física envolvendo certo número “n” de variáveis físicas dimensionais, onde estas variáveis são representadas por “r” dimensões físicas fundamentais independentes, a equação do processo ou sistema físico pode ser re-escrita como equação de  $p = n - r$  variáveis adimensionais (parâmetros  $\Pi$ ), construídas a partir de variáveis originais. Os grupos dimensionais são unidades de combinação algébrica de vários parâmetros físicos no problema. O valor de cada grupo dimensional é um número puro determinado por um valor específico dos parâmetros do problema que acaba sendo uma forma de antecipar o comportamento físico do sistema de maneira simples, conhecendo as dimensões do grupo descrito.

Um segundo benefício da análise dimensional é ajudar no planejamento da teoria e experimentos. Equações podem ser resolvidas, utilizando aproximações analíticas, computacionais e experimentais para melhor compreensão da distribuição, propriedades e interação do fluxo no sistema de controle. A análise dimensional serve de ferramenta para muitas das respostas a questões envolvendo a pesquisa experimental. A análise adimensional é sugerida como caminho para escrever equações sem gastar muito dinheiro e tempo. Ela nos sugere as variáveis que podem ser descartadas; algumas vezes variáveis dimensionais serão imediatamente rejeitadas, outras vezes agrupadas e mostrando resultados importantes.

Um terceiro benefício é que a análise dimensional pode fornecer o aumento de escala convertendo os dados de um pequeno modelo para um grande prototipo. Cabe destacar que não é possível construir um sistema com altos custos para daí testar suas características.

### Teorema Pi

Toda relação física entre  $n$  quantidades físicas pode ser reduzida a uma relação entre  $m = n - r$  grupos adimensionais mutuamente independentes, em que  $r$  é o posto da matriz dimensional (constituída das variáveis em questão; o posto  $r$  é igual ou menor ao número das dimensões primárias contidas nas dimensões das variáveis).

O teorema Pi explica a redução de variáveis esperadas: se o processo envolve  $n$  variáveis dimensionais ele pode ser reduzido para a relação entre  $m$  variáveis adimensionais ou grupos  $\Pi$ . A segunda parte do teorema mostra como encontrar os grupos  $\Pi$ .

Tipicamente os passos envolvidos são:

- 1) Listar todas as variáveis importantes para a descrição do fenômeno.
- 2) Escolher as dimensões primárias que constituem as dimensões das  $n$  variáveis: por exemplo, pode-se considerar massa, comprimento, tempo (ou  $M$ ,  $L$ ,  $T$ ). Se efeitos térmicos são importantes, deve-se considerar a dimensão de temperatura  $\theta$  também.
- 3) Escrever as dimensões das variáveis em termos das dimensões primárias: por exemplo, um diâmetro de partícula apresenta somente a dimensão de comprimento e sua dimensão pode ser representada por  $M^0L^1T^0\theta^0$ . A dimensão de uma concentração (em massa por volume) é  $M^1L^{-3}T^0\theta^0$ .
- 4) Construir a matriz dimensional, em que cada coluna representa uma variável e cada linha uma dimensão primária. O posto da matriz (o número de linhas linearmente independentes) será importante para se avaliar se há redundância no caso das dimensões primárias escolhidas, caso seja diferente do número de linhas da matriz.
- 5) Calcular o número de grupos adimensionais relevantes: é igual à diferença entre o total de variáveis ( $n$ ) e o posto da matriz dimensional ( $r$ ).
- 6) Escolher um núcleo formado por  $r$  variáveis; cada dimensão primária deve estar presente no núcleo.

## Modelagem

Uma vez selecionada e formada a análise dimensional, os experimentos buscam alcançar similaridade entre o modelo testado e o protótipo a ser designado. Com teste suficiente, o modelo de dados revelará a desejada relação entre as variáveis.

$$\Pi_1 = f(\Pi_1, \Pi_2, \dots, \Pi_k)$$

Com a equação disponível no gráfico é possível garantir a similaridade entre o modelo e o protótipo, se for assegurada a igualdade entre os grupos adimensionais do modelo e do protótipo:

Similaridade completa:  $\Pi_{k,modelo} = \Pi_{k,protótipo}$  , para todo k

*Flow conditions for a model test completely similar if all relevant dimensionless parameters have the same corresponding values for the model and the prototype.*

*White, 1999.*

### 3.9 Aplicações dos sais e óxidos férricos

O sulfato férrico possui aplicações como coagulante para tratamento de água e efluentes (Menezes, 2010). Também pode ser utilizado como mordente, substâncias utilizadas para a indústria de tingimento que contribuem para fixar os corantes ou pigmentos em fibras. Segundo o *The Index Merck* (1996), o sulfato férrico pode ser usado na preparação de diversos sais de ferro e pigmentos como agente corrosivo em aço inoxidável de cobre, gravação de peças de alumínio, corretivo de pH em solos e catalisador na indústria de polímeros (Silva, 2010).

O sulfato ferroso pode ser aplicado na formulação de medicamentos, principalmente onde haja a necessidade do uso de ferro. Pode ser também utilizado como suplemento para rações (Bertechini et al., 2000) ou como fertilizante na agricultura de trigo e frutas

(Malavolta, 1975; Azevedo 2006). Existe, ainda, a possibilidade do uso do sulfato ferroso no tratamento de efluentes como agente coagulante e na Reação de Fenton (Metcalf & Eddy).

As aplicações dos óxidos de ferro podem ser realizadas em tintas, como por exemplo, a hematita - pigmento vermelho - (Madeira, 2009; Silva, 2010).

Outras aplicações podem ser na construção civil, em alvenaria, tijolos de concreto colorido, argamassas e telhas, sem a necessidade de pintura. Podem ser utilizados na produção de papéis, coloração de borracha, complemento alimentar animal, tintas magnéticas para impressão a laser, fax e xerocadoras.

## **4 EXPERIMENTAL**

Serão apresentados neste capítulo os materiais, equipamentos e análises empregados neste trabalho para a obtenção e aplicação do concentrado férrico nas escalas bancada, piloto, industrial e no teste de jarros realizado com o produto gerado. Também serão descritas as técnicas utilizadas para a identificação molecular e bioquímica e quantificação dos microorganismos acidofílicos presentes nas amostras de drenagem ácida de minas e do processo de biolixiviação. Também são apresentadas as variáveis escolhidas para o estudo de aumento de escala.

### **4.1 Materiais**

A seguir serão descritas as informações sobre as amostras, os equipamentos e os reagentes utilizados durante a realização deste trabalho. Para as amostras de rejeito de carvão e água de circulação são apresentadas as técnicas de caracterização.

#### **4.1.1 Rejeito de carvão**

A amostra de rejeito de carvão mineral, Figura 31, foi fornecida por uma empresa situada no Município de Criciúma, localizado na região carbonífera do Estado de Santa Catarina. O rejeito de carvão passou inicialmente por um processo de rebeneficiamento por jigagem. Após o processo de jigagem, o material foi disposto no pátio industrial em uma pilha longitudinal. Nesta pilha foi coletada uma amostra que foi encaminhada ao laboratório da UFRGS. No laboratório, as amostras foram secas e quarteadas. Alíquotas foram coletadas para a caracterização do material, e o restante foi armazenado em recipientes de polietileno de alta densidade (PEAD) para posterior uso experimental e armazenamento de contra-amostra. Para a execução dos ensaios de biolixiviação em escala de laboratório, esse mesmo material foi britado em britador de mandíbulas até atingir a granulometria entre 2-6 mm. Para os ensaios em escalas piloto e industrial foi mantida a granulometria entre 2-50 mm, deixando o mais próximo possível da condição real de trabalho industrial. A amostragem foi efetuada, usando os procedimentos recomendados na NBR 10 007 (ABNT, 2004).



Figura 31. Rejeito de carvão.

#### 4.1.2 Água de circulação

A água de circulação, utilizada nos testes de coluna em bancada foi água destilada/deionizada previamente autoclavada em temperatura de 120°C durante 20 minutos e também a EDR4 (água oriunda das valas intermediárias das pilhas de rejeito com contribuição da água da chuva). A água perdida por evaporação natural durante o tempo dos ensaios de biolixiviação foi repostada até a marca 1L de água preparada nas mesmas condições descritas para ensaios de bancada. Para os ensaios de escala piloto e industrial foi utilizada água de circulação EDR4 e também água tratada do DMAE/Porto Alegre.

O uso da EDR4 como água de circulação no processo piloto e industrial foi realizado pela disponibilidade deste efluente no pátio industrial. Pode-se considerar esta iniciativa impulsionada pela ideia de aproveitamento da água da chuva. A Figura 32 mostra a localização exata dos módulos de rejeito A e B no pátio industrial de Criciúma e a localização da vala intermediária entre eles, local de onde foi retirada a água de circulação do processo na planta piloto. É possível localizar na imagem, também, os poços de monitoramento do lençol freático e a usina de beneficiamento de carvão.

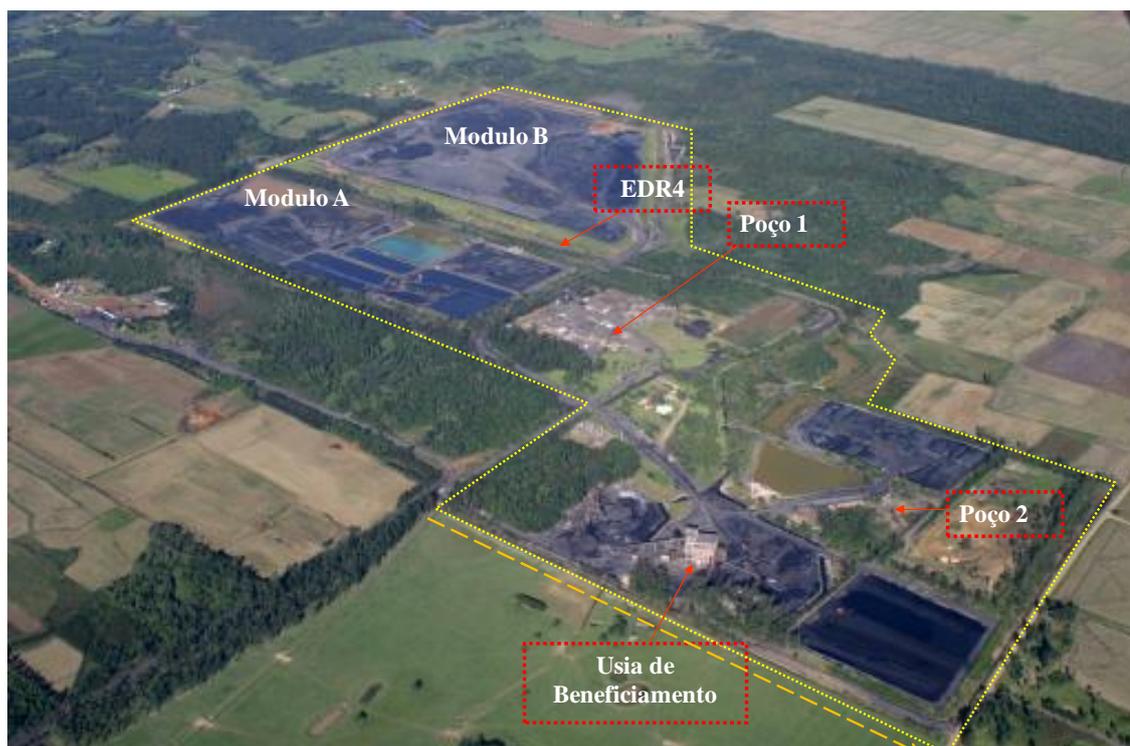


Figura 32. Complexo industrial da Mina do Verdinho. Fonte: Carbonífera Criciúma S.A.

#### 4.1.3 Reagentes analíticos e comerciais

Os micronutrientes utilizados nos testes de biolixiviação foram os seguintes:

- Solução A do meio “9K” que será identificada como meio sintético, um meio específico para a contagem de *A. ferrooxidans*. Este meio possui a seguinte composição: 3,0 g.L<sup>-1</sup> de sulfato de amônio (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub>; 0,5 g.L<sup>-1</sup> de hidrogeno fosfato de potássio K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,5 g.L<sup>-1</sup> de sulfato de magnésio MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,1 g.L<sup>-1</sup> cloreto de potássio KCl;
- Fertilizante mineral misto (ureia) da marca CEDROS<sup>®</sup> contendo 45% de nitrogênio.

Os ensaios em teste de jarros foram realizados com o concentrado férrico obtido do processo em escala piloto. O pH dos ensaios foi ajustado com hidróxido de sódio para análise (P.A.) da marca Synth<sup>®</sup>. A água utilizada no tratamento com o concentrado férrico foi a água

de adução, Rio Guandu, a mesma utilizada pela Companhia Estadual de Águas e Esgotos do Rio de Janeiro (CEDAE) na ETA Guandu. A amostra foi caracterizada quanto a propriedades físicas, química e biológicas. Todos os demais reagentes analíticos a serem empregados, quando necessário, nas análises e nos experimentos deste trabalho foram de grau analítico P.A. da marca Synth<sup>®</sup> ou Merck<sup>®</sup>.

#### 4.1.4 Equipamentos

##### 4.1.4.1 Equipamentos gerais

Os equipamentos utilizados neste trabalho para as análises físicas, químicas e microbiológicas estão listados na Tabela 8.

Tabela 8. Equipamentos utilizados nas análises físicas, químicas e biológicas.

<b>Equipamento</b>	<b>Marca</b>	<b>Modelo</b>
Agitador magnético	Tecnal	E085
Analizador CHNS	Elementar	Vario Macro
Aparelho <i>Jar-test</i>	Policontrol	Floc Control II
Autoclave	Prismatec	CS
Balança analítica	Leco	Leco-250
Bomba à Vácuo	Fanem Ltda.	A
Capela de fluxo laminar	BSTec	H1
Chapa de aquecimento	Jung	400
Centrífuga	Sigma	2K15
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 secagem	De Leo	009
Estufa Bacteriológica	DeLeo	Digital
Forno-Mufla	Quimis	-

Mesa Agitadora	Tecnal	TE-420
Microscópio Eletrônico de Varredura	Jeol	JSM 5800
Microscópio Óptico	BEL Engineering	Top Light B2
Moinho planetário	Fritsc	Pulverisette 5
pH-metro	Digimed	DMPH-2
Oxímetro	Instruterm	MO 900
Termociclador	Axygen	Therm-1000-2
Turbidímetro	Servilab	TB 1000
Sequenciador	Perkin Elmer	-

#### 4.1.4.2 Ensaios de biolixiviação

Os ensaios de biolixiviação foram conduzidos em escala de bancada e piloto. Foi realizado também um ensaio em escala industrial em parceria com a Carbonífera Criciúma. Os estudos de escala bancada servem como parâmetros de aplicação em escala piloto. Na Figura 33 é apresentada a sequência de experimentos realizados nas diferentes escalas de biolixiviação.

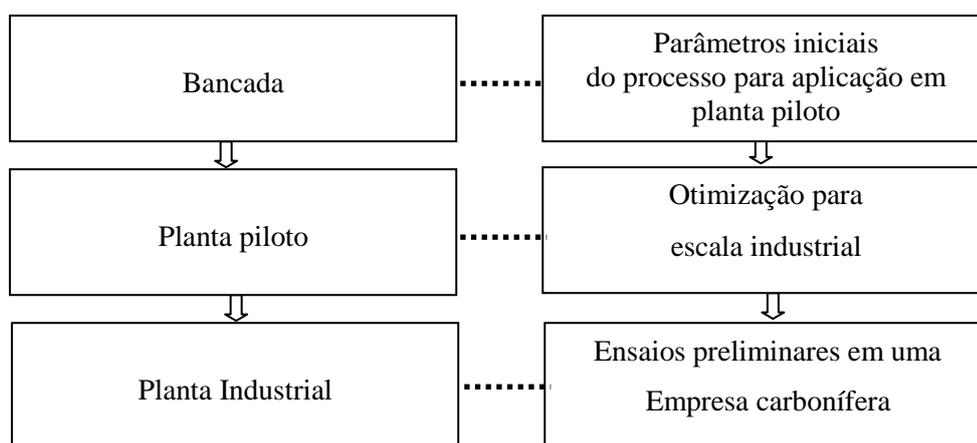


Figura 33. Fluxograma da metodologia aplicada para os experimentos.

## Ensaio de Bancada

Para o desenvolvimento dos ensaios em colunas foram construídos seis reatores de bancada todos de vidro cilíndricos, com altura de 30 cm e diâmetro interno de 7 cm. Foi utilizado um béquer para desempenhar o tanque de circulação do material lixiviado em fluxo descendente. As partes integrantes deste reator são descritas abaixo e demonstradas na Figura 34.

- Difusor: frasco de polietileno de 250 mL perfurado uniformemente com 20 furos de 3 mm de diâmetro entre um e outro furo na parte inferior.
- Coluna de lixiviação: coluna de vidro cilíndrica, com altura de 30 cm e 7 cm diâmetro.
- Recipiente do lixiviado: um Béquer de vidro de 2L foi utilizado como depósito do concentrado.
- Sistema de circulação: mangueira flexível de látex resistente à acidez e corrosão e uma bomba Sarlo<sup>®</sup> (5W).

Inicialmente, todo o material utilizado na montagem do estudo experimental foi previamente esterilizado em autoclave a 120°C por 20 minutos. Após a montagem completa dos seis reatores, estes foram recheados com um quilograma de rejeito de carvão, formando um leito empacotado.

Para iniciar o ensaio, o carvão foi lavado com água destilada/deionizada/autoclavada para remoção dos finos. No sistema de coleta (utilização do Béquer) foi colocado um litro de água de circulação (destilada/deionizada/autoclavada).

A distribuição uniforme da água de circulação foi realizada pelo difusor na parte superior da coluna de leito empacotado sobre o rejeito de carvão. A água de circulação escoou internamente pelo rejeito de carvão da coluna de lixiviação a uma vazão de 2 L.min<sup>-1</sup>. Após passar pelo leito de rejeito, o líquido foi concentrado no recipiente (béquer) e novamente conduzido à circulação pela bomba de circulação. A mangueira flexível conduz o líquido até o difusor para reiniciar o processo. Uma parcela de água de circulação permanece no béquer, outra no sistema de circulação (bomba ou mangueiras) e a outra escoando pelo rejeito. O processo de lixiviação foi mantido de forma contínua por nove semanas. A cada semana

foram coletadas amostras de lixiviado para análise e reposta a água de circulação evaporada naturalmente.

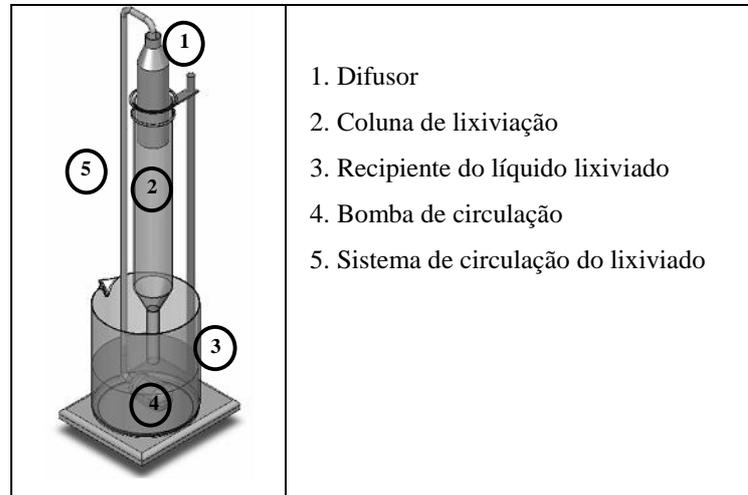


Figura 34. Reator de escala laboratorial para ensaios de biolixiviação.

Na Figura 35 são mostradas as colunas montadas em laboratório para a determinação de parâmetros do processo de biolixiviação. Foram realizadas em duplicata.

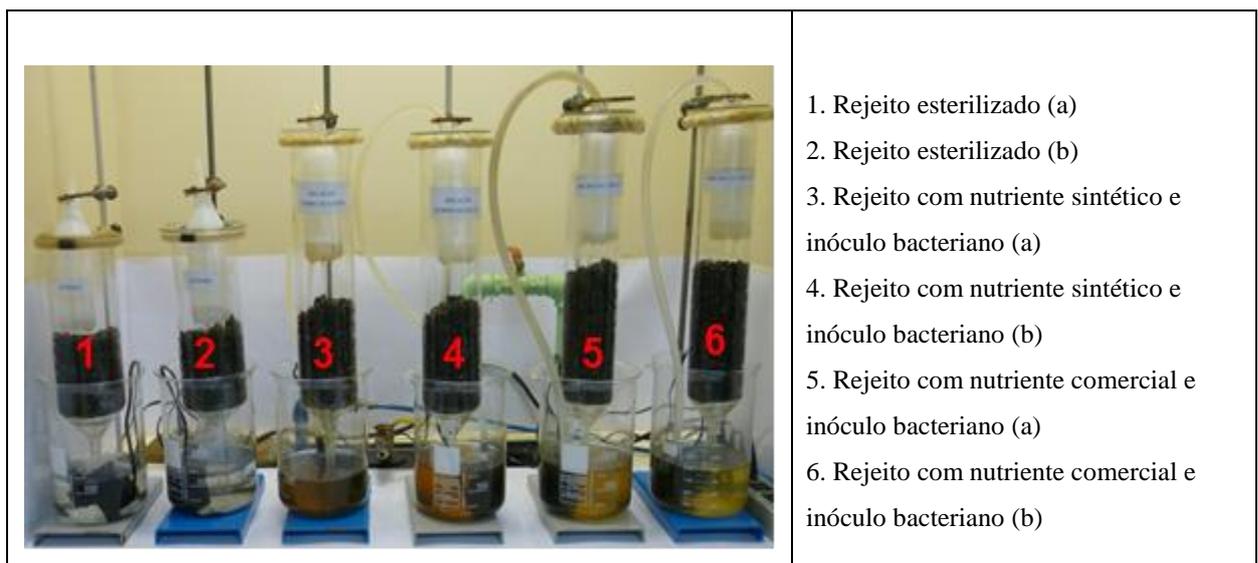


Figura 35. Montagem do experimento em nível de bancada. Fonte: Colling, 2012.

As colunas 1 e 2 são as colunas controle onde o rejeito foi esterilizado em autoclave e não foi adicionado nenhum componente na água de circulação. Teve-se o cuidado de realizar uma separação física com papelão forrado entre as colunas estéreis e as colunas com inóculo para evitar contaminação das colunas estéreis por micro-organismos durante o processo. Já nas colunas 3 e 4, o concentrado de pirita não foi esterilizado e na água de circulação foram adicionados 10mL da DAM do Módulo B (como inóculo de bactérias) e também os micro-nutrientes da solução B do meio 9K (solução B: 3g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,1g KCl; 0,5g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,5g MgSO<sub>4</sub>; 0,01g Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). Nas colunas 5 e 6 foram adicionados 10 mL da DAM do Módulo B como inóculo de bactérias e também ureia como micro-nutrientes. A quantidade de micro-nutrientes acrescentadas foram: 6g de fertilizante natural misto (ureia) e 0,5g de hidrogeno fosfato de potássio (KHPO<sub>4</sub>).

### **Ensaio em Planta piloto**

A planta piloto de biolixiviação, construída na UFRGS, ocupou uma área de 3 m<sup>2</sup>. Foi utilizado o modelo de biolixiviação em pilha com dois reservatórios de capacidade de 0,5 m<sup>3</sup>. Um deles foi utilizado como recipiente do rejeito; o outro, como reservatório da solução concentrada de ferro. Os aspectos construtivos da planta estão descritos na Figura 36 e as partes integrantes do sistema são mostradas a seguir:

- Difusor: chuveiro de PVC com diâmetro de 30 cm.
- Pilha de biolixiviação: reservatório com capacidade de 0,5m<sup>3</sup>.
- Bomba de circulação: bomba submersa Sarlo<sup>®</sup> modelo SB 2000 (30W) resistente à acidez do meio.
- Recipiente do lixiviado: reservatório com capacidade de 0,5m<sup>3</sup> foi utilizado como depósito do concentrado.
- Sistema de circulação: mangueira flexível de látex, difusor e bomba de recirculação.

O funcionamento da planta foi obtido pela circulação direta da solução do reservatório dois para o reservatório um.

Um reservatório com capacidade de 0,5 m<sup>3</sup> foi disposto sobre um suporte metálico protegido contra a corrosão contendo 200 kg de rejeito. Uma bomba de circulação foi colocada no reservatório inferior. A solução de início do processo foi 200L da solução EDR4

e também água natural. Foram adicionados os seguinte nutrientes: 0,9kg de sulfato de amônio ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ); 150g de fosfato hidrogeno de dipotássio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ); 150g de sulfato de magnésio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); 30g de cloreto de potássio ( $\text{KCl}$ ). A fonte de inóculo foi uma drenagem ácida do módulo B preparada em laboratório em meio “9K”. Foram utilizados dois reservatórios de  $0,25\text{m}^3$  com sistema de segurança de vazamentos. O critério utilizado para o aumento de escala foi a massa rerejeito e volume de solução lixiviante na proporção 1:1.

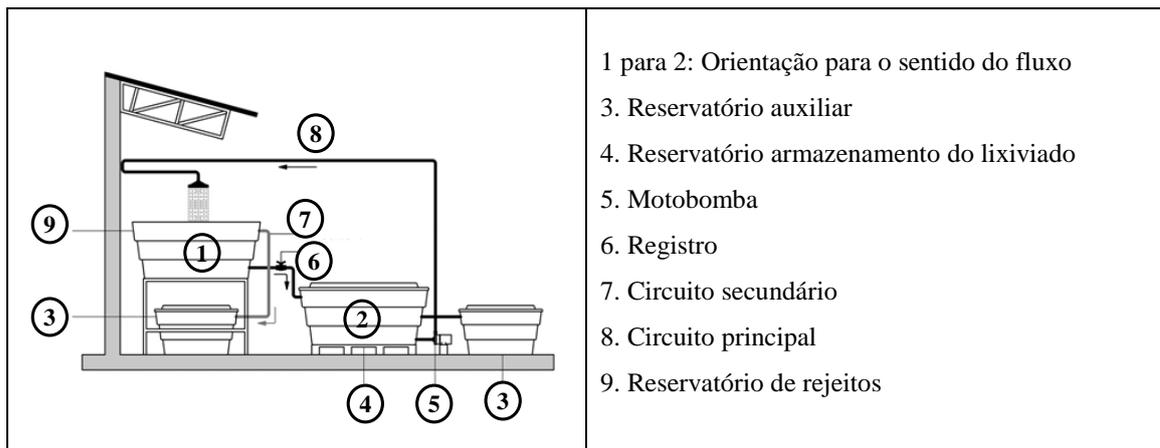


Figura 36. Aspecto contrutivo da planta piloto. Fonte: Colling, 2012.

Na Figura 37 é mostrada uma imagem da planta em operação. No detalhe da imagem é mostrada a pilha de rejeito e também a solução de concentrado férrico obtido.



Figura 37. Planta piloto. Fonte: Colling, 2012.

A Figura 38 mostra a imagem da planta piloto em 3 dimensões e a Figura 39 mostra as dimensões de projeto.



- Condição controle: Planta de biolixiviação com circulação de água natural por 24h sem a adição de nutrientes e micro-organismos;

Cabe destacar que a condição controle não é a condição estéril realizada nas colunas devido à impossibilidade de esterilização de 200kg de rejeito. Dessa maneira, deve-se considerar que a condição controle, embora sem a adição de inóculo, apresenta a presença de bactérias, porém em menor quantidade devido à presença de bactérias aderidas ao carvão proveniente do pátio industrial.

- Condição ideal: Planta de biolixiviação com circulação com água EDR4 durante 24h com adição de nutrientes 9K e micro-organismos acidofílicos como fonte de inóculo.

### **Ensaio em Planta industrial**

No pátio industrial da carbonífera, em Criciúma, foi construído um protótipo de planta de biolixiviação em cerca de 20m<sup>2</sup>. O processo foi também construído no modelo de pilha contendo 5 toneladas de rejeito de carvão e um reservatório de PEAD, contendo a solução concentrada de ferro. A Figura 40 mostra a imagem da planta de biolixiviação montada na Carbonífera Criciúma S.A.

As partes integrantes do sistema industrial estão descritas abaixo:

- Difusor: mangueira de látex com diâmetro de 5 cm disposta em torno da pilha do concentrado pirítico.
- Pilha de biolixiviação: cinco toneladas de rejeito de carvão disposto no formato de pilha.
- Bomba de circulação: uma bomba centrífuga motor marca Eberle<sup>®</sup>, modelo 30P866, para alimentação de água com vazão de 1 até 40 L.min<sup>-1</sup>. A bomba possui potência do motor de 2,0 CV e rotação de 3500 rpm.
- Recipiente do lixiviado: reservatório com capacidade de 5m<sup>3</sup> utilizado como depósito da solução concentrada de ferro.
- Sistema de recirculação: Mangueira látex e bomba de circulação.



Figura 40. Planta industrial na carbonífera em Criciúma (SC). Fonte: Carbonífera Criciúma, 2012.

A solução de circulação do processo foi o efluente EDR4. O micronutriente utilizado inicialmente foi a ureia e, posteriormente, substituído pelos reagentes sintéticos porque a ureia apresentou forte odor na área industrial.

## 4.2 Análises

### 4.2.1 Caracterização do rejeito de carvão

O rejeito foi caracterizado quimicamente em relação ao teor de enxofre, composição mineralógica e análise imediata. O teor de enxofre total foi medido em um analisador de enxofre Analisador CHNS (carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre) da marca Elementar<sup>®</sup> e modelo Vario Macro. Os enxofres pirítico e sulfático foram determinados por via úmida, conforme descrito na norma ISO 157 (1996). O enxofre orgânico foi calculado a partir da subtração do valor de enxofre pirítico e sulfático do valor de enxofre total. Foram avaliados na análise imediata os seguintes parâmetros: cinzas, matéria volátil e carbono fixo (ABNT, 1983). A análise mineralógica foi feita por análise de difração de raios-x. Também foi realizada análise da superfície do material por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com análise qualitativa da composição mineral no ponto de análise conhecida como EDS. A distribuição granulométrica foi desenvolvida utilizando peneiras de diferentes malhas (25,4mm; 9,52mm; 7,93mm; 4,76mm; 2mm). Também foi feita a digestão ácida do rejeito para análise elementar em absorção atômica.

#### 4.2.2 Monitoramento do processo de lixiviação

As análises realizadas do processo de biolixiviação estão listadas na Tabela 9.

Tabela 9. Análises realizadas no lixiviado obtido a cada semana nos ensaios de biolixiviação.

Parâmetro	Método	Equipamento
<i>A. Ferrooxidans</i>	Técnica 9221C*	Técnicas Microbiológicas
Bactérias aderidas	Microscopia Eletrônica de Varredura	Jeol – JSM 5800 Scanning Microscope e Thermo Eletron Corporation Norm System Six
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.

## 4.2.3 Diversidade de bactérias acidofílicas e quantificação bacteriana

### 4.2.3.1 Meios seletivos

A identificação bacteriana foi realizada nas amostras de DAM e foi utilizada como inóculo do processo de biolixiviação, e amostras do processo de biolixiviação.

Para a coleta, esterilização, preservação e armazenamento das amostras foram seguidas as orientações do APHA (2005) (9030; 9030; 9040; 9050 e 9060) para ensaios microbiológicos. Para as análises de contagem de bactérias acidofílicas na DAM e no monitoramento das amostras de lixiviado foram utilizados os meios específicos obtidos também a partir do APHA, 2005. Para cada teste foi adicionado um volume de 1 mL de solução para 9 mL de meio de cultura específico.

Contando com a possibilidade de encontrar espécies bacterianas diferentes, se fez o uso de diversos meios de cultura para conseguir identificá-los.

Na Tabela 10 são mostrados o nome do micro-organismo, o meio de cultura específico e qual a temperatura de melhor crescimento. As composições dos meios específicos estão abaixo descritas:

**Meio “9K”:** Solução A: 3,0g de sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,5g de hidrogeno fosfato de dipotássio  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,5g de sulfato de magnésio  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1g de cloreto de potássio  $\text{KCl}$ . A solução B: 44,8 g de sulfato ferroso  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

**Meio Starkey:** 0,2g de sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,25g de cloreto de cálcio  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 3,0g de hidrogeno fosfato de dipotássio  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,5g de sulfato de magnésio  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,01g de sulfato ferroso  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; enxofre elementar 10g.

**Meio 9K enriquecido com glicose:** 44,22g de sulfato ferroso  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 3,0g de sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,1g de cloreto de potássio  $\text{KCl}$ ; 0,5g de hidrogeno fosfato de dipotássio  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,5g de sulfato de magnésio  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,01g de nitrato de cálcio  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1g de glicose.

**Meio Norris & Kelly:** 13,9g de sulfato ferroso  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,2g de sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,2g de hidrogeno fosfato de dipotássio  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,2g de sulfato de magnésio  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;

**Meio Allen modificado:** 1,3g de sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,28g de hidrogeno fosfato de dipotássio  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,25g de sulfato de magnésio  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,25g cloreto de cálcio  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; Elementos-traço: 20g de cloreto férrico  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 1,8g cloreto de manganês  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 4,5g de borato de sódio  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ; 0,22g de sulfato de zinco  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,05g de cloreto de cobre II  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,03g de molibdato de sódio  $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,04g de sulfato de vanádio  $\text{VSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,01g de sulfato de cobalto  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Da solução de elementos-traço (formulação para 1 L) é retirada uma alíquota de 1 mL.

**Meio para *Acidiphilium*:** 2,0g de sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,1g de cloreto de potássio  $\text{KCl}$ ; 0,5g de fosfato hidrogeno de dipotássio  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,5g de sulfato de magnésio  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 5g de glicose previamente diluída.

Todos os meios foram calculados para uma solução de 1L. A execução da técnica foi realizada conforme descrito no APHA (2005) (páginas 9-98 até 9-100).

Tabela 10. Teste qualitativo da presença de bactérias acidofílicas.

<b>Micro-organismo</b>	<b>Meio de Cultura</b>	<b>Temperatura Ideal de Crescimento</b>
<i>A. ferrooxidans</i>	9K	30-35°C
<i>A. thiooxidans</i>	Starkey	28-30°C
<i>Acidithiobacillus organoparus</i> ( <i>A. acidophilus</i> )	9K enriquecido com glucose	27-30°C
<i>L. 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

#### 4.2.3.2 Formação de colônias em meios sólidos

Também foram realizadas análises de formação de colônias em placas de Petry, contendo meio sólido de cultivo (meio ISP) para *A. ferrooxidans*, seguindo o procedimento descrito no APHA, 2005. A composição deste meio de cultura foi a seguinte: 6,0g de sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,5g de hidrogeno fosfato de dipotássio  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 1,0g de sulfato de magnésio  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,2g de cloreto de potássio  $\text{KCl}$ ; 0,02g de nitrato de cálcio  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  33,4 g de sulfato ferroso  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e 7,0g de ágar purificado.

#### 4.2.3.3 DGGE

Como já apresentado na seção 3.3.1 o Denaturing Gradient Gel Eletrophoresis – DGGE foi realizado conforme o fluxograma abaixo, Figura 41. A amostra de DAM foi cultivada em meio 9K e após realizado um plaqueamento, contendo o meio sólido específico para organismos acidofílicos. Paralelamente, foi realizada a etapa de concentração de micro-organismos pela filtração com membranas de 0,2  $\mu\text{m}$ . O volume filtrado de cada amostra foi de 20L. A extração do DNA das bactérias foi realizada na amostra contida no filtro de 0,2  $\mu\text{m}$ .

Foi utilizado o kit de extração de DNA Power Soil<sup>®</sup> seguido de amplificação por PCR e eletroforese em gel. As bandas encontradas no gel foram sequenciadas para comparação de sequências conhecidas na literatura e no banco de dados internacional do *GenBank*.

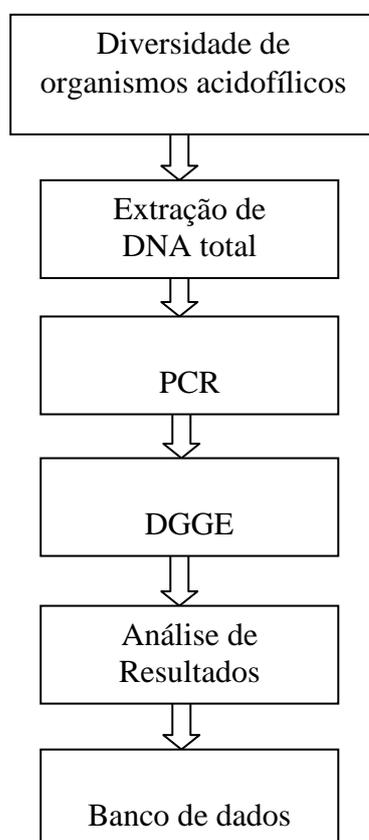


Figura 41. Fluxograma da metodologia aplicada para a determinação da diversidade de organismos pela técnica DGGE.

A etapa de extração consiste em enfraquecer e romper a parede celular dos micro-organismos, liberando seus componentes moleculares na solução, para então realizar a purificação do DNA. Para avaliar a pureza e eficiência da extração, foi realizado um gel de agarose 0,8%, corado com brometo de etídio e comparado com o material extraído com marcador de 1kb. A segunda etapa consiste na amplificação do DNA por PCR. O DNA extraído foi então submetido à reação em cadeia polimerase (PCR) com primers universais 16S (região 338 calda GC 518). Estes primers contêm o grampo GC evitando a desnaturação completa da fita dupla de DNA no gel com gradiente de desnaturação. A PCR foi realizada com tampão 2,5µL, MgCl<sub>2</sub> 0,75mM, dnTPs 0,8 µL, PF e PR 1 µL, Taq 0,25 µL, água e DNA, totalizando uma solução final de 25 µL. A programação, realizada no termociclador, foi a seguinte: desnaturação inicial: 94°C por 4 minutos, desnaturação: 94°C por 1 minuto (25

ciclos); anelamento: 47°C por 1 minuto e meio; extensão: 72°C por 1 minuto; extensão final: 72°C por 15 minutos. A terceira etapa foi a execução do DGGE no gel de poliacrilamida com o gradiente desnaturante (mistura de ureia e formamida). Foram colocados nas canaletas do gel 20 µL do produto de PCR e 15 µL de corante. A corrida foi realizada a 70V e 55°C durante 18 horas em tampão TAE 1X. Após a corrida, o gel foi corado com Syber Green, seco e digitalizado. A quarta etapa foi a análise dos resultados, verificando os perfis de bandas obtidos do gel de DGGE. Foi utilizado o software Chromas Pro para análise das bandas sequenciadas. As bandas obtidas foram sequenciadas e obtida a similaridade com a literatura já descrita.

#### 4.2.3.4 Quantificação de bactérias

Os ensaios para a quantificação do número de bactérias foi realizado pela técnica dos tubos múltiplos. Nesta figura é possível observar os tubos positivos, estes oxidam o meio “9K”, contendo o sulfato ferroso.



Figura 42. Tubos de ensaio da análise do NMP:100mL mostrando o resultado positivo para *A. ferrooxidans*

#### 4.2.4 Preparativos para a produção do coagulante

Com o objetivo de alcançar a concentração de ferro similar ao reagente sulfato férrico comercial, as amostras obtidas do concentrado de ferro foram evaporadas até a concentração de  $12\text{mg.L}^{-1}$ .

Com a finalidade de purificar o reagente obtido antes da evaporação foi realizada uma filtração em membrana de  $0,45\mu\text{m}$  auxiliada por uma bomba à vácuo. A seguir a evaporação foi conduzida lentamente em uma chapa de aquecimento em banho-maria em temperatura de  $30\text{-}35^\circ\text{C}$ . As análises realizadas com o coagulante evaporado estão descritas na Tabela 11.

Tabela 11. Análises realizadas no coagulante.

Parâmetro	Método	Equipamento
<i>Aciditobacillus 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 $\text{Fe}^{2+}$ .	-
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

Também foi utilizado o coagulante produzido em *spray drier* para a produção no estado sólido.

#### 4.2.5 Ensaio de coagulação

O coagulante férrico produzido nos testes de biolixiviação foi concentrado em banho-maria até atingir a concentração de  $120\text{g.L}^{-1}$ , concentração ideal para o coagulante conforme a SABESP. O teste de coagulação foi realizado inicialmente em provetas, para buscar uma concentração ideal de coagulante. Após definidas algumas concentrações, foi testada a condição que apresentou melhor remoção de cor e turbidez para a realização de análises. O teste foi conduzido durante 1 minuto de agitação rápida em 120rpm e 5 minutos de agitação lenta de 30rpm seguindo o APHA, 2005. Após esta etapa de agitação para a homogeneização e formação dos coágulos e a etapa de sedimentação foi realizada durante 10 minutos.

Para a realização de testes de coagulação uma amostra de água bruta do Rio Guandu, Figura 43, foi coletada no ponto de adução da ETA Guandu (Estação de Tratamento de Água da Companhia Estadual de Águas e Esgotos do Rio de Janeiro). Para a realização dos testes a água foi homogeneizada antes de ser utilizada no teste de jarros. As amostras bruta e tratada foram caracterizadas conforme os parâmetros da Tabela 10 e comparadas com os parâmetros apresentados na Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde.

A concentração empregada no tratamento de água da adução da ETA Guandu foi de  $25\text{ mg.L}^{-1}$  de ferro, em pH 6,5, definida após testes preliminares de remoção de cor e turbidez realizados em provetas.

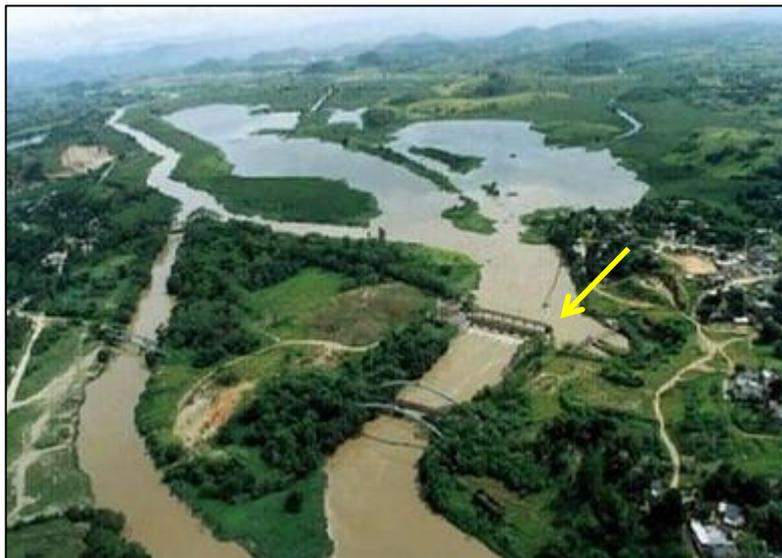


Figura 43. Rio Guandu, local de adução da água bruta para a ETA Guandu e local de coleta da água bruta para a realização do teste de jarros, Seropédica/RJ.

Este estudo foi realizado durante o período de doutorado sanduíche na Universidade Federal do Rio de Janeiro. A ETA Guandu é a maior estação de tratamento de águas do mundo em produção contínua conforme o *Guinness Book*.

Na Tabela 12 são apresentadas as análises realizadas na água tratada.

Tabela 12. Análises realizadas na água tratada.

<b>Parâmetro</b>	<b>Método</b>	<b>Equipamento</b>
<i>Aciditobacillus 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

### 4.3 Aumento de escala

Para a determinação do comportamento do processo de lixiviação deste trabalho foi utilizada a análise dimensional aplicando o Teorema Pi de Buckingham conforme descrito por White, 1999. Os parâmetros do processo de biolixiviação escolhidos para a análise dimensional são mostrados a seguir:

**Parâmetros relacionados à transferência de calor:** temperatura ( $T$ ), capacidade calorífica a pressão constante ( $c_p$ ), condutividade térmica ( $k$ ) e entalpia de reação ( $\Delta H_R$ );

**Parâmetros relacionados à reação química:** concentração de ferro na alimentação ( $[Fe]_{alim}$ ), concentração de ferro produzido ( $[Fe\ total]_{prod}$ ), concentração do inóculo ( $[bac]$ ), taxa de reação ( $r$ );

**Parâmetros relacionados ao escoamento da solução através da pilha:** massa específica ( $\rho$ ), viscosidade do fluido ( $\mu$ ), tempo de residência da solução na pilha ( $\tau$ ), diâmetro médio das partículas do rejeito ( $\bar{d}_p$ ), diâmetro da pilha ( $D$ ).

Desta forma, para a descrição do fenômeno da biolixiviação, seriam necessários 13 parâmetros. Nota-se que muitos destes parâmetros têm o mesmo valor nos experimentos das escalas de bancada e piloto, uma vez que propriedades como a temperatura, a solução e o rejeito sólido utilizado foram os mesmos em todos os experimentos. Desta forma, a comparação da eficiência do processo nas diferentes escalas reduz-se à comparação entre apenas alguns parâmetros que têm valores distintos nas escalas distintas (como o tamanho da pilha de rejeito).

Para a determinação da função de comportamento do processo e aumento de escala os parâmetros citados foram dispostos em grupos adimensionais.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização do rejeito de carvão

#### 5.1.1 Distribuição granulométrica

A distribuição granulométrica realizada com o rejeito de carvão pela técnica de peneiramento é mostrada na Figura 44.

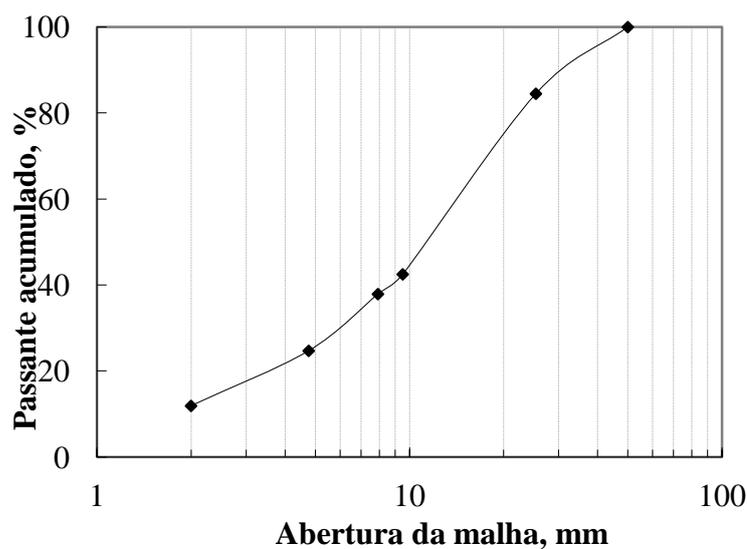


Figura 44. Distribuição granulométrica do rejeito de carvão.

Conforme é possível observar pelo gráfico da distribuição granulométrica, cerca de 45% da amostra possui granulometria abaixo de 8mm, seguida de 40% de granulometria de 10mm, ou seja, 80% da amostra possui granulometria abaixo de 10mm. Cerca de 15% do material encontra-se em uma granulometria abaixo de 25mm. A porcentagem de finos (abaixo de 2mm), cerca de 12%, deve ser administrada no reator evitando o entupimento de bombas e tubulações durante o processo de biolixiviação. Este problema pode ser amenizado com uma lavagem dos finos, ao iniciar a biolixiviação. O material de 25 mm pode necessitar maior tempo de exposição aos agentes lixiviantes para que ocorra a ruptura e consequente desmembramento do mineral; portanto, quanto maior for a granulometria do mineral mais demorado será o processo de biolixiviação. Conforme Garcia (1986), a quebra do material ocorre porque as bactérias formam fissuras nas partículas, pois os produtos que elas geram ao dissolver os metais realizam mudanças na fragilidade do material a ser lixiviado. A granulometria mais adequada para que as bactérias lixiviem rapidamente o mineral são partículas finas (abaixo de 2mm) devido ao aumento da superfície de contato. Em termos de

processo, porém, esta condição é inviável porque aumentaria a possibilidade de colmatação de leito em processos convencionais. Além desta questão, a diminuição da granulometria implicaria maiores gastos energéticos, representando maiores gastos econômicos que poderiam inviabilizar a implantação do sistema de aproveitamento do rejeito. Dessa forma, existe a necessidade de encontrar uma situação intermediária onde o processo encontre viabilidade técnica e econômica. Menezes (2010) testou diferentes granulometrias de rejeito de carvão expostas ao processo de lixiviação. Para os testes de bancada, este autor comprovou que os melhores resultados foram alcançados com granulometria compreendida entre 2 e 6mm.

### 5.1.2 Análise imediata e enxofre

Os resultados da caracterização do rejeito de carvão referentes à análise imediata e enxofre são mostrados na Tabela 13. A partir dos resultados obtidos observa-se que o material apresenta 37,3% de enxofre total, sendo que 36,4% são de enxofre pirítico e 0,9% enxofre sulfático. Assim, o teor de pirita na amostra foi calculado em aproximadamente 70%.

Tabela 13. Análise imediata e de enxofre do rejeito de carvão.

<b>Parâmetro</b>	<b>Rejeito de carvão, %</b>
Carbono fixo	13,7
Cinzas	59,9
Materiais voláteis	22,7
Umidade higroscópica	3,7
Enxofre sulfático	0,9
Enxofre pirítico	36,4
Enxofre orgânico	ND
<b>Enxofre total</b>	<b>37,3</b>

ND=Não detectado.

### 5.1.3 Fluorescência de raio-x

Na análise de fluorescência de raio-x, mostrada na Figura 45, identificaram-se além de Fe e S, elementos como Al, Si e K. É importante verificar que não foram detectados em nenhuma das análises o elemento Hg, As ou outros metais tóxicos que poderiam comprometer a viabilidade da geração de produtos a partir do rejeito.

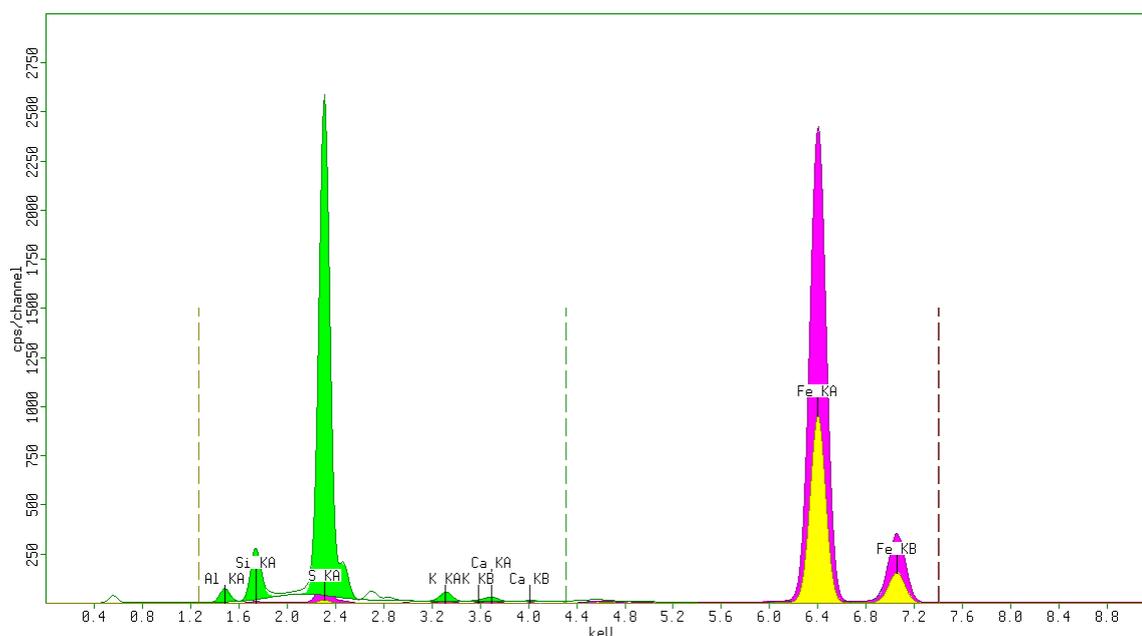


Figura 45. Fluorescência de raio-x do rejeito de carvão.

A Tabela 14 apresenta uma avaliação semi-quantitativa de análise do rejeito através de fluorescência de raio-x. O Fe (49%) e o S (37,5%) são apresentados como principais elementos o que já foi citado anteriormente. Além destas porcentagens aparecem em menores quantidades o alumínio (4%), a sílica (7,9%), o potássio (1%) e o cálcio com 0,5%. Cabe ressaltar que esta análise é semi-quantitativa.

Tabela 14. Análise semi-quantitativa por fluorescência de raio-x.

<b>Elementos</b>	<b>Porcentagem, %</b>
Alumínio	4,0
Silício	7,9
Enxofre	37,5
Potássio	1,0
Cálcio	0,5
Ferro	49

#### 5.1.4 Análise elementar

Os resultados da análise elementar por absorção atômica do rejeito são mostrados na Tabela 15. Conforme os resultados, os principais metais presentes na amostra são silício ( $0,13\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) alumínio ( $17\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) e ferro ( $0,3\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Os demais metais não correspondem a uma concentração que possa comprometer a aplicação do processo de biolixiviação ou a qualidade dos produtos pretendidos a partir do rejeito.

Tabela 15. Análise elementar do rejeito de carvão.

<b>Elemento, (<math>\text{mg g}^{-1}</math>)</b>	<b>Rejeito de carvão</b>
Al	17
As	0,26
Ba	-
Ca	3,6
Cd	0,0057
Co	0,0181
Cr	0,0445
Cu	0,0753
Fe	300
Hg	0,000094
K	3,7
Mg	0,3
Mn	0,0559

Na	0,6
Ni	0,0404
P	0,17
Pb	0,2
Se	-
Si	130
Sn	-
Zn	0,16

### 5.1.5 Difração de raio-x

Conforme resultados obtidos nas análises imediata e de enxofre pode-se verificar que o composto cristalino majoritário, a pirita, está presente na caracterização apresentada na difração de raios-x conforme a Figura 46. De acordo com o difratograma também percebemos que aparecem picos referentes a outros minerais como o quartzo ( $\text{SiO}_2$ ), caulinita ( $\text{Si}_2\text{Al}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ) e mica (filossilicatos).

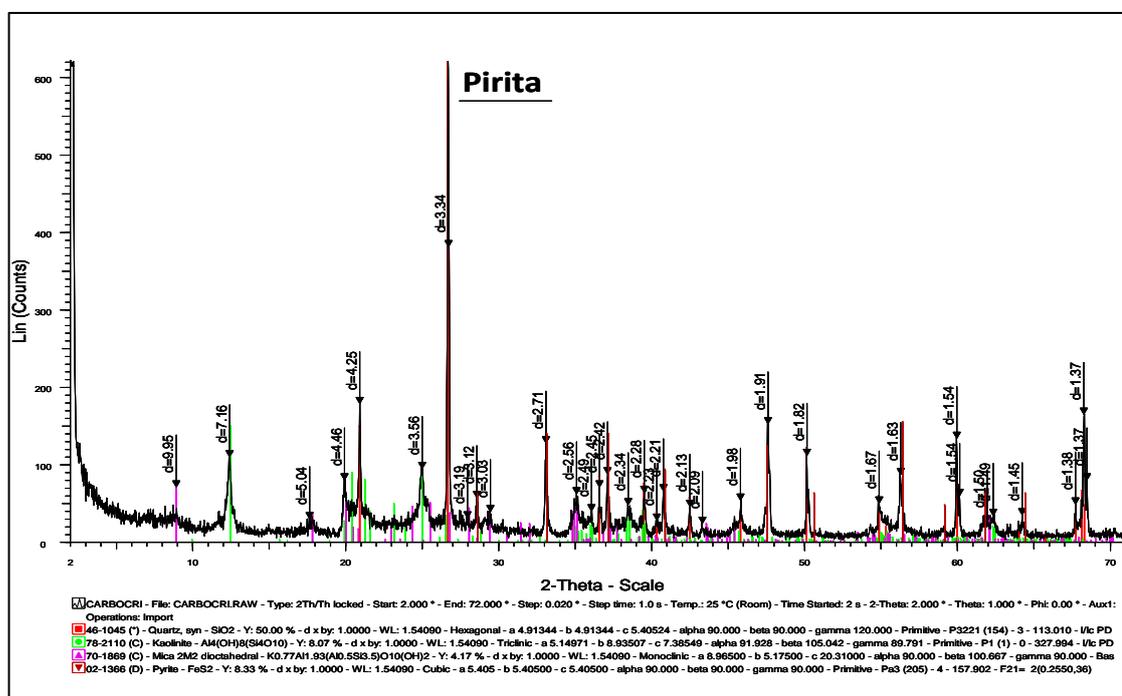


Figura 46. Análise de difração de raio-x do rejeito de carvão.

### 5.1.6 MEV-EDS

Utilizando a técnica de MEV foram obtidas foto-micrografias do rejeito. A Figura 47 mostra a superfície do rejeito com a composição principalmente de cristais de pirita e outras fases intercaladas de carvão e evidências de algumas bactérias.

As bordas e contornos irregulares da amostra podem ter sido agravados pelo intemperismo, uma vez que o material ficou exposto a agentes atmosféricos nas pilhas de rejeito por período prolongado. Esta pode representar uma boa condição de aderência à superfície do mineral pela bactéria. No processo de biolixiviação, as bactérias quimiolitotróficas têm maior facilidade em adaptarem-se às irregularidades superficiais do minério, utilizando a substância EPS (material exopolimérico). Acesso a trincas e regiões oxidadas são importantes para o processo de biolixiviação, desde que não ocorra a formação de uma camada de passivação na superfície do material.

Outras aplicações industriais do rejeito podem ficar comprometidas de acordo com os resultados obtidos a partir desta análise, porque o desgaste do material poderia comprometer outros processos de beneficiamento mineral.

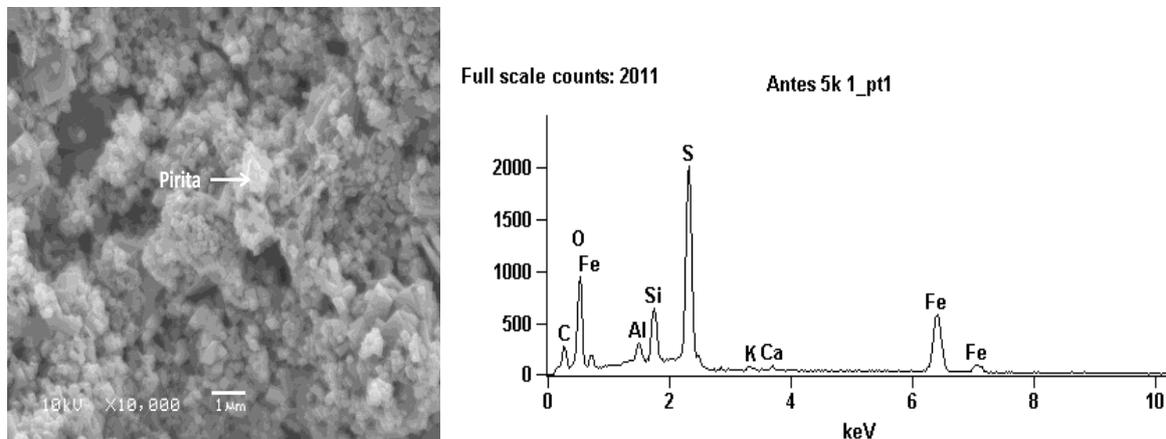


Figura 47. Imagem obtida em MEV de um grão de rejeito de carvão antes dos ensaios de lixiviação. O comprimento da barra (escala) é equivalente a 1  $\mu\text{m}$  e a magnificação é de 10 000X.

Resultados da composição química, por EDS, mostrados na Figura 47, indicam a presença de componentes como Fe e S conforme os resultados discutidos anteriormente na análise elementar, fluorescência de raio-x, difração de raio-x, o que era de se esperar.

Cabe ressaltar que o EDS é uma análise eficaz para a determinação de elementos químicos de forma direta e objetiva nas diferentes camadas do material, durante a varredura da superfície do material na microscopia.

## 5.2 Água de circulação

Uma das águas de circulação utilizada nos testes de bancada foi a água do Departamento de Águas e Esgoto de Porto Alegre (DMAE), chamada de água natural onde os resultados de caracterização são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16. Características da água de circulação utilizada nos ensaios de colunas.

Parâmetros	Água
pH	6,5
Cor, (Hazen)	2
Turbidez, (NTU)	0,6
Ferro total, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND
Alumínio, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND
Cálcio, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND
Manganês, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND
Cloro residual livre, (mg.L <sup>-1</sup> )	0,3
Sulfato, (mg.L <sup>-1</sup> )	0,2
Número de bactérias <i>A. ferrooxidans</i> , NMP:100 mL	ND*

ND=Não detectado em equipamento de Absorção atômica chama, limite de detecção 0,2mg.L<sup>-1</sup>.

ND\*=Não detectado em análise do NMP:100mL de *A. ferrooxidans*.

Também foi utilizada a água EDR4, drenagem ácida de minas que confere diluição devido à ocorrência de chuvas. As características da água de circulação EDR4 utilizada nos ensaios na escala bancada, piloto e industrial são apresentadas na Tabela 17. Na Figura 48, são apresentados os resultados de acidez da água EDR4 do ano de 2009 até 2011.

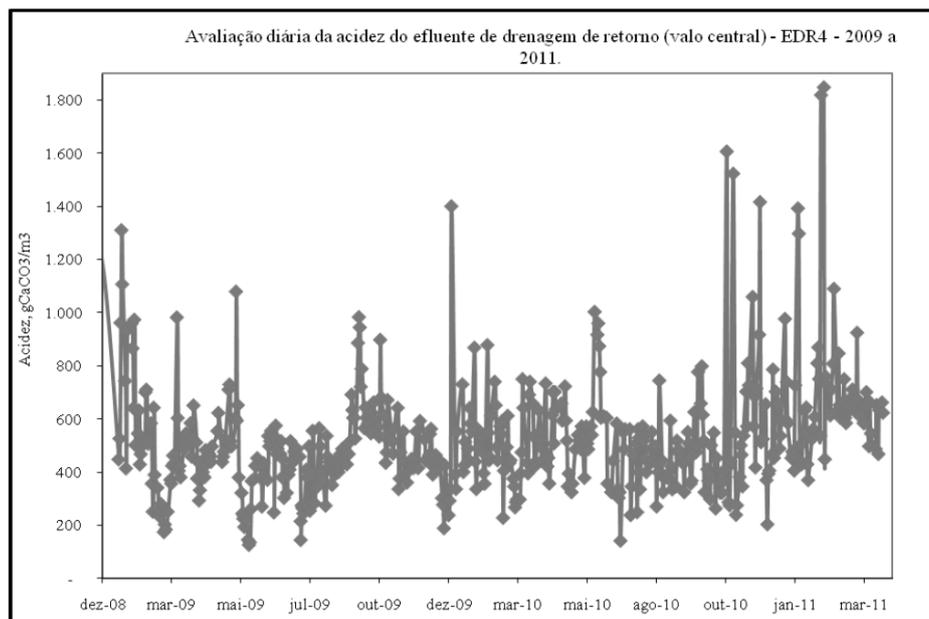


Figura 48. Comportamento anual da acidez da EDR4. Fonte: Cortesia Carbonífera Cricúma S.A.

Conforme os dados do gráfico obtidos com a Carbonífera Cricúma S.A, a média de acidez do efluente EDR4 é de aproximadamente 600g de  $\text{CaCO}_3/\text{m}^3$ .

Tabela 17. Características da água de circulação, EDR4, utilizada nos ensaios piloto e industrial.

Parâmetros	EDR4
pH	2,9
Ferro total, ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	110,5
Alumínio, ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	28,49
Cálcio, ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	290
Manganês, ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	7,6
Cloreto, ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	378
Sulfato, ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	185
Número de bactérias <i>A. ferrooxidans</i> , NMP:100 mL	$10^2$

A água de circulação EDR4 apresenta baixo pH e o número de bactérias *A. ferrooxidans* está na ordem de  $10^2$  bactérias. A utilização desta água como água de circulação apresenta duas vantagens: iniciar o processo com pH ideal para as bactérias acidofílicas e o aproveitamento da água da chuva do pátio industrial. Esta condição representa uma medida econômico-ambiental importante.

### **5.3 Inóculo**

A escolha da drenagem ácida do módulo B como fonte de inóculo do processo de biolixiviação foi realizada a partir do resultado de análises realizadas com quatro águas ácidas obtidas do pátio industrial da Carbonífera Criciúma S.A. Na Tabela 18 são mostradas as análises realizadas nas quatro águas.

Tabela 18. Caracterização de águas ácidas.

<b>Parâmetro</b>	<b>EDR4</b>	<b>Lixívia</b>	<b>Módulo A</b>	<b>Módulo B</b>
pH	2,8	2,9	2,6	2,5
Condutividade (mS.cm <sup>2</sup> )	4,3	10	7,1	8,1
NMP:100mL	102	54x10 <sup>5</sup>	170	54x10 <sup>4</sup>
Li, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	ND
Na, (mg.L <sup>-1</sup> )	342,3	414	453,7	385,3
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	2406	ND
K, (mg.L <sup>-1</sup> )	47,9	143	1241,4	105,9
Mg, (mg.L <sup>-1</sup> )	88,8	199	138	155
Ca, (mg.L <sup>-1</sup> )	293	232,3	310,5	258
Fl <sup>-</sup> , (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	ND
NO <sub>2</sub> <sup>+</sup> , (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	ND
Br, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	ND
Fosfato, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	ND
Cl <sup>-</sup> , (mg.L <sup>-1</sup> )	378,1	293,6	310	283,6
NO <sub>3</sub> <sup>+</sup> , (mg.L <sup>-1</sup> )	190	347,6	ND	ND
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , (mg.L <sup>-1</sup> )	1850	6300	17337	7862
Fe, (mg.L <sup>-1</sup> )	110,5	2822	1473	2088
Cu, (mg.L <sup>-1</sup> )	0,01	0,01	ND	0,02
Al, (mg.L <sup>-1</sup> )	28,5	216,9	119,2	179
Mn, (mg.L <sup>-1</sup> )	33,3	50,4	23,2	33,3

A partir destes resultados, foi determinado que a água do módulo B apresentava as melhores características para utilização como inóculo do processo. Entre os parâmetros observados, um deles é referente à concentração de bactérias e menor índice de contaminantes. A EDR4 é uma drenagem ácida bastante diluída para ser utilizada como inóculo. A drenagem do módulo A apresenta contaminação do tratamento de esgoto. A drenagem chamada de lixívia, embora tenha apresentado contagem de bactérias semelhante à água do módulo B, apresentava muitos íons ferrosos. Esta característica pode interferir no tempo do processo, uma vez que as bactérias têm preferência por íons em solução ao mineral (Ballester, 2012). A ideia é que as bactérias

aeróbias atuam preferencialmente removendo ferro da pirita. As características da drenagem fonte do inóculo de bactérias são apresentadas na Tabela 19.

Tabela 19. Características da DAM utilizada como inóculo.

<b>Parâmetro</b>	<b>DAM bruta</b>
pH	2,5
Ferro total, (mg.L <sup>-1</sup> )	2084
Alumínio, (mg.L <sup>-1</sup> )	179
Cálcio, (mg.L <sup>-1</sup> )	258
Manganês, (mg.L <sup>-1</sup> )	33,3
Cloreto, (mg.L <sup>-1</sup> )	59
Sulfato, (g.L <sup>-1</sup> )	7862
Número de bactérias <i>A. ferrooxidans</i> , NMP:100 mL	54 x10 <sup>4</sup>

Na Figura 49 é mostrada a imagem do local de coleta da drenagem ácida que foi utilizada como fonte de inóculo.



Figura 49 - Local da coleta do inóculo. Fonte: Colling, (2012).

O volume de inóculo, utilizado nos ensaios, foi calculado em 10% do volume do reator. A fonte de inóculo, o efluente do módulo B, apresentou 54x10<sup>4</sup> bactérias para

100mL de drenagem. A amostra foi preparada em laboratório, sendo previamente filtrada para remoção de sólidos suspensos e precipitados.

#### 5.4 Diversidade de micro-organismos acidofílicos

Os resultados dos testes microbiológicos são apresentados para as amostras da DAM do módulo B (fonte do inóculo), líquido lixiviado nas colunas em nível bancada e no reator de biolixiviação.

##### 5.4.1 Testes seletivos

Os resultados dos testes microbiológicos qualitativos realizados com os meios de cultura específicos (APHA, 2005) estão apresentados na Tabela 20.

Tabela 20. Análise microbiológica utilizando meios de cultura seletivos.

<b>Micro-organismo</b>	<b>Módulo B</b>	<b>Bancada</b>	<b>Planta Piloto</b>
<i>A. ferrooxidans</i>	Positivo	Positivo	Positivo
<i>A. thiooxidans</i>	Negativo	Negativo	Negativo
<i>A. organoparus</i> ( <i>A. acidophilus</i> )	Negativo	Negativo	Negativo
<i>L. ferrooxidans</i>	Positivo	Positivo	Positivo
<i>Sulfolobus spp.</i>	Negativo	Negativo	Negativo
<i>Acidianus spp.</i>	Negativo	Negativo	Negativo
<i>Acidiphilium spp.</i>	Negativo	Negativo	Negativo

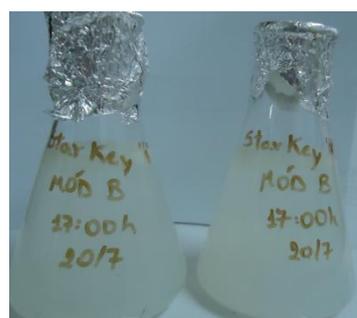
A coloração do meio de cultura para *A. ferrooxidans* assumiu inicialmente esverdeada e, após passados 3 dias, a coloração ficou alaranjada devido à oxidação do meio. Em 7 dias, já apresentava sedimentos no fundo do frasco e nas paredes do Erlenmeyer. *L. ferrooxidans* apresentou, inicialmente, aspecto verde e depois havia sedimentos de cor laranja no fundo e nas paredes do Erlenmeyer.

As bactérias identificadas nestes experimentos foram *A. ferrooxidans* e o *L. ferrooxidans*. Estes resultados diferem dos ensaios realizados por Colling (2010) em relação à presença de *L. ferrooxidans*. Naquela ocasião, a autora identificou somente a presença de *A. ferrooxidans* em amostras oriundas da região carbonífera de Criciúma. Este fato pode estar associado a diferentes condições ambientais e à diferença na escolha dos pontos de coleta. Os demais meios permaneceram transparentes ou brancos com ou sem sedimentos, estes exclusivos dos reagentes do próprio meio.

Os meios seletivos escolhidos para a análise microbiológica são os mais descritos na literatura para organismos quimilitotróficos. A principal intenção desta investigação microbiológica foi a de verificar a possibilidade de competição entre diferentes micro-organismos por nutrientes no reator de lixiviação e por meio de uma análise mais rápida que a análise molecular. A Figura 50 mostra a coloração dos meios de cultura antes e após o período de incubação em diferentes condições de reagentes e temperatura.



Meio para *A. ferrooxidans*:  
Resultado positivo



Meio para *A. thiooxidans*:  
Resultado negativo



Meio para *L. ferrooxidans*:  
Resultado positivo



Meio para *Acidiphilium* spp.:  
Resultado negativo

Figura 50. Cultivo de bactérias em diferentes meios seletivos.

Na Figura 50 é possível verificar a oxidação dos meios de cultura referentes à *A. ferrooxidans* e *L. ferrooxidans*. Já nos meios “Starkey” e “meio para *Acidiphillium*” nenhuma alteração no meio foi detectada considerando-se o resultado como negativo para estes micro-organismos.

#### 5.4.2 Identificação das bactérias por MEV

Após o processo de biolixiviação foi realizada a análise do rejeito de carvão utilizando MEV, Figura 51. É importante considerar que nos experimentos de biolixiviação realizados são quantificadas pela técnica do NMP apenas as bactérias presentes em solução. É possível, porém, observar que existe uma quantidade considerável e irregular de bactérias distribuídas na superfície das partículas minerais difíceis de numerar. As bactérias observadas nesta análise apresentam forma de bacilo com tamanho médio entre 0,8 e 1,5  $\mu\text{m}$ . Conforme descreve Brandl (2001), as bactérias acidofílicas preferem concentrar-se em áreas de superfícies irregulares para realizarem a interação microbiológica. Também apresentam maior quantidade de bactérias nas regiões onde há a presença de pirita.

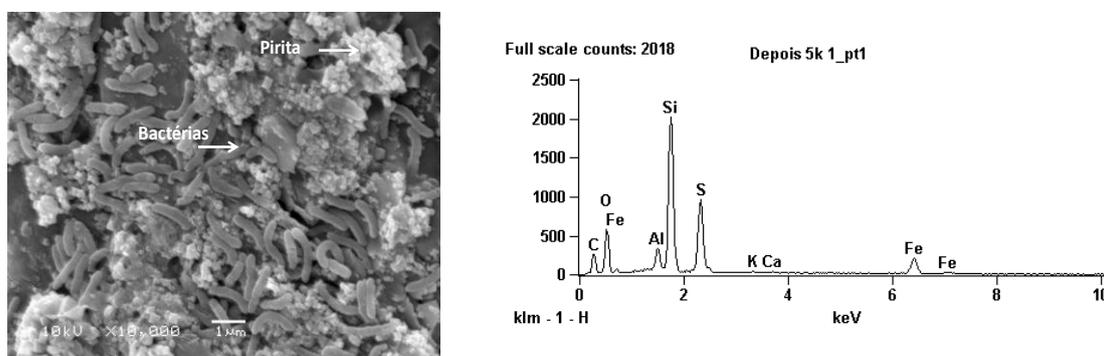


Figura 51. Imagem obtida em MEV de diferentes áreas de um grão de rejeito de carvão de lixiviação com inóculo e micronutrientes mostrando a presença de bactérias acidofílicas. O comprimento da barra (escala) é equivalente a 1  $\mu\text{m}$ .

#### 5.4.3 Formação de colônias

A Figura 52 apresenta a formação de colônias de organismos acidofílicos. O resultado do meio sólido, após uma semana de crescimento, demonstrou grande quantidade de bactérias acidofílicas consumindo o meio. Após 10 dias de incubação, a

32,5°C foi possível observar um aumento significativo de colônias nas placas. A sequência das placas são as seguintes: Figura (a): DAM; Figura (b) inóculo; Figura (c): Lixiviado colunas; Figura (d): lixiviado da planta piloto.

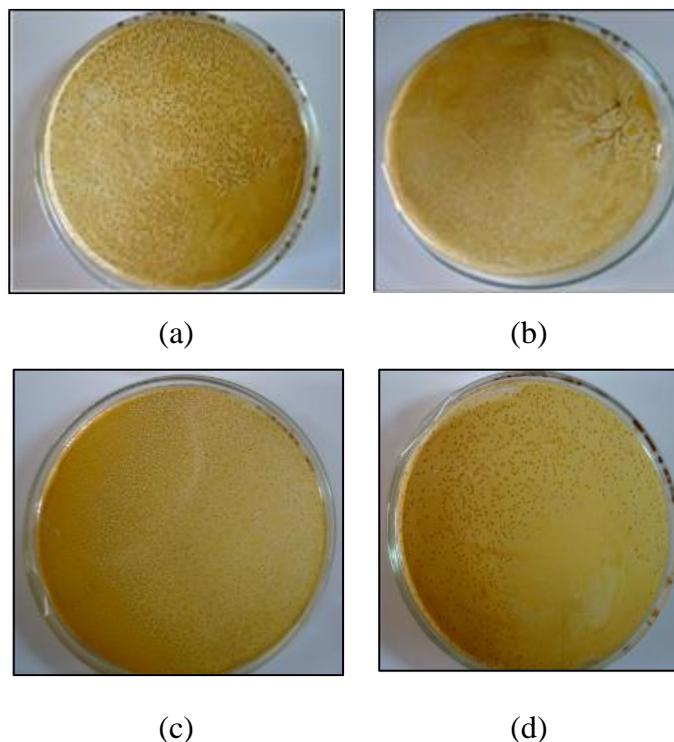


Figura 52. Colônias formadas a partir de amostras do processo de biolixiviação.

Na amostra do inóculo, apareceram na placa, além das colônias arredondadas características das bactérias *A. ferrooxidans*, um organismo com o comportamento em placa semelhante a um fungo. Depois de algum tempo, este mesmo organismo apareceu nas demais placas.

#### 5.4.4 Diversidade de micro-organismos acidofílicos por DGGE

O procedimento de análise molecular da presença de micro-organismos acidofílicos do processo de biolixiviação foi realizado, utilizando a técnica de DGGE. Os principais motivos para a escolha desta técnica deveram-se à retirada da amostra do ambiente natural.

Inicialmente, a baixa concentração de micro-organismos acabou por não identificar nenhuma banda na eletroforese conforme a Figura 54. Desta forma, foi necessário realizar etapa prévia da extração para a concentração de micro-organismos.

A filtração das amostras foi com 30L de amostra e em filtro de 0,2 $\mu$ m. Após esta filtração, foi realizada nova etapa de extração do DNA.

A eletroforese em gel para a separação das bandas dos micro-organismos é apresentada na Figura 53. No DGGE, cada banda corresponde a um micro-organismo que foi sequenciado. O sequenciamento apresentou duas bandas no gel de eletroforese.

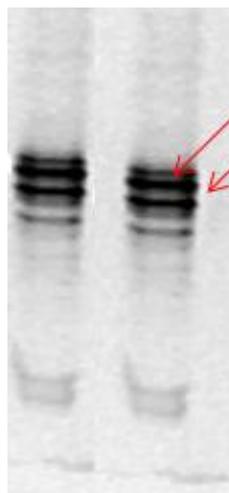


Figura 53. Gel de eletroforese apresentando bandas de micro-organismos.

Os resultados do sequenciamento da primeira banda demonstraram similaridade com *A. ferrooxidans* com 99% de similaridade.

Os resultados do sequenciamento da primeira banda demonstraram similaridade de com *L. ferrooxidans* com 80% de similaridade.

### 5.5 Ensaio de biolixiviação

Os ensaios de biolixiviação foram realizados nas escalas de bancada, piloto e industrial. Os testes de bancada visam a oferecer os melhores parâmetros para que possam ser testados na escala piloto e industrial. A inviabilidade da realização de diversas condições de ensaios nas escala piloto e industrial constitui a principal motivação para a utilização de nível bancada de pesquisa. Neste trabalho, em especial, a massa utilizada em bancada foi de 1kg, em nível piloto 200kg e industrial 5000kg. Diante deste cenário, é previsível concluir que a variação de condições torna-se menos onerosa e mais otimizada realizando os estudos preliminares na escala de bancada.

Conforme Garcia et al. (2001), a maneira mais simples, econômica e rápida de se avaliar a aplicação da biolixiviação em determinado minério é a realização de testes em escala de bancada. Conforme o mesmo autor, basicamente, dois testes indicam o potencial da amostra e se a ampliação de escala deverá prosseguir: a lixiviação agitada em frascos e a lixiviação estática por percolação em colunas.

Para os testes com a utilização do rejeito de carvão da região carbonífera de Criciúma, Colling, em 2010, realizou estudo de bancada em colunas de biolixiviação nas condições estéril, natural, natural com micro-organismos acidofílicos e natural com micro-organismos acidofílicos e nutrientes. O resultado obtido demonstrou a possibilidade de obter uma extração de ferro quatro vezes superior na condição natural das colunas com adição de micro-organismos acidofílicos e nutrientes. Naquela ocasião, a autora também comprovou a eficácia da utilização do concentrado férrico como coagulante para o tratamento de águas e efluentes, conforme pesquisa anteriormente desenvolvida por Menezes (2009). Este mesmo autor havia testado anteriormente parâmetros como a granulometria para o processo e equipamentos resistentes à corrosão para a recirculação de água ácida.

### **5.5.1 Bancada**

Na Figura 54 é mostrada a comparação do comportamento de variação do pH nas colunas controle, sintética e ureia com a água natural. Na Figura 55 é mostrada a comparação do comportamento do pH nas colunas controle, sintética e ureia utilizando a água EDR4.

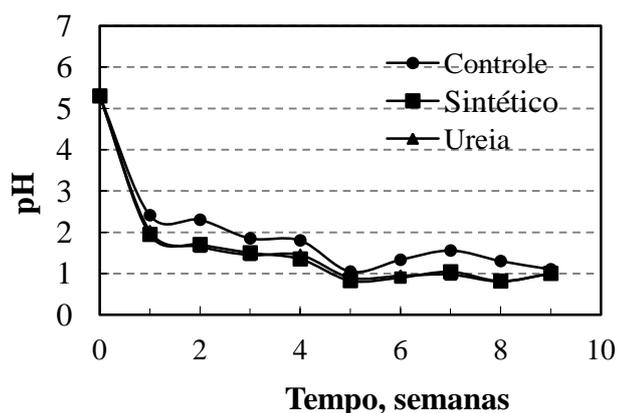


Figura 54. Comportamento do pH nas três colunas onde foi utilizada a água natural.

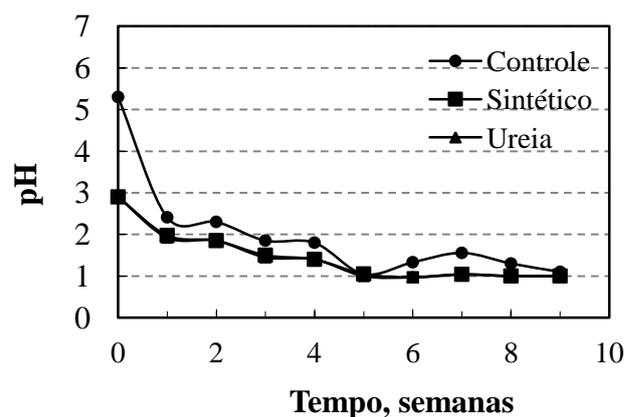


Figura 55. Comportamento do pH nas três colunas onde foi utilizada a EDR4.

Em todos os casos foi observado que o pH diminuiu com o passar do tempo. A redução do pH foi acentuada nas 2 semanas iniciais utilizando tanto a água natural quando a EDR4. Os valores iniciais passaram de 5,3 para menores ou iguais a 2,0 com água natural e com EDR4 o processo iniciou-se com pH próximo de 3,0 para menores que 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). A coluna na condição estéril também apresentou o mesmo comportamento de diminuição de pH, indicando que o ambiente químico é o responsável direto pela diminuição do pH, e não a ação das bactérias. Isto sugere que o ambiente adequado para o desenvolvimento das bactérias acidofílicas será compreendido após a primeira semana de processo.

Nas Figuras 56, 57 são apresentados o potencial de oxi-redução, nas Figuras 58, 59 são apresentados os resultados de ferro total e nas Figuras 60, 61 são apresentados os resultados de ferro na forma de íon férrico e ferroso.

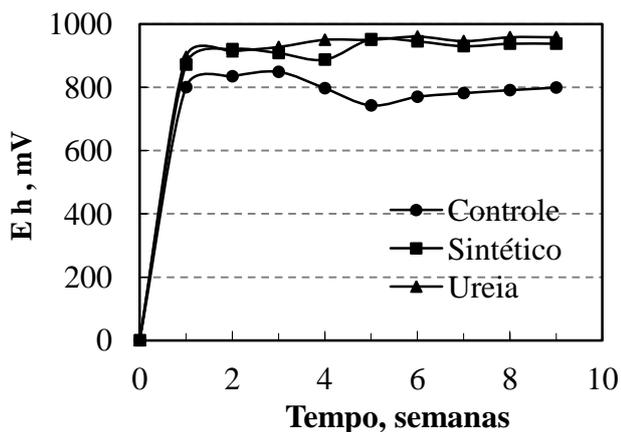


Figura 56. Comportamento de Eh nas 3 colunas com água natural.

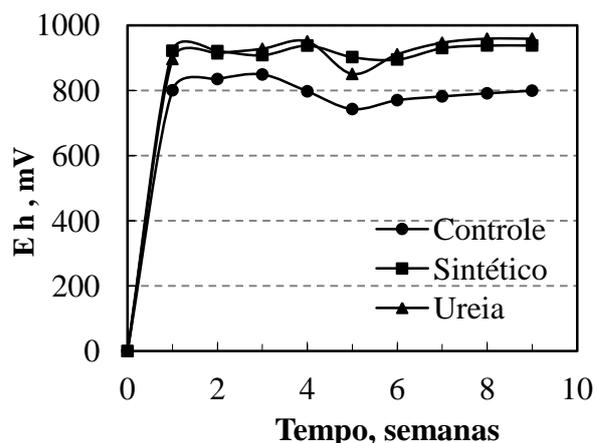


Figura 57. Comportamento de Eh nas 3 colunas com água EDR4.

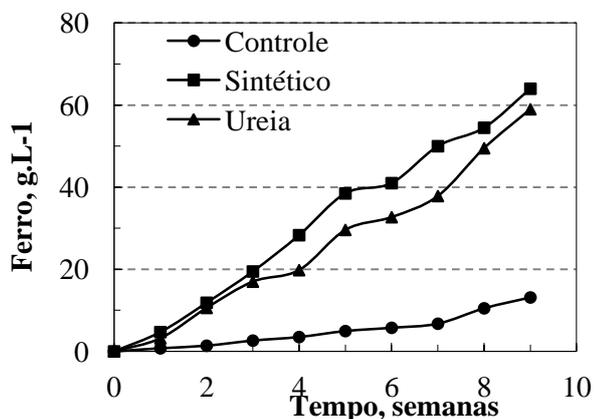


Figura 58. Comportamento do ferro total, g.L<sup>-1</sup>, nas 3 colunas com água natural.

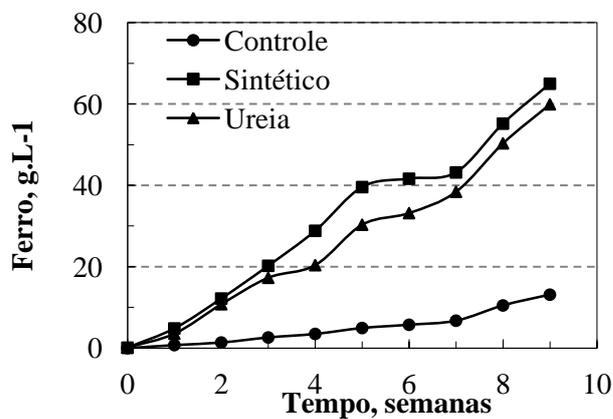


Figura 59. Comportamento do ferro total, g.L<sup>-1</sup>, nas 3 colunas com água EDR4.

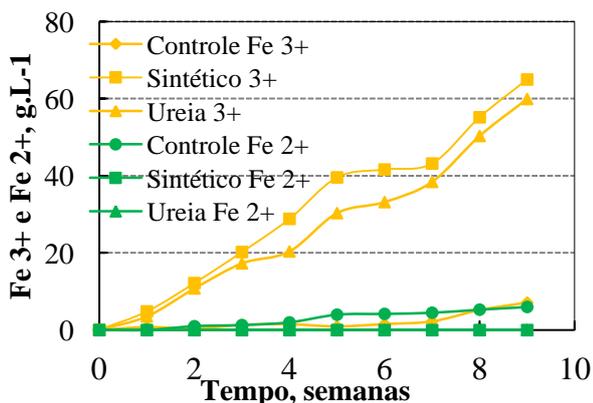


Figura 60. Comportamento do Fe<sup>3+</sup> e Fe<sup>2+</sup>, g.L<sup>-1</sup>, nas 3 colunas com água natural.

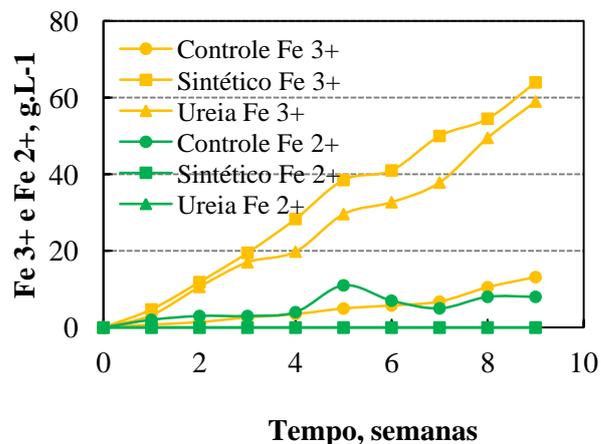


Figura 61. Comportamento do Fe<sup>3+</sup> e Fe<sup>2+</sup>, g.L<sup>-1</sup>, nas 3 colunas com água EDR4.

Nas Figuras 56 e 57 é possível observar um valor de Eh maior nas colunas que continham nutrientes tanto na utilização da água natural como da EDR4. De qualquer maneira, em todas as colunas foi observado um aumento no valor do potencial de oxidação-redução atingindo a faixa de 800 e 1000mV para aquelas que continham nutrientes e até 800mV para a situação controle. Esta condição pode estar relacionada com a presença de bactérias no ensaio. A presença de bactérias em condição aeróbia aumenta a quantidade de íons férricos o que implica o aumento da razão  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$ , correspondendo a um maior potencial de oxidação-redução e alta presença de  $O_2$ .

Assim como o pH, não houve diferença significativa entre o potencial de oxidação-redução das colunas com nutriente sintético e nutriente ureia. A utilização de diferentes águas de processo também não foi determinante para uma diferença significativa nos valores do Eh.

As Figuras 58 e 59 mostram a comparação do comportamento de extração do ferro total nas três colunas de biolixiviação, utilizando a água natural e EDR4. Nas duas Figuras é possível verificar que ocorre maior extração de ferro, quando são utilizados os nutrientes e também quando há a inoculação de bactérias. Assim, pode-se propor que a utilização de micro-organismos foi de extrema importância para acelerar o processo. Ocorreu maior extração de ferro total utilizando o nutriente sintético com a água de circulação EDR4. Os valores de extração de ferro total na coluna nutriente sintético com água natural foi cerca de  $64g.L^{-1}$  e na coluna com água EDR4 foi cerca de  $65g.L^{-1}$ . Portanto, o aumento em relação à coluna contendo o nutriente ureia foi de cerca de  $4g.L^{-1}$ . O resultado referente à extração de ferro da coluna de biolixiviação estéril foi de aproximadamente  $13,2g.L^{-1}$ , resultado que pode ser considerado como ataque químico da pirita.

Nas Figuras 60 e 61 são mostrados os resultados do comportamento de íons  $Fe^{3+}$  e  $Fe^{2+}$ . Pode-se perceber que a relação  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  na coluna controle, foi de praticamente 50%. Já a mesma relação  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  nas colunas onde há a presença de nutrientes e bactérias foi inferior, uma vez que o predomínio de ferro na solução foi de íons férricos.

As Figuras 62 e 63 mostram o comportamento da cor nas 3 colunas de lixiviação. Ocorreu um aumento do valor de cor nas duas colunas onde havia a presença de nutrientes e bactérias. O comportamento da cor na coluna controle foi baixo em relação às demais colunas.

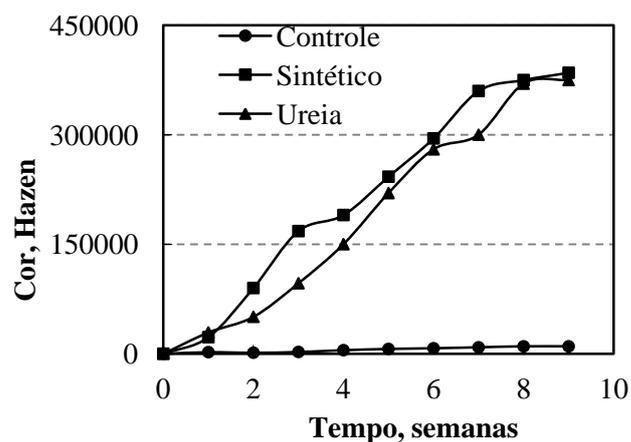
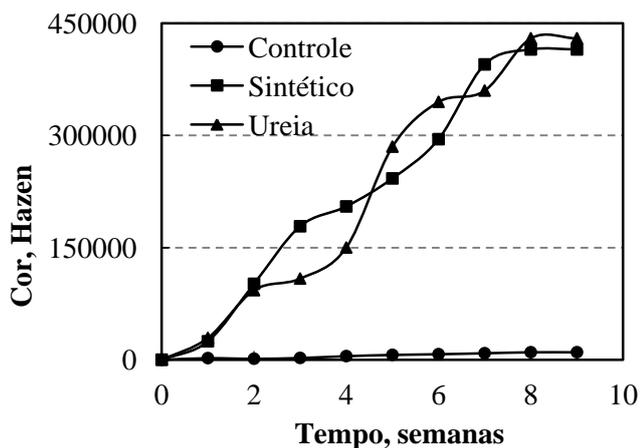


Figura 62. Comportamento da cor nas três colunas com água natural. Figura 63. Comportamento da cor nas três colunas com EDR4.

Comparando os resultados das análises de extração de ferro com a cor é possível verificar uma semelhança no comportamento de ambos. O mesmo ocorre com a coluna controle que apresentou valores de ferro e cor menores. O comportamento da cor comparado com os resultados de ferro total nas colunas controle, sintético e ureia com água natural estão mostrados na Figura 64. O comportamento da cor comparado com os resultados de ferro total nas colunas controle, sintético e ureia com EDR4 estão mostrados na Figura 65.

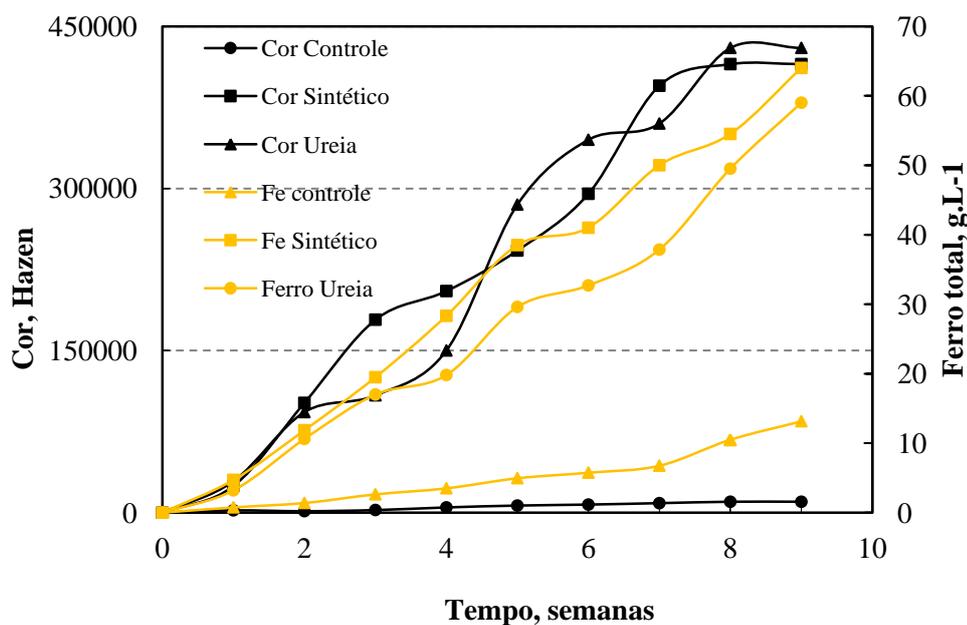


Figura 64. Comparação do comportamento da cor e ferro total nas três condições bancada com água natural.

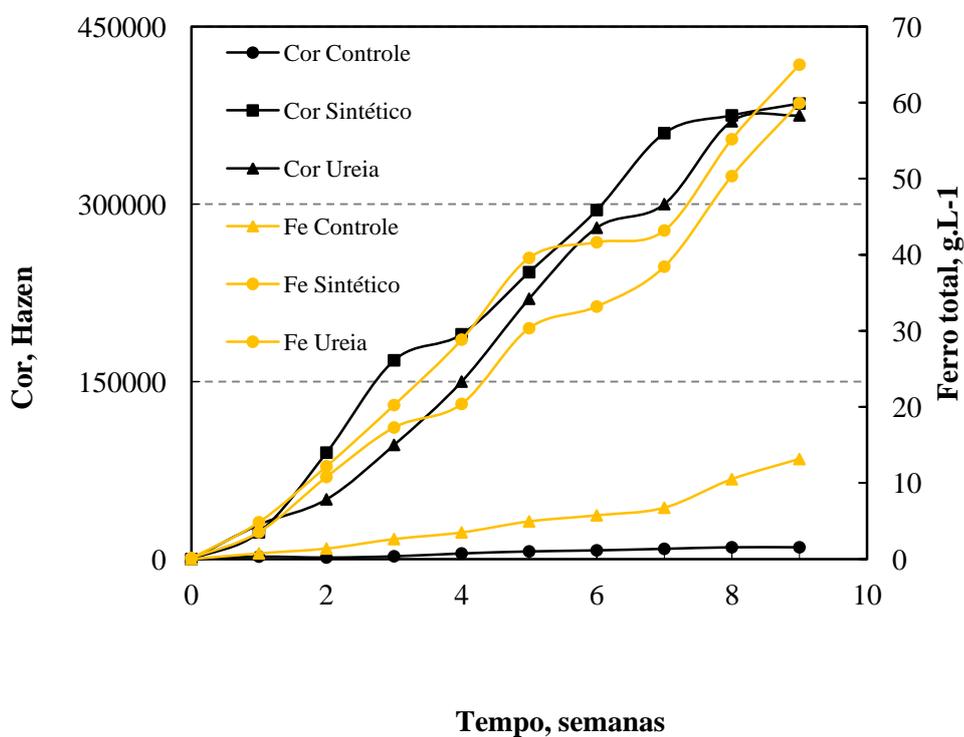


Figura 65. Comparação do comportamento da cor e ferro total nas três condições bancada com EDR4.

O aspecto visual das lixívias ao final da quarta semana de lixiviação, Figura 66, mostra a coloração amarelo/alaranjada que, em geral, é associada ao íon férrico. Já na coluna controle, na quarta semana a cor permaneceu inalterada, porém, foi detectada a presença de íons em menor quantidade. Conforme as Figuras 60 e 61 que mostraram o comportamento dos íons  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$  a cor alaranjada pode representar a presença majoritária dos íons férricos



Figura 66. Lixívia obtida na quarta semana de biolixiviação em colunas. Na esquerda, a lixívia da coluna controle e à direita a lixívia da coluna com bactérias e nutrientes sintéticos.

Os resultados mostraram que as colunas com nutrientes, tanto com reagente sintético quanto com o uso da ureia, apresentam um resultado satisfatório e semelhante na extração de ferro em relação à condição controle. O nutriente ureia é uma opção mais econômica para o uso industrial de nutrientes, porém, tem o inconveniente de gerar odor no processo. Em instalações industriais de grande porte, este fator pode não ser interessante.

As Figuras 67 e 68 mostram o comportamento do sulfato nas 3 colunas de lixiviação.

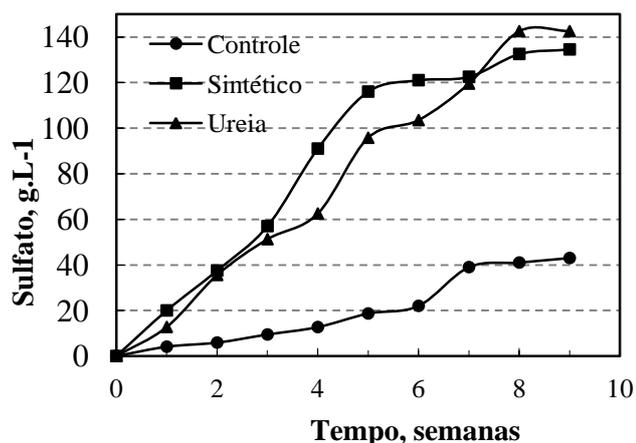


Figura 67. Comportamento do sulfato nas 3 colunas com ureia e água natural.

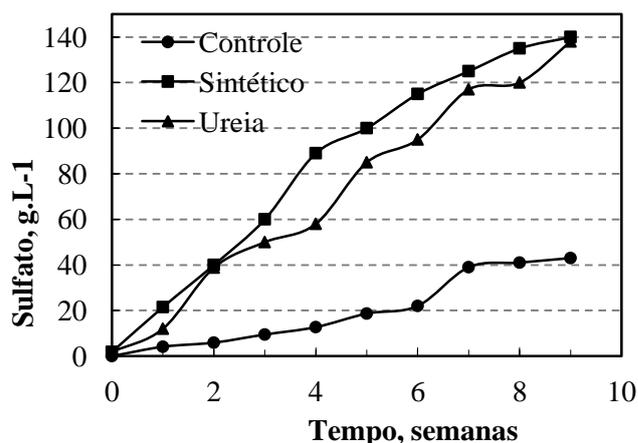


Figura 68. Comportamento nas 3 colunas com ureia e EDR4.

Na avaliação do comportamento de sulfato pode-se perceber que na coluna controle os resultados chegaram até  $43 \text{ g.L}^{-1}$ . Já nas colunas com nutrientes estes valores chegaram à faixa de 135 até  $143 \text{ g.L}^{-1}$ .

O comportamento das bactérias *A. ferrooxidans* durante os ensaios de biolixiviação em colunas são apresentados nas Figuras 69 e 70. A coluna controle não apresentou bactérias durante as análises.

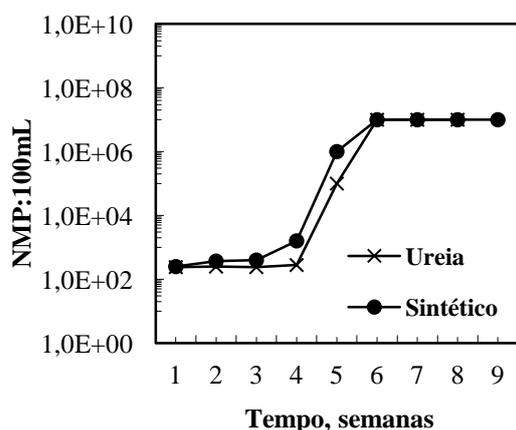


Figura 69. NMP:100mL de *A. ferrooxidans* em suspensão em função das semanas do experimento de lixiviação com água natural.

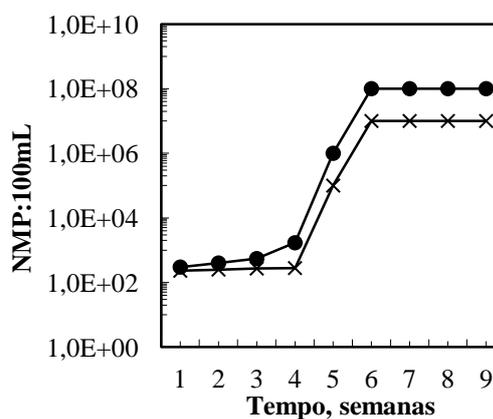


Figura 70. NMP:100mL de *A. ferrooxidans* em suspensão em função das semanas do experimento de lixiviação com EDR4

A quantidade de bactérias *A. ferrooxidans* foi muito semelhante nas colunas onde estavam presentes os nutrientes. Tanto a ureia quanto o nutriente sintético foram nutrientes satisfatórios para o desenvolvimento das bactérias. Houve uma leve vantagem na contagem de bactérias na coluna utilizando nutriente sintético e água de lixiviação EDR4. Os valores atingidos foram cerca de  $10^8$  bactérias *A. ferrooxidans*:100mL.

A oxidação da pirita, com a conseqüente solubilização do ferro e sulfato, foi superior nas colunas com nutrientes tanto na coluna com meio sintético quanto com a ureia. Já em comparação com a coluna controle, pode-se perceber que esta apresenta valores de ferro e sulfato cerca de quatro vezes inferior àqueles encontrados quando foram utilizados os nutrientes. Os nutrientes fornecem o suplemento completo para que as bactérias acidofílicas possam dispor de elementos como co-fatores e para a formação da estrutura celular e genética da bactéria. A ureia, embora tenha mostrado resultados satisfatórios, pode ser deficiente em alguns elementos como Mg. Assim, haveria a necessidade de complementação nutricional, o que acabaria aumentando os custos. Além do inconveniente de odor do processo citado anteriormente. Os resultados de bactérias confirmam maior número nas condições com nutrientes e também a conseqüente maior extração de ferro. Já a condição controle que foi esterilizada, não apresentava bactérias teve uma extração de ferro cerca de 4 vezes inferior.

A relação mássica de Fe/SO<sub>4</sub> para cada condição do experimento em bancada está mostrada na Tabela 21.

Tabela 21. Relação mássica Fe/SO<sub>4</sub> (M/M).

<b>Relação</b>	<b>Controle</b>	<b>Sintético e água</b>	<b>Ureia e água</b>	<b>Sintético e EDR4</b>	<b>Ureia e EDR4</b>
Fe/SO <sub>4</sub> (M/M)	0,53	0,71	0,71	0,80	0,75

A relação molar entre o Fe/SO<sub>4</sub> foi de aproximadamente 0,53 para a condição controle. Nas colunas onde foi utilizada a água natural esta relação foi de 0,71. Para as colunas onde foi utilizada a EDR4 a relação foi de 0,75 no caso da ureia e chegou a 0,8 na condição de nutriente sintético com a EDR4. A relação estequiométrica de 0,7 e 0,8 está próxima, ou levemente acima da estequiometria do sal Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, caracterizando o produto como sulfato férrico.

A Figura 71 mostra o concentrado férrico final obtido na coluna de biolixiviação na condição estéril e da coluna com nutriente sintético.



Figura 71. Concentrado férrico obtido após nove semanas de biolixiviação. À esquerda o sulfato férrico da coluna controle e à direita o mesmo reagente da coluna com nutriente sintético.

Diante do resultado apresentado das colunas foram determinadas algumas condições para o processo na planta piloto. A condição idealizada possui as seguintes características: condições ácidas de processo (abaixo de 2,0), utilização de bactérias acidofílicas como fonte de inóculo, nutriente sintético, temperatura na faixa de 28°C a 35°C, água de circulação EDR4 (mas a água natural não compromete os resultados), aeração natural controlada por medidas de potencial de oxi-redução, circulação durante 24h, tempo de circulação de 9 semanas.

### **5.5.2 Planta piloto**

Os experimentos realizados em escala bancada contribuíram na composição dos parâmetros a serem testados nos ensaios em nível piloto. Os ensaios realizados nesta escala foram conduzidos em duas condições: controle e ideal e em duplicata.

As Figuras 72 e 73 mostram o comportamento do pH durante as nove semanas de biolixiviação na planta piloto na condição controle e ideal.

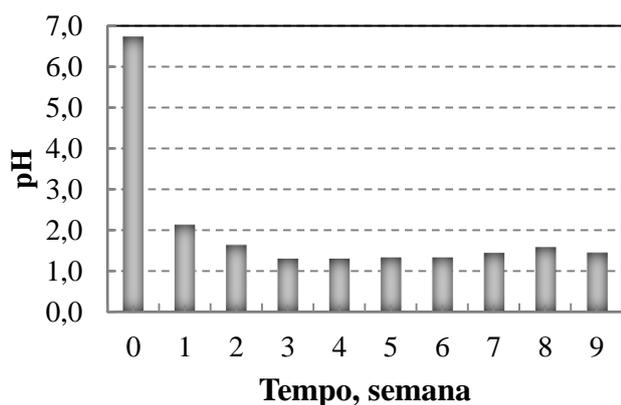


Figura 72. Comportamento do pH na condição controle.

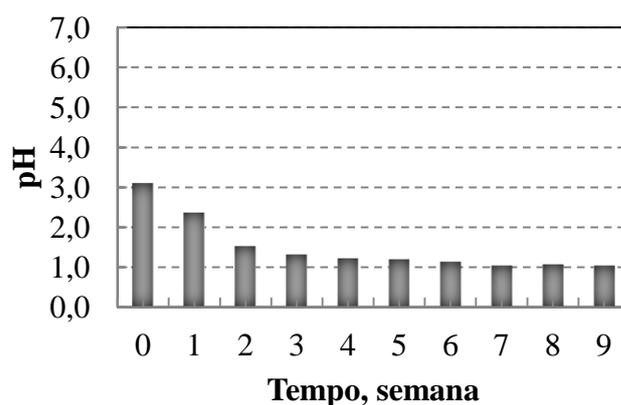


Figura 73. Comportamento pH na condição ideal.

Pode-se observar que a redução do pH foi mais marcante nas 2 semanas iniciais, confirmando resultados já obtidos em bancada. O valor de pH na nona semana chegou a 0,9 nos dois experimentos (controle e ideal). A diferença no pH inicial da planta ideal ocorreu devido à adição da água EDR4 com características ácidas.

Nas Figuras 74 e 75 é mostrado o comportamento do potencial redox nas condições controle e ideal. As Figuras 76 e 77 apresentam os valores do comportamento de extração de ferro total nas condições controle e ideal. Por final, as Figuras 78 e 79 mostram o comportamento dos íons  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$ .

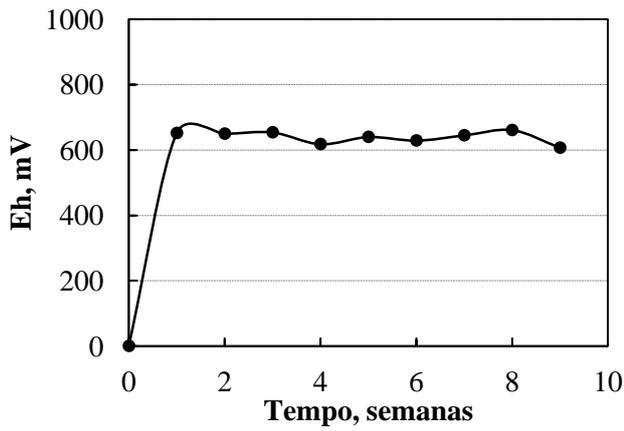


Figura 74. Comportamento do Eh na condição controle.

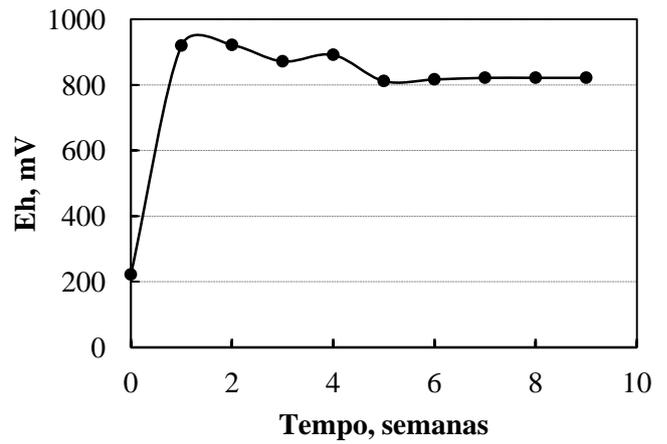


Figura 75. Comportamento Eh na condição ideal.

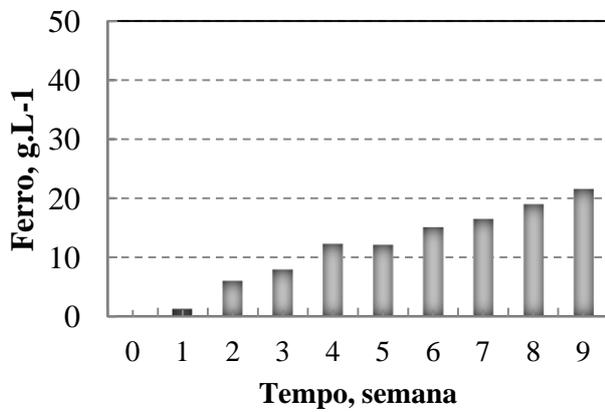


Figura 76. Comportamento do ferro total na condição controle.

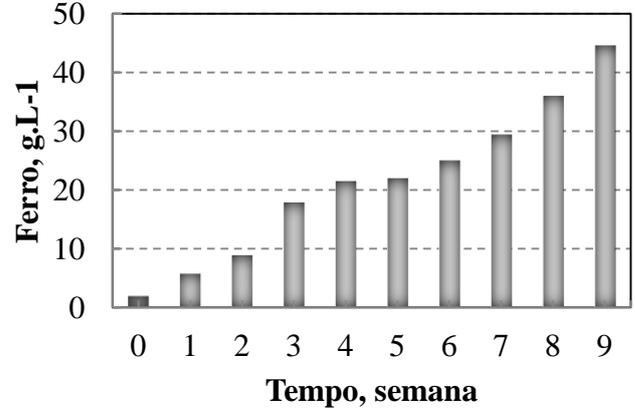


Figura 77. Comportamento do ferro total na condição ideal.

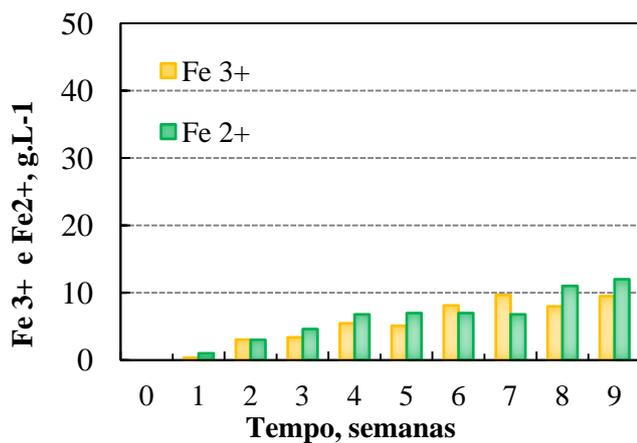


Figura 78. Comportamento do Fe<sup>3+</sup> e Fe<sup>2+</sup> na condição controle.

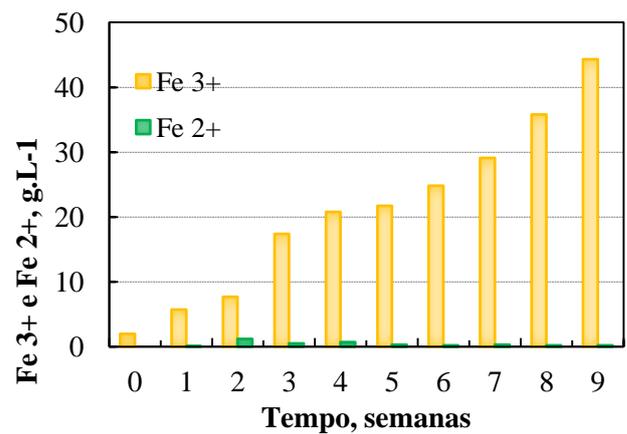


Figura 79. Comportamento do Fe<sup>3+</sup> e Fe<sup>2+</sup> na condição ideal.

Os valores de Eh foram maiores na condição ideal de operação da planta piloto atingindo valores superiores a 800mV. Já a condição controle apresentou potencial redox na faixa de 600 até 700mV. Esta condição pode estar relacionada com a presença de bactérias no experimento. A condição ideal teve adição de inóculo e nutrientes. Com o aumento da quantidade de bactérias no sistema foi possível aumentar a quantidade de ferro total extraído. A quantidade de ferro total extraído na condição controle foi de  $21,5\text{g.L}^{-1}$ , sendo que 50% está na forma de  $\text{Fe}^{3+}$  e 50% na forma de  $\text{Fe}^{2+}$ . Já a quantidade de ferro total extraído na condição ideal foi de  $45\text{g.L}^{-1}$ , sendo que 97% está na forma de  $\text{Fe}^{3+}$  e 3% na forma de  $\text{Fe}^{2+}$ . A presença de bactérias em condição aeróbia aumentou a quantidade de íons férricos o que implica o aumento da razão  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ , correspondendo a um maior potencial de oxi-redução.

A Figura 80 mostra o comportamento da cor na planta operada na condição controle e na condição ideal. Ocorreu um aumento do valor de cor na condição ideal. Na condição controle a cor teve valores bastante inferiores em relação ao experimento ideal. Foi possível verificar, assim como nos ensaios em bacada, que os valores de cor podem estar relacionados com maior extração de ferro.

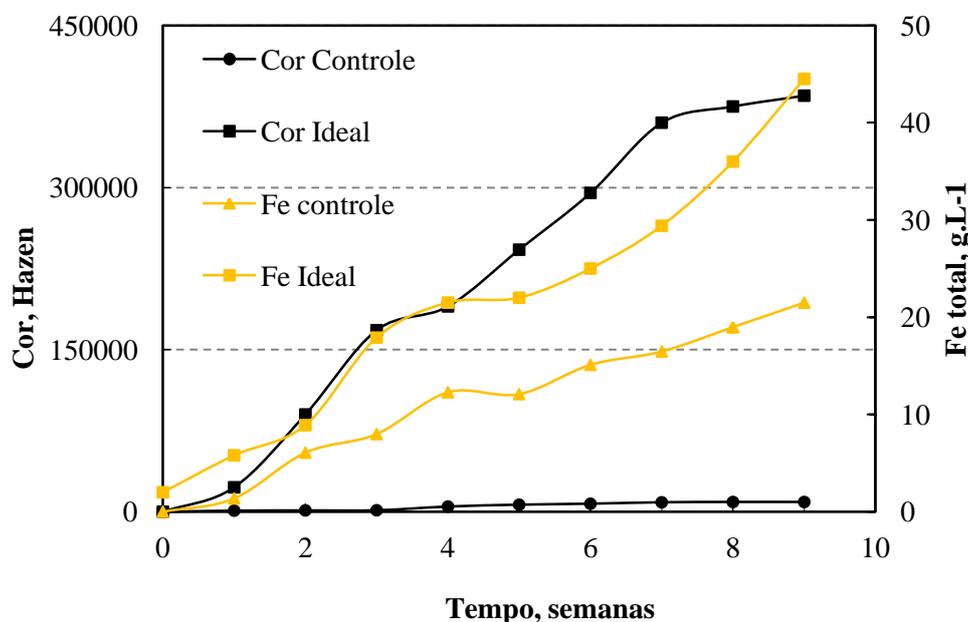


Figura 80. Comparação do comportamento da cor no experimento controle e ideal.

As Figuras 81 e 82 mostram o comportamento do sulfato nas condições controle e ideal na planta piloto.

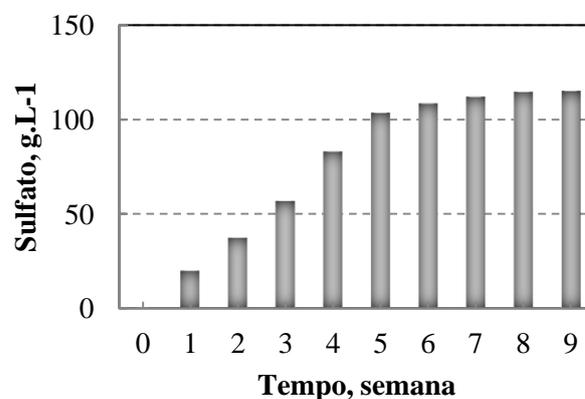
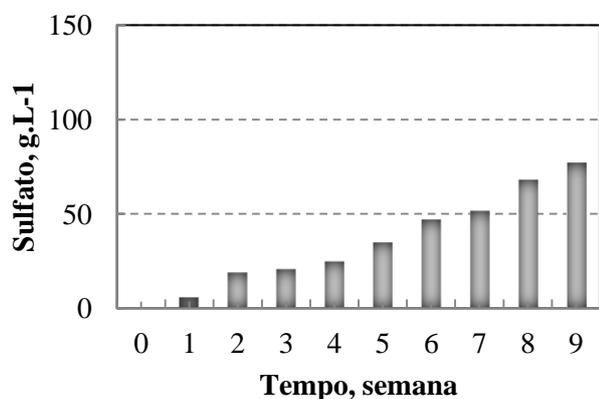


Figura 81. Comportamento da concentração de sulfato na planta controle

Figura 82. Comportamento da concentração de sulfato na condição ideal.

Na avaliação do comportamento de sulfato pode-se perceber que no experimento controle os resultados chegaram até  $77\text{g.L}^{-1}$  de sulfato. Já nas colunas com nutrientes estes valores chegaram à faixa de  $115\text{g.L}^{-1}$ .

O comportamento das bactérias *A. ferrooxidans* durante os ensaios de biolixiviação na condição controle e ideal são mostrados na Figura 83.

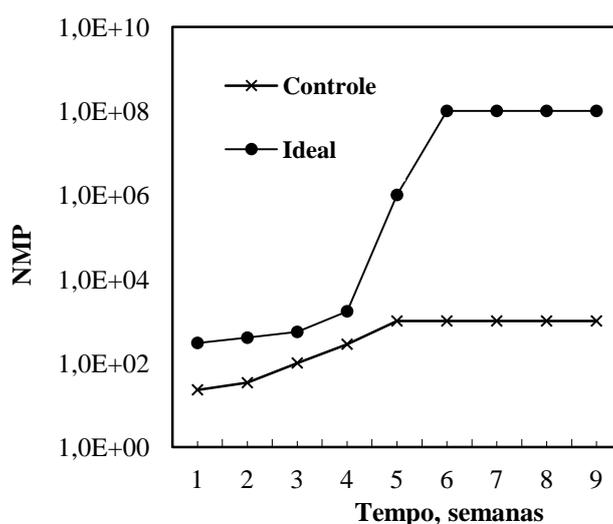


Figura 83. NMP:100mL de *A. ferrooxidans* em suspensão em função das semanas do experimento de lixiviação na planta piloto.

Pode-se perceber que após a quarta semana ocorre um crescimento significativo no número de bactérias atingindo o número máximo de  $1 \times 10^8$  (NMP/mL) para a condição ideal. Este valor permanece constante da 5ª até a 9ª semana do experimento. Na condição controle houve aumento no número de bactérias até a 5ª semana e permanecendo constante em  $10^3$  (NMP/mL) nas demais semanas.

A relação mássica de Fe/SO<sub>4</sub> para cada condição do experimento da planta piloto é mostrada na Tabela 22.

Tabela 22. Relação mássica Fe/SO<sub>4</sub> (M/M).

<b>Relação</b>	<b>Controle</b>	<b>Ideal</b>
Fe/SO <sub>4</sub> (M/M)	0,47	0,67

A relação molar entre o Fe/SO<sub>4</sub> foi de aproximadamente 0,47 para a condição controle. Já na condição ideal da planta piloto a mesma relação foi de 0,67. Lembrando que a relação estequiométrica do sal Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, caracterizado como sulfato férrico, possui a relação de aproximadamente 0,50.

Diante dos resultados obtidos na planta piloto foi verificado que, na condição ideal do processo de biolixiviação, idealizado por meio dos estudos em escala bancada, foi possível obter após 9 semanas de processo, 45g.L<sup>-1</sup> de ferro e 115g.L<sup>-1</sup> de sulfato. Os resultados de extração de ferro na planta piloto foram inferiores aos obtidos na escala bancada, efeito esperado na previsão de aumento de escala do processo.

O comportamento do Eh foi semelhante ao obtido em laboratório. Ocorreu o aumento significativo de Eh, principalmente a partir da segunda semana. Provavelmente esta característica foi originada pela formação de maior quantidade de íons férricos. É possível observar que, em todas as condições experimentais, houve a necessidade de uma semana de adaptação do processo. Este tempo de adaptação pode estar relacionado à adaptação das bactérias ao processo. Em todas as análises microbiológicas realizadas foi observado um período de 7 a 10 dias (fase lag) de formação de colônias e turvação do meio ferroso para identificação do resultado positivo de bactérias.

A partir da segunda e terceira semanas do processo de biolixiviação ocorreu uma melhor adaptação das bactérias ao processo, ocorrendo uma diminuição drástica do pH, aumento do potencial oxi-redução e níveis de extração de ferro e sulfato aumentados.

### **Dicussão do processo**

O processo de biolixiviação, embora um processo biotecnológico, é um processo não-convencional pois o substrato utilizado pelas bactérias, a pirita, é parcialmente solúvel em água. O modelo de processo sugerido foi o processo descontínuo ou batelada. Inicialmente a solução, os micro-organismos e o substrato foram adicionados para que ocorressem as reações e o volume do reator permaneceu constante até o final da nona semana.

Diante dos resultados obtidos na planta piloto verificou-se que, na condição ideal do processo de biolixiviação, idealizado por meio dos estudos em escala bancada, foi possível obter após 9 semanas de processo,  $45\text{g.L}^{-1}$  de ferro e  $115\text{g.L}^{-1}$  de sulfato em um lote de produção de sulfato férrico. Os resultados de extração de ferro na planta piloto foram inferiores aos obtidos na escala bancada, efeito esperado na previsão de aumento de escala do processo.

Também puderam ser elaboradas as condições operacionais do processo de biolixiviação, sendo as seguintes: utilização da granulometria do pátio industrial (até 25mm), lavagem do rejeito antes do processo de biolixiviação para remoção dos finos de carvão, geração de lotes de sulfato férrico a cada 9 semanas de biolixiviação (início de nova batelada com adição de água de circulação, inóculo e nutrientes), afogamento da pilha de biolixiviação uma vez ao dia, durante 30 minutos, para homogeneização da pilha, construção da pilha no formato de pirâmide dentro do reator, sistema impermeabilizado, evitando vazamentos e relação de massa de rejeitos com volume de solução de circulação de 1:1 massa: volume.

As reações que ocorreram no processo de biolixiviação foram resultado da interação das bactérias com a superfície mineral e em solução, assim como houve o ataque químico catalítico da atuação do  $\text{Fe}^{3+}$  que pode contribuir para a oxidação química do  $\text{Fe}^{2+}$  gerado na reação inicial de oxidação da pirita do mecanismo indireto. Estas interações podem ser explicadas pelos mecanismos pelo contato direto e indireto e, também, pelo mecanismo indireto, como mostra Crundwell (2000) em suas pesquisas.

O oxigênio, nas condições aeróbias de processo, serviu como acceptor de elétrons para as bactérias *A. ferrooxidans* contribuindo para a oxidação biológica da pirita e  $\text{Fe}^{2+}$ . Da mesma forma, o oxigênio presente no sistema contribuiu para a oxidação química do processo. A aeração do sistema, semelhante ao modelo cascata de aeração, permitiu a difusão do oxigênio através do contato da água e pirita com o oxigênio atmosférico. O mesmo ocorreu com o  $\text{CO}_2$  que é necessário para o armazenamento de carbono na célula. Os valores de oxigênio dissolvido apresentaram média de  $8,7\text{mg.L}^{-1}$  em todos os experimentos. Cabe destacar que para o processo industrial, ocasião onde são utilizadas maiores quantidades de rejeito, poderá ser necessário o uso de aeradores para suprir a ausência de aeração no interior na pilha. A forma de controle do processo, quando aeróbio, poderá ser realizada monitorando os resultados das análises de potencial de oxi-redução e oxigênio dissolvido. Assim, em condições aeróbias suficientes, a oxidação bacteriana do íon ferroso para férrico contribui para o aumento do fenômeno auto-catalítico de oxidação da pirita gerando íons férricos. Os micro-organismos, por meio da transferência de elétrons das reações de oxidação, geraram a energia necessária para a formação de ATP que, por sua vez, foi utilizada nas reações de fixação de  $\text{CO}_2$  e constituindo importância para a composição estrutural e reprodução das bactérias, assim como a continuidade do processo. Acredita-se que o elemento enxofre da pirita tenha formado inicialmente o tiosulfato, composto intermediário na reação de sulfeto até sulfato, pelo mecanismo do tiosulfato conforme já discutido por Sand et al. 2001. As interações ocorridas no reator podem ser melhor entendidas na Figura 26. O diagrama proposto por Backer e Banfield em 2003 mostra justamente o metabolismo das bactérias acidofílicas na oxidação da pirita.

Os autores mostram que as reações que ocorrem na pirita não são independentes, mas sim como uma interação entre os ciclos do ferro, enxofre e carbono. Para a temperatura utilizada neste trabalho, a bactéria responsável pelos mecanismos de oxidação do ferro é a *A. ferrooxidans*. Neste sentido, o trabalho buscou identificar a presença e identidade deste micro-organismo utilizando diversas técnicas microbiológicas.

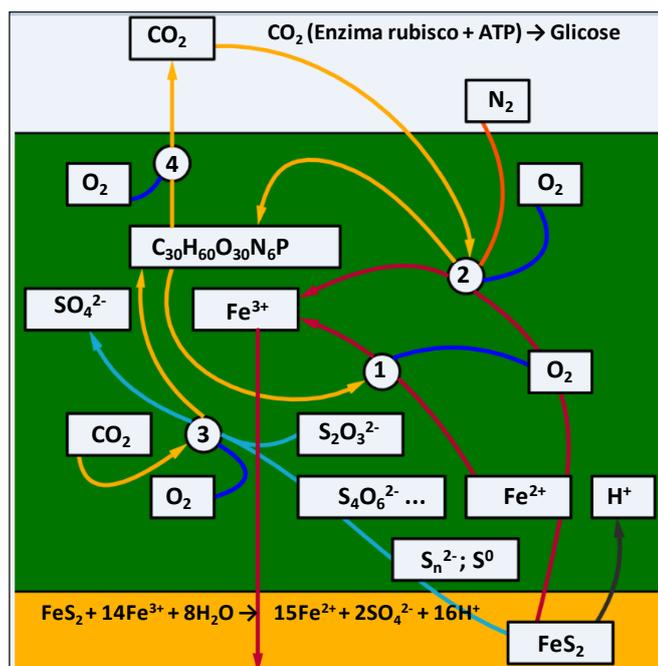


Figura 84. Diagrama esquemático do metabolismo microbiano de oxidação da pirita. Fonte: Adaptado de Backer e Banfield, 2003.

Explicando mais detalhadamente o diagrama proposto por Backer e Banfield, (2003), inicia-se mostrando a principal Reação (31) de oxidação da pirita, que é um complexo processo biogeoquímico, com reações de redução por hidrólise ou complexação de íons.



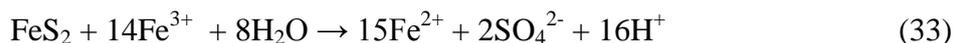
Esta reação produziu acidez no meio, inicialmente, principalmente por intemperismo químico. Este fato pode ser observado nas drásticas reduções de pH que ocorreram em todos os experimentos ao longo da primeira semana. Esta redução inicial de pH não pode ser atribuída à atuação das bactérias, já que elas necessitam, justamente do processo com o pH mais baixo. Além disso, o tempo de geração das *A. ferrooxidans* leva cerca 7 dias. Logo após a primeira semana de biolixiviação o pH já estava apontando abaixo de 2,0, mas a presença de bactérias ainda não era marcante neste momento. Isto nos leva a comprovar que a reação inicial tem influência abiótica. Os

valores de pH chegaram a 0,9 e após a 4ª semana de biolixiviação, então pode-se perceber um aumento significativo no número de bactérias *A. ferrooxidans*. A bactéria *A. ferrooxidans* consegue iniciar o processo de oxidação quando o pH estiver na faixa anteriormente descrita. Este fato pode fazer pensar que iniciar o processo com a EDR4 possa trazer um leve vantagem, uma vez que o pH inicial da EDR4 é 2,0.

Porém, os resultados mostram que após este período as bactérias contribuíram significativamente na aceleração da Reação 32 conforme já mostraram e discutiram Evangelou, 1995; Rimstidt e Vaughan, 2003 *APUD* Elberling, 2005; Gleisner et al., 2006; Zhang et al., 2009; Kelly e Wood, 2000. A comparação dos experimentos realizados e bancada comparando a condição estéril e com a adição de inóculo e nutrientes mostra que esta suposição faz sentido.



Ao mesmo tempo que estas bactérias estavam atacando a pirita e os íons ferrosos em solução, a partir da 4ª semana a quantidade de íon férricos era próxima à  $20\text{mg.L}^{-1}$ , o que por sua vez, como o pH do meio foi menor que 3, mostra que o  $\text{Fe}^{3+}$  gerado desempenhou o papel de catalizador da Reação 32, intensificando o ciclo de oxidação da pirita ( $\text{FeS}_2$ ) que mostra a Reação 33.



O  $\text{Fe}^{2+}$  resultante da Reação 33 foi oxidado para  $\text{Fe}^{3+}$  como já mostrado na Reação 32 contribuindo para o ciclo auto-catalítico crescente. E assim as reações continuam enquanto tenha pirita disponível para ser oxidada.

A formação de íon férrico ou ferroso no sistema está associada à relação do pH com o potencial de redução. O diagrama de fases apresentado na Figura 6 mostra os valores correspondentes de pH e potencial de oxi-redução (Eh) preferenciais à formação de íon ferroso ou férrico. Se o potencial de redução for mantido acima de 800mV e o pH abaixo de 2,0 predomina a oxidação do íon  $\text{Fe}^{2+}$  para  $\text{Fe}^{3+}$ . Segundo Garcia e Urenha (2001) potenciais de equilíbrio maiores favorecem a formação de  $\text{Fe}^{3+}$ . Os mesmos autores mostraram que a manutenção do potencial Eh maior que 750mV contribui para a geração de um ambiente oxidante que aumenta a eficiência do processo. Ambos

comportamentos de pH e Eh indicam que a oxidação da pirita ocorreu com maior intensidade na coluna onde foi utilizado o inóculo e micro-nutrientes.

Este fenômeno pode ser mais bem explicado com o que ocorreu na planta piloto na condição controle e ideal. A condição controle apresentou menor valor de Eh (cerca de mV), também apresentou menor número de bactérias e uma extração de ferro total inferior à condição ideal. Outra observação é que o ferro total esteve cerca de 50% na forma de íon  $\text{Fe}^{2+}$  na condição controle. Já a condição ideal apresentou potencial redox (cerca de 1000mV), maior número de bactérias, maior extração de ferro total, sendo que a maior parte do ferro total estava na forma de  $\text{Fe}^{3+}$ . Portanto, a presença das bactérias interferiu diretamente no predomínio dos íons férricos na solução, deslocando o equilíbrio  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ , na condição ideal, para maior formação de ferro na forma  $\text{Fe}^{3+}$ . A principal medida de controle deste fenômeno é o potencial redox. Por este motivo que foi aconselhado neste trabalho controlar o funcionamento do reator pela medida do potencial redox.

No experimento controle, onde 50% do ferro extraído esteve na forma  $\text{Fe}^{2+}$ , foi obtida uma solução verde que após evaporada e purificada é conhecida como sulfato ferroso. A Figura 85 mostra as duas lixívias obtidas nos testes da planta piloto.



Figura 85. Lixívias obtidas nas plantas controle (esquerda) e ideal (direita).

A lixívia obtida na condição controle foi evaporada e purificada conforme descrito por Athiking (2005). A Figura 86 mostra o sulfato ferroso após a evaporação e a Figura 87 mostra o sulfato ferroso cristalizado.



Figura 86. Sulfato ferroso evaporado. Fonte: Colling, 2012.



Figura 87. Sulfato ferroso cristalizado. Fonte: Colling, 2012.

A Figura 88 mostra o EDS realizado com o produto gerado. Os elementos majoritários foram enxofre e ferro.

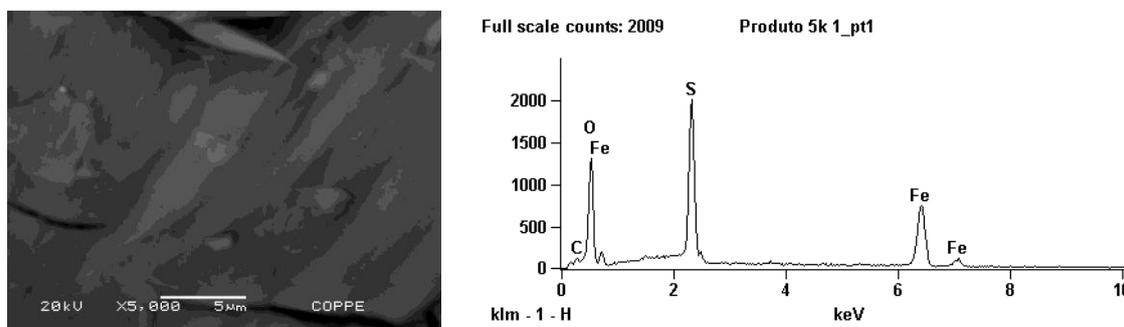


Figura 88. Imagem obtida em MEV do produto cristalizado obtido da condição controle na planta piloto. O comprimento da barra (escala) é equivalente a 5µm.

Ainda, em relação ao controle de reações ocorridas no reator de biolixiviação é possível que a formação de íons  $\text{Fe}^{2+}$  possa estar associada à mudança de metabolismo da bactéria *A. ferrooxidans*. Conforme mostram Pronk et al., (1992) e Bridge & Johnson (1998) a bactéria *A. ferrooxidans* que assume geralmente o papel de bactéria aeróbia, em condições anaeróbias pode trocar o oxigênio como acceptor final de elétrons pelo  $\text{Fe}^{3+}$  conforme a Reação 34.



Resumidamente, pode-se mostrar a relação  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  conforme a Figura 89. Nesta figura é possível verificar que quanto maior o número de bactérias, maior o

potencial redox e maior a extração de ferro, sendo que, a maior porcentagem de ferro total está na forma de íons  $\text{Fe}^{3+}$ . Ainda, quanto menor a quantidade de bactérias, menor o potencial redox, menor a extração de ferro e maior a porcentagem de íons  $\text{Fe}^{2+}$ .

Fe total:  $45 \text{ g.L}^{-1}$   
 $\text{Fe}^{3+}$ :  $43 \text{ g.L}^{-1}$ ;  $\text{Fe}^{2+}$ :  $2 \text{ g.L}^{-1}$   
 Eh: 800-1000mV  
 Bactérias:  $10^8$  NMP:100mL

Fe total:  $21,5 \text{ g.L}^{-1}$   
 $\text{Fe}^{3+}$ :  $8,5 \text{ g.L}^{-1}$ ;  $\text{Fe}^{2+}$ :  $13 \text{ g.L}^{-1}$   
 Eh: 600-700mV  
 Bactérias:  $10^3$  NMP:100mL

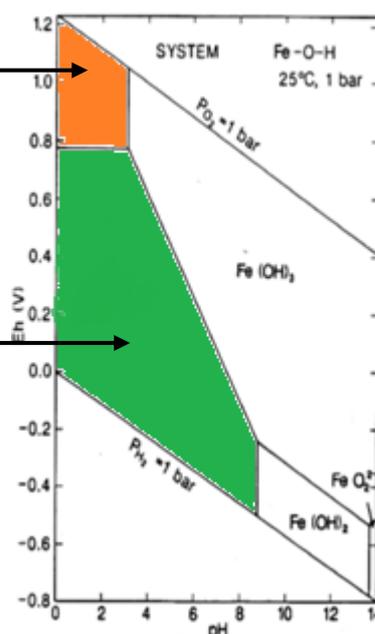


Diagrama de Pourbaix.

Figura 89. Relação  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ .

Em relação à operação dos processos de biolixiviação podemos relatar como desvantagens os baixos rendimentos de produto se comparado a outros processos e inibição ou desvio do processo metabólico dos micro-organismos. As vantagens estão relacionadas principalmente em substratos que necessitam de recuperação ambiental, extração seletiva de metais e o baixo consumo de energia e reagentes no processo. Um exemplo de aplicação ambiental da biolixiviação foi realizado por Yamane (2012) que propôs o uso da biolixiviação para a recuperação de metais de placas de circuito impresso de computadores obsoletos.

Em relação à velocidade do processo utilizado para recuperação da pirita de rejeitos de carvão, a produção de ferro total durante 9 semanas na condição controle foi de  $0,01 \text{ g.L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ . Na condição ideal, este valor dobrou para  $0,02 \text{ g.L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ . Para exemplificar a velocidade de outros processos biotecnológicos pode-se citar a fermentação alcoólica onde a velocidade de produção de etanol pode chegar a

$4,0\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ . Portanto, o processo de biolixiviação é bastante lento podendo ser um dos desafios para a implantação do processo. Porém, no caso deste trabalho cabe destacar o baixo investimento em reagentes para processar a pirita e transformar em material com valor agregado. O rejeito de carvão está atualmente disposto em módulos de rejeito causando diversos impactos ambientais ao solo, água, ar. Diante deste cenário, a produção de concentrados férricos e até ferrosos pode ser uma alternativa viável.

Segundo Lima (2001), um aspecto interessante, que pode significar avanços gigantescos e novas aplicações para o uso de bactérias na lixiviação de minerais, está baseado na decodificação do genoma dos seres vivos. O surgimento dessa tecnologia de manipulação genética abre possibilidades de alterar as capacidades inibitórias e/ou de oxidação de determinadas bactérias, assim como, sua resistência frente a concentrações maiores de metais tóxicos ou a combinação de características positivas de dois tipos de bactérias, como seriam, por exemplo, a resistência a pH de uma certa cepa e a resistência à temperatura de outra do mesmo gênero. Este pode ser o caminho para o avanço para a definição das rotas bio-hidrometalúrgicas, embora a aplicação de organismos geneticamente modificados (OGM) ainda é um desafio na implantação de processos devido à competição com os organismos naturais e mais bem adaptados ao ambiente (Schimidell, 2001).

### **5.5.3 Planta industrial**

Os ensaios realizados na planta industrial de biolixiviação foram preliminares e ainda necessitam de maior controle. Além disso, os testes de escala industrial foram desenvolvidos paralelamente aos ensaios em escala piloto, portanto, várias recomendações sugeridas a partir da planta piloto não foram seguidas. Inicialmente a planta industrial foi operada sem a adição de nutrientes. Nesta condição, as concentrações de ferro e sulfato na lixívia foram de 18 e 82  $\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Duas semanas após sugerida a adição de inóculo bacteriano e nutrientes (a empresa optou por testar ureia), as concentrações de ferro e sulfato passaram para 44 e 135  $\text{g L}^{-1}$ .

A planta industrial montada no pátio da empresa foi uma unidade de biolixiviação, operando no sistema batelada. Acredita-se, porém, que uma unidade não será suficiente para atender à demanda em valores de vazão de lixiviado necessário para a confecção de produtos em que a empresa tem interesse comercial. A proposta é que,

com a implantação de unidades paralelas de biolixiviação, haja, portanto, uma vazão suficiente de geração de produtos. A proposta sugerida, portanto, para a implantação da unidade industrial de biolixiviação é a utilização de módulos de biolixiviação em batelada, dispostos em paralelo, para que possam favorecer o fluxo contínuo do processo. A disposição em módulos paralelos de biolixiviação também facilita a manutenção das pilhas, quando se faz necessária a remoção da pilha de rejeitos após o esgotamento de pirita do material lixiviado. Com base nos valores diários necessários para a produção de sulfato férrico na unidade operacional, será possível determinar o número “n” de dornas necessárias para a estação. De acordo com esta proposta, a Figura 90 mostra a sugestão de montagem da planta de biolixiviação em escala industrial. É sugerida uma cobertura sobre as unidades de biolixiviação, evitando problemas de diluição do concentrado com precipitação pluviométrica.

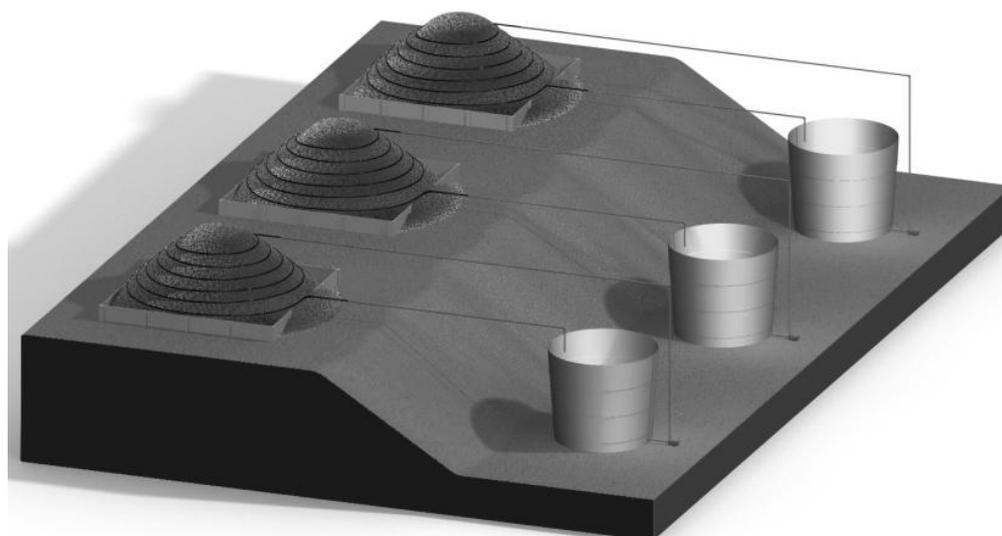


Figura 90. Proposta de construção de módulos de biolixiviação para nível industrial. Fonte: Colling, 2012.

A concentração de bactérias *A. ferrooxidans* para a planta industrial passou de  $10^2$  NMP:100 mL<sup>-1</sup> para  $10^8$  NMP 100 mL<sup>-1</sup> após a utilização de ureia como fonte de micronutrientes. Nos próximos trabalhos, porém, há dúvidas quanto ao uso deste reagente, pois o mesmo apresentou odores quando utilizado em maiores quantidades. Os dados de bancada demonstraram que não houve diferença entre o uso de nutrientes sintéticos e ureia. A Tabela 23 mostra o resultado comparativo da biolixiviação na escala industrial antes e após o controle do processo com micronutrientes.

Tabela 23. Resultado comparativo antes e após o controle microbiológico do processo de biolixiviação.

<b>Parâmetro</b>	<b>Antes</b>	<b>Após</b>
Ferro total, g.L <sup>-1</sup>	18	44
Sulfato, g.L <sup>-1</sup>	82	135
pH	2,0	0,3
<i>Número de bactérias</i>		
<i>A.ferrooxidans</i> , NMP:100 mL	10 <sup>2</sup>	10 <sup>8</sup>

A planta industrial estava sendo operada, obtendo concentração de ferro total de 18g.L<sup>-1</sup>. Após sugestões relacionadas com a utilização de micronutrientes, obteve-se um aumento de três vezes na extração de ferro.

## 5.6 Produção do coagulante

As concentrações médias dos extratos férricos obtidos nos testes de biolixiviação em nível bancada, piloto e industrial são apresentados na Tabela 24.

Tabela 24. Comparação dos extratos obtidos nos níveis bancada, piloto e industrial.

<b>Parâmetro</b>	<b>Bancada Sintético</b>	<b>Bancada Ureia</b>	<b>Piloto</b>	<b>Industrial</b>
Fe Total, mg.L <sup>-1</sup>	65 000	60 000	45 000	44 000
SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> , mg.L <sup>-1</sup>	140 000	138 000	115 000	135 000
pH	0,8	0,8	0,9	0,3
Al, mg.L <sup>-1</sup>	3 111	3 006	3 209	3 544
Ca, mg.L <sup>-1</sup>	698	712	748	601,8
Mn, mg.L <sup>-1</sup>	76	47	56	9,89
Pb, mg.L <sup>-1</sup>	2,1	1,8	2,0	5,93
Zn, mg.L <sup>-1</sup>	11	10	8	6,17
Fe/Al, m.m <sup>-1</sup>	20,9	20	14	12,4
Fe/Ca, m.m <sup>-1</sup>	93,12	84,3	60,2	73,1
Fe/Mn, m.m <sup>-1</sup>	855,3	1276,6	803,6	4 449
Fe/Pb, m.m <sup>-1</sup>	30 952	33 333	22 500	7419,9
Fe/Zn, m.m <sup>-1</sup>	5909,1	6000	5625	6136,7
Fe/SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> , M.M <sup>-1</sup>	0,80	0,75	0,67	0,56

É possível verificar que o valor alcançado nas unidades piloto e industrial são inferiores ao valor obtido em bancada, condição já esperada. Esta diferença pode estar associada ao aumento de escala do processo.

A Figura 91 apresenta a comparação do pH nas quatro escalas de experimentos: 1 – escala bancada com nutrientes 9K; 2 – escala bancada com nutriente ureia; 3 - processo

piloto; e 4 – processo industrial. Pode-se perceber que em todas as escalas, após as nove semanas, o pH ficou abaixo de 1,0.

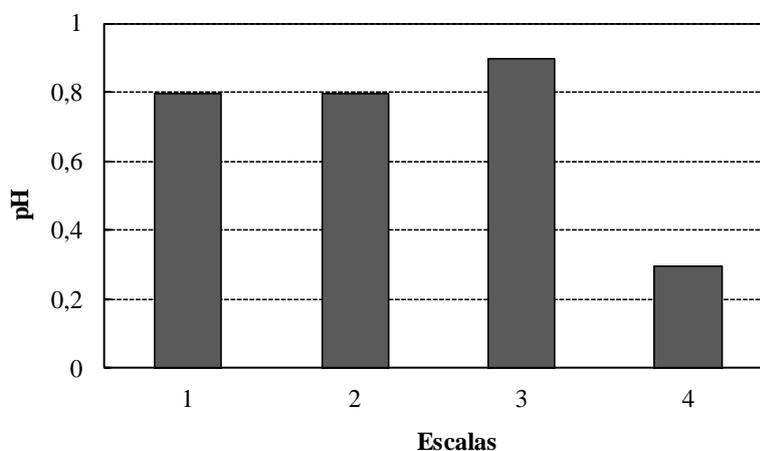


Figura 91. Comparação do pH nos diferentes níveis de processo.

Já as Figuras 92 e 93 apresentam os resultados comparativos de extração de ferro e sulfato do processo nas quatro diferentes condições. A extração dos íons férricos e sulfato apresentam a mesma tendência, maior extração em ensaios de bancada. Foi observada, porém, menor extração de sulfato na condição bancada quando utilizado o nutriente 9K.

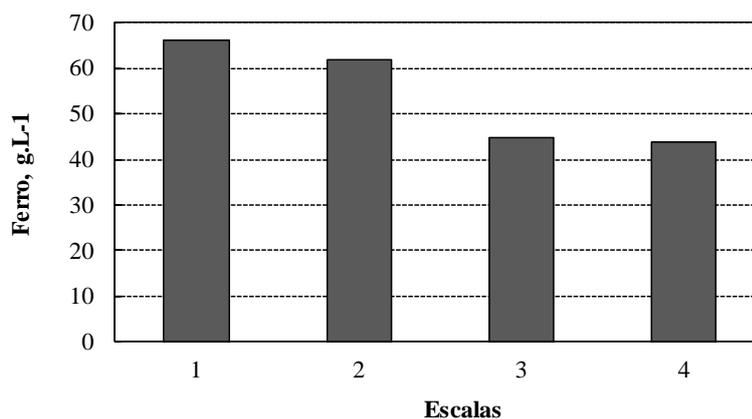


Figura 92. Comparação da extração de ferro nas diferentes escalas de processo.

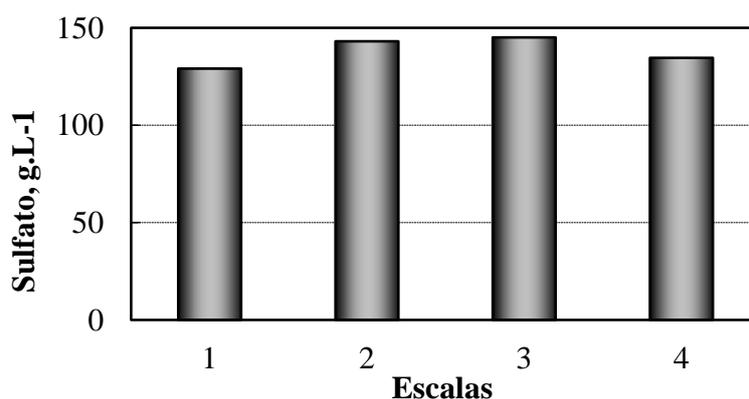


Figura 93. Comparação da extração de sulfato nos diferentes níveis de processo.

As Figuras 94 mostra a relação molar  $\text{Fe}/\text{SO}_4^{2-}$  dos extratos obtidos nos experimentos nas escalas bancada, piloto e industrial. Pode-se observar que a relação molar  $\text{Fe}/\text{SO}_4^{2-}$  ficou na faixa de 0,6-0,8. Para fins de produção de coagulante, quanto maior relação  $\text{Fe}/\text{SO}_4^{2-}$  melhor. Maiores relações de ferro/sulfato podem estar relacionadas com a ação específica de contato da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

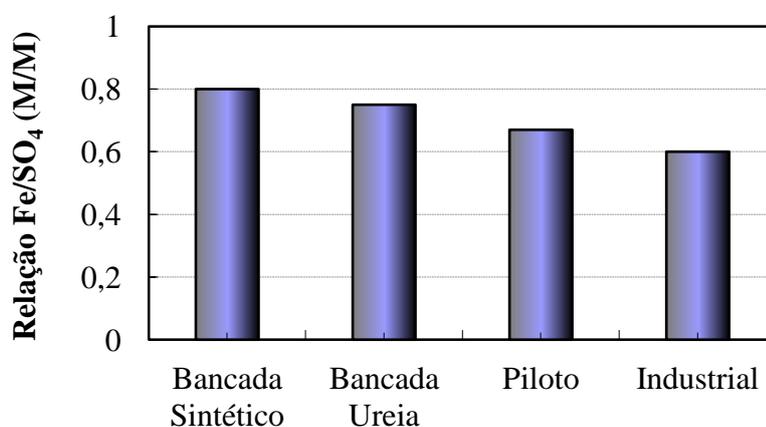


Figura 94. Relação Molar Ferro/Sulfato nas três escalas de experimentos.

Após os ensaios de biolixiviação, realizou-se o cálculo de concentração de pirita extraída cujos dados estão apresentados na Tabela 25. Baseado na balanço de massa do ferro e enxofre, foi possível calcular um consumo de 7,7% da pirita na escala piloto controle e na escala piloto ideal 16,2%. Neste contexto, pode presumir que a planta

piloto levaria 13 ciclos para o esgotamento da pirita em condições naturais e essa condição passaria para 6,2 ciclos, com adição de inóculo e nutrientes.

Tabela 25. Características do rejeito de carvão após o ensaio de lixiviação.

<b>Parâmetro</b>	<b>Escala Piloto</b>	
	<b>Controle</b>	<b>Ideal</b>
Pirita Extraída, %	7,7	16,3
Nº de ciclos	13	6,2

Os extratos obtidos foram purificados por filtração em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  e evaporados até uma concentração de ferro entre 100 e 120  $\text{g.L}^{-1}$ , exigido para a comercialização como coagulante. Após este processo de purificação/evaporação foram realizadas análises no coagulante final. A Tabela 26 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.

Tabela 26. Composição química do sulfato férrico, coagulante produzido da biolixiviação do rejeito de carvão.

Parâmetro	Bancada	Bancada	Piloto	Sulfato Férrico Comercial	Especificação da SABESP para o sulfato férrico
	Sintético	Ureia			
Fe, (g.L <sup>-1</sup> )	121	119	123	115,0	12
Al, (g.L <sup>-1</sup> )	1,3	1,1	1,6	4,4	-
Ca, (g.L <sup>-1</sup> )	1,2	1,3	1,6	5,7	-
Mn, (g.L <sup>-1</sup> )	1,7	1,6	1,6	1,6	-
Zn, (mg.L <sup>-1</sup> )	22,9	23,6	26,1	22,4	-
pH	0,8	0,8	0,9	1,8	< 2,0
CT, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	108	-
COT, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	104	-
Densidade g.cm <sup>-3</sup>	1,4	1,4	1,4	1,4	-
<i>A. ferrooxidans</i> .mL <sup>-1</sup>	ND	ND	ND	ND	-

\*ND= Não detectado.

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.

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.

Foram criadas duas marcas para o sulfato férrico produzido. O produto destinado ao tratamento de águas, o coagulante, foi chamado de *Sulfaclean*, rótulo da embalagem na Figura 95. O agente ácido utilizado para a mineração (para processos de extração

hidrometalúrgica) e indústria química em geral foi chamado de *Biohyextract*, rótulo da embalagem apresentada na Figura 96.



Figura 95. Rótulo do produto *Sulfaclean*.



Figura 96. Rótulo do produto *Biohyextract*.

A Figura 97 mostra o produto líquido obtido a uma concentração entre 10 e 12% ferro total. Ainda, o sulfato férrico pode ser comercializado na forma sólida após a passagem pelo equipamento de *spray drier* conforme a Figura 98.



Figura 97. Sulfato férrico líquido, *Sulfaclean* e *Biohyextract*.



Figura 98. *Sulfaclean* e *Biohyextract* no estado sólido.

Além da utilização do sulfato férrico como coagulante, ele pode ser utilizado como matéria-prima para a produção de óxidos e sulfato ferroso.

### 5.7 Ensaio de coagulação

Para o tratamento de água o ensaio foi realizado utilizando o coagulante gerado na planta piloto. A Figura 99 mostra a água bruta da ETA Guandu e tratada com o coagulante produzido.



Figura 99. Água bruta e tratada com o coagulante produzido a partir do rejeito de carvão.

A Figura 100 mostra a etapa de sedimentação em teste de jarros em distintos intervalos de tempo durante o tratamento da água no experimento de teste de jarros.

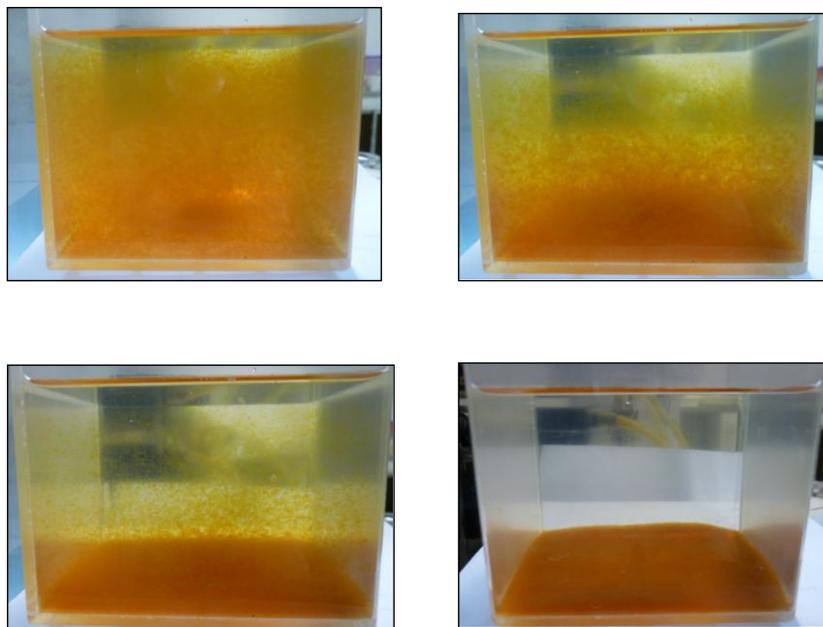


Figura 100. Etapa de sedimentação no teste de jarros. O tempo de sedimentação foi de 10 min.

Na Tabela 27, são apresentados os resultados das análises físico-químicas da água bruta e tratada bem como os valores estabelecidos na Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde para água potável. É possível verificar que, em todos os parâmetros analisados, a água tratada com o coagulante produzido atingiu as exigências da legislação.

Tabela 27. Características da água bruta e tratada com o coagulante produzido.

<b>Parâmetro</b>	<b>Água Bruta Rio Guandu</b>	<b>Tratado com o Reagente Produzido</b>	<b>Tratado com Sulfato férrico comercial</b>	<b>Parâmetros para água tratada no Brasil (Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde)</b>
pH	7,5	7,0	7,0	-
Turbidez (NTU)	178	2	0	5
Cor (Hazen)	9	6	5	15
Dureza, (mg.L <sup>-1</sup> )	68	2	2	500
Fe, (mg.L <sup>-1</sup> )	4,5	ND	ND	0,3
Al, (mg.L <sup>-1</sup> )	3,2	ND	ND	0,2
Mn, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	0,1
Zn, (mg.L <sup>-1</sup> )	1,2	ND	ND	5
Cu, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	2
Cr, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	0,05
Cd, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	0,005
Pb, (mg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	0,01
As, (µg.L <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	<1,5
Sulfato, (mg.L <sup>-1</sup> )	5,6	110	79	250

\*ND= Não detectado.

## 5.8 Aumento de escala

Para iniciar os estudos do processo de aproveitamento da pirita de rejeitos de carvão, inicialmente foram realizados ensaios verificando a presença qualitativa e quantitativa do micro-organismo. Para tal, fez parte deste estudo a identificação das

bactérias em MEV, formação de colônias (isolamento em meio sólido), quantificação pelo número mais provável de micro-organismos e identificação pela elaboração de meios seletivos, conforme APHA (2005). Esta corresponde à primeira etapa do processo (Schmidel et al., 2001). A Figura 101 mostra a evolução das escalas de processos industriais.

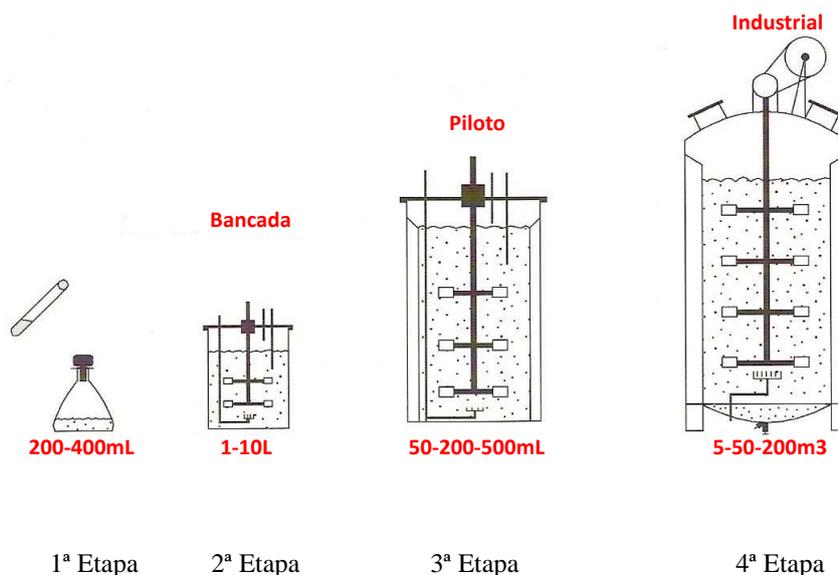


Figura 101. Etapas do processo de ampliação de escala.

As etapas do processo de ampliação de escala neste trabalho são apresentadas nas Figuras 102, 103, 104.

Na primeira etapa do desenvolvimento do processo foram desenvolvidos os estudos do micro-organismo.



Figura 102. Escala inicial de desenvolvimento de processo.

Na segunda etapa do processo foram testadas as diferentes condições do sistema utilizando a relação 1:1 de massa/volume, granulometria de 2-6mm (conforme estudos preliminares de Menezes, 2009). Portanto, estava iniciada a segunda etapa da ampliação de escala conforme mostrado na Figura 103. Na etapa 3 foi construída a unidade piloto podendo operar até 500L. Esta etapa serve principalmente para ficar um desempenho satisfatório para a geração de ferro e é mostra na Figura 104.



Figura 103. Escala de bancada contendo volume de 1L.



Figura 104. Escala de volume de até 500L.

Os parâmetros selecionados do processo de biolixiviação foram agrupados em grupos adimensionais, segundo o procedimento descrito anteriormente. Assim, a concentração de ferro produzido foi inicialmente descrita como função dos outros 12 parâmetros.

$$[Fe]_{prod} = f_1(T, c_p, k, \Delta H_R, [Fe]_{alim}, [bac], r, \rho, \mu, \tau, \bar{d}_p, D)$$

As dimensões básicas que compõem as dimensões dos parâmetros (massa, comprimento, tempo e temperatura, ou M, L, T e  $\theta$ ) podem ser organizadas na matriz dimensional apresentada na Tabela 28.

Tabela 28. Matriz dos parâmetros em dimensões básicas.

	$T$	$c_p$	$k$	$\Delta H_R$	$[Fe]_{alim}$	$[Fe]_{prod}$	$[bac]$	$r$	$\rho$	$\mu$	$\tau$	$\bar{d}_p$	$D$
$M$	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
$L$	0	2	1	2	-3	-3	-3	-3	-3	-1	0	1	1
$T$	0	-2	-3	-2	0	0	0	-1	0	-1	1	0	0
$\theta$	1	-1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

O posto da matriz da Tabela 28 é igual a 4, ou seja, suas 4 linhas são linearmente independentes. Logo, segundo o Teorema Pi de Buckingham, o número de grupos adimensionais que podem ser formados a partir dos 13 parâmetros é  $13-4 = 9$ . Devem-se escolher ainda 4 variáveis para compor o núcleo dos grupos. Foram escolhidas as variáveis  $T, [Fe]_{alim}, \tau$  e  $\bar{d}_p$ .

Os grupos adimensionais formados são:

$$\Pi_1 = \left( \frac{\tau}{\bar{d}_p} \right)^2 c_p T$$

$$\Pi_2 = \frac{\tau^3 T k}{[Fe]_{alim} \bar{d}_p^4}$$

$$\Pi_3 = \left( \frac{\tau}{\bar{d}_p} \right)^2 \Delta H_R$$

$$\Pi_4 = \frac{[Fe]_{prod}}{[Fe]_{alim}}$$

$$\Pi_5 = \frac{[bac]}{[Fe]_{alim}}$$

$$\Pi_6 = \frac{\tau}{[Fe]_{alim}} r$$

$$\Pi_7 = \frac{\rho}{[Fe]_{alim}}$$

$$\Pi_8 = \frac{\tau}{[Fe]_{alim} \bar{d}_p^2} \mu$$

$$\Pi_9 = \frac{D}{\bar{d}_p}$$

Através da análise dimensional, a concentração de ferro produzido pode ser escrita sob a forma do grupo adimensional  $\Pi_4$ , que é função dos outros grupos adimensionais obtidos:

$$\Pi_4 = f_2(\Pi_1, \dots, \Pi_9)$$

Entretanto, os únicos grupos adimensionais a apresentarem valores diferentes nas escalas de bancada e piloto são  $\Pi_4$  e  $\Pi_9$ . Portanto, a função acima pode ser reescrita somente como uma relação entre estes dois grupos, já que os outros se mantiveram constantes ao se variar a escala:

$$\Pi_4 = f_3(\Pi_9)$$

É possível calcular os valores de  $\Pi_4$  e  $\Pi_9$  para as duas situações (bancada e piloto). O grupo adimensional  $\Pi_4$  possui uma interpretação física imediata: representa a razão entre a concentração de ferro produzido e a de ferro já existente na alimentação da solução. Já o grupo  $\Pi_9$  representa a razão entre os diâmetros da pilha e das partículas do rejeito sólido. A Tabela 29 mostra os dados experimentais necessários para o cálculo dos grupos adimensionais nos dois casos.

Tabela 29. Valores dos parâmetros do processo nas escalas de laboratório e piloto.

<b>Parâmetros</b>	<b>Bancada</b>	<b>Piloto</b>
$\bar{d}_p$ (m)	0,01	0,01
$D$ (m)	0,10	1
$[Fe]_{alim}$ (g/L)	5	5
$[Fe]_{prod}$ (g/L)	62	45
$\Pi_4$	12,4	9
$\Pi_9$	10	100

A representação gráfica da relação entre os grupos adimensionais  $\Pi_4$  e  $\Pi_9$  é mostrada na Figura 105.

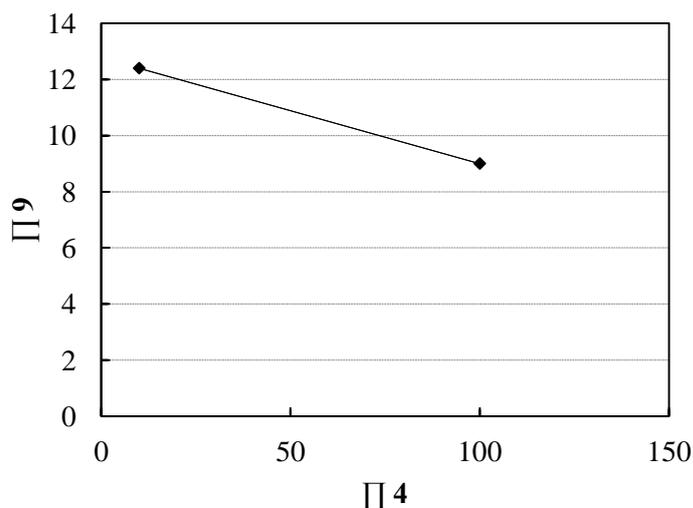


Figura 105. Relação de  $\Pi 9$  e  $\Pi 4$ .

Segundo a Figura 105, há uma tendência de pequeno decréscimo na produção do *Fe* quando há um aumento de escala, ou seja, quando a razão  $\Pi_9 = D/\bar{d}_p$  aumenta.

Um aumento na razão  $D/\bar{d}_p$  implica um aumento do diâmetro da pilha  $D$ . A razão  $D/\bar{d}_p$  pode ser aumentada ao se manter  $D$  constante (sem mudança de escala) e diminuir  $\bar{d}_p$  (utilizar partículas de rejeito menores). Com a variação da granulometria, há uma competição de fenômenos complexa, cujas características provavelmente não são expressas adequadamente através de um modelo tão simples. Ao mesmo tempo em que ocorre um aumento da área superficial líquido/sólido (o que tenderia a aumentar a produção de *Fe*), há também um aumento da velocidade do escoamento da solução nos poros da pilha, o que poderia modificar as taxas de transferência de calor e massa e assim modificar a taxa de reação, tornando-a menor. Provavelmente é necessário aprimorar a análise dimensional deste sistema considerando um parâmetro extra, relacionado à área de contato entre as fases ou à velocidade efetiva de escoamento da solução nos poros da pilha (relacionada à porosidade desta).

### 5.9 Aspecto econômico-ambiental da implantação do processo

Os resultados demonstram que, após 9 semanas de biolixiviação, foi possível obter em planta piloto uma solução de concentrado férrico com 45 g/L de Fe (praticamente 100% na forma  $\text{Fe}^{3+}$ ) sob condições aeróbias. Assim, após evaporação, foi possível produzir o coagulante com  $12\text{g.L}^{-1}$  de ferro. Isso permite concluir que seria necessário processar 3.200 t/mês de concentrado de pirita, para abastecer com água tratada uma cidade com aproximadamente 200.000 habitantes, uma cidade com a população similar à de Criciúma, em Santa Catarina.

No caso da ETA Guandu, seria necessária uma geração mensal de coagulante de 3600t o que corresponde a, aproximadamente, 150 000t de concentrado pirítico.

Os principais insumos necessários para a produção do concentrado férrico são o oxigênio atmosférico, água, rejeito de carvão, energia para a bomba de recirculação, concentração e transporte do rejeito de carvão, mão-de-obra, bactérias da DAM.

O processo bio-hidrometalúrgico de conversão da pirita em concentrado férrico apresenta a vantagem de cunho ambiental e econômico. O aspecto ambiental é a 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 e ainda porque os rejeitos de carvão conferem risco de acidente de trabalho e por fim o produto gerado tem valor agregado. Embora a velocidade do processo ainda seja um desafio para a implantação deste sistema, o baixo consumo de energia pode ser uma potencial forma de reduzir o custo do processo industrial, eliminação de contaminantes, onde existe a dificuldade de utilizar outros métodos, a biolixiviação torna-se um método bastante seletivo, pode ser considerada uma tecnologia verde (Brierley, 2010).

## 6. CONCLUSÕES

Por meio dos resultados obtidos no presente trabalho de doutorado foi possível obter as seguintes conclusões:

1. De acordo com as análises realizadas no rejeito de carvão, pode-se dizer que 80% do material trabalhado possui granulometria abaixo de 10mm. Ainda, existe uma porcentagem de 15% com granulometria entre 10 e 25mm. Os demais 5% correspondem aos finos de carvão. De acordo com as análises de enxofre, há 37,3% de enxofre total, sendo que 36,4% são de enxofre pirítico e 0,9% enxofre sulfático. Assim, o teor de pirita na amostra foi calculado em aproximadamente 70%. Os principais elementos encontrados nas análises elementar, fluorescência de raio-x e EDS de MEV foram o ferro, enxofre, silício, alumínio, cálcio e potássio, sendo os elementos majoritários o ferro e o enxofre. Conforme as análises observadas no difratograma, estes elementos encontram-se dispostos principalmente na forma de minerais de pirita, quartzo, caulínica e mica (filossilicatos). A varredura superficial do rejeito em microscopia eletrônica com ampliação de 10 000 vezes mostrou superfícies irregulares de cristais de pirita intercalados com superfície carbonosa (carvão).

2. Nos testes qualitativos de bactérias foram identificadas *A. ferrooxidans* e também *L. ferrooxidans*. As análises de MEV mostraram uma quantidade considerável de bactérias aderidas ao rejeito. As bactérias observadas nesta análise apresentam forma de bacilo com tamanho médio entre 0,8 e 1,5  $\mu\text{m}$ . Os testes moleculares de DGEE também confirmaram a presença destes dois organismos acidofílicos.

3. Os ensaios em escala bancada são uma forma menos onerosa e prática de determinar os parâmetros a serem testados em planta piloto. O parâmetro pH mostrou comportamento semelhante nas condições de nutrientes com ureia e sintético. O potencial de oxi-redução na primeira semana subiu para a faixa de 800 a 1000mV, permanecendo constante durante as nove semanas de experimentos. O potencial de oxi-redução da coluna estéril também foi similar aos demais experimentos realizados em colunas, porém inferior àqueles obtidos nas colunas com nutrientes permanecendo na faixa de 600-800mV. Esta condição pode estar

relacionada com a presença de bactérias no ensaio. A presença de bactérias aumentou a quantidade de íons férricos na solução o que implica o aumento da razão  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$ , correspondendo a um maior potencial de oxi-redução. A extração de ferro nas colunas com nutrientes sintético e ureia foram semelhantes, apresentando um leve aumento na extração na coluna utilizando meio sintético. Quanto à utilização de água de circulação, a EDR4 com o nutriente sintético foi a condição que apresentou melhor extração. A diferença de extração da coluna com nutriente sintético e água de circulação EDR4 e a coluna estéril foi de  $53g.L^{-1}$ , uma diferença significativa da atuação das bactérias. Os resultados obtidos nas análises de cor foram semelhantes aos resultados obtidos nas análises de ferro total, onde os resultados na coluna estéril foram baixos e nas colunas com nutrientes foram superiores. A oxidação da pirita, com a consequente solubilização do ferro e sulfato, foi superior nas colunas com nutrientes tanto na coluna com meio “9K” quanto com a ureia. Já em comparação com a coluna estéril, pode-se perceber que esta apresenta valores de ferro e sulfato cerca de quatro vezes inferior àqueles encontrados, quando foram utilizados os nutrientes. O nutriente sintético fornece o suplemento completo de nutrição para as bactérias acidofílicas, porque além de nitrogênio possui outros elementos utilizados pelas bactérias como co-fatores e formação da estrutura celular e genética da bactéria. Nesse sentido, a ureia pode ser deficiente e existir a necessidade de complementação nutricional, o que acabaria aumentando os custos;

4. Diante do resultado apresentado no estudo de bancada foram estipuladas algumas condições para utilização do processo na planta piloto. A condição idealizada possui as seguintes características: condições ácidas de processo (abaixo de 2,0), utilização de bactérias acidofílicas, nutrientes 9K, temperatura na faixa de 28°C a 35°C, água de circulação EDR4 (água natural não compromete os resultados), aeração natural e circulação durante 24h. As condições operacionais do processo de biolixiviação também foram determinadas durante a operação da planta piloto sendo as seguintes: utilização da granulometria do pátio industrial (até 25mm), lavagem do rejeito antes do processo de biolixiviação para remoção dos finos de carvão, geração de lotes de sulfato férrico a cada 9 semanas de biolixiviação (início de nova batelada com adição de água de circulação, inóculo e nutrientes), afogamento da pilha de biolixiviação uma vez ao dia durante 30 minutos para homogeneização da pilha, construção da pilha no formato de pirâmide dentro do reator, sistema impermeabilizado evitando vazamentos e relação de massa de rejeitos com volume de solução de circulação de 1:1;

5. Em relação ao equilíbrio  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ , quanto maior o número de bactérias, maior o potencial redox e maior a extração de ferro, sendo que, a maior porcentagem de ferro total permanece na forma de íons  $\text{Fe}^{3+}$ . Ainda, quanto menor a quantidade de bactérias, menor o potencial redox, menor a extração de ferro e maior a porcentagem de íons  $\text{Fe}^{2+}$ ;
6. Com a escala piloto foi possível obter um concentrado férrico que chegou a uma relação  $\text{Fe}/\text{SO}_4$  de 0,67 e na condição controle de 0,47. Na condição controle foi extraído cerca de 7% de pirita e na condição ideal 16, 2%. Seriam necessários 6,2 ciclos para esgotar a pirita do rejeito na condição ideal comparado à 13 ciclos na condição controle. A velocidade de formação de produto foi o dobro (0,02g.h.L) em relação à controle.
7. A comparação de diferentes escalas de processo quanto à extração de ferro e sulfato mostraram que os ensaios em escala de bancada apresentaram resultados superiores que os resultados obtidos em escala piloto e industrial. Esta condição já era esperada, pois, devido ao aumento de escala de produção, ocorre diminuição na produtividade. Utilizando o Teorema Pi foi observado que a geometria da pilha e o diâmetro da partícula estão diretamente ligados à extração de ferro no processo, porém, este estudo exige maior aprofundamento.
8. Os extratos lixiviados, quando filtrados e evaporados, atingem a concentração desejável de ferro para a comercialização como coagulante que é cerca de  $120 \text{ g.L}^{-1}$ . O processo de *spray drier* é utilizado para obter o sulfato férrico em forma sólida  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  (sal de ferro altamente higroscópico). Foram criadas duas marcas para o sulfato férrico. O coagulante recebeu o nome de *Sulfaclean* e o agente ácido para a mineração *Biohyextract* com possível comercialização;
9. O sulfato férrico produzido mostrou-se eficaz no tratamento de água do Rio Guandu atendendo aos parâmetros exigidos pela Portaria Brasileira 2.914/2011 do Ministério da Saúde. Processando cerca de 3.200 t/mês de rejeito de carvão contendo pirita seria possível abastecer com água tratada uma cidade com porte de 200.000 habitantes.
10. Embora o processo bio-hidrometalúrgico seja lento, comparado a outros processos, ele é de baixo custo, sendo possível o retorno do investimento com os produtos adquiridos à base

de ferro e ainda tem papel importante na seletividade de extração e processos de cunho ambiental.

11. A rota bio-hidrometalúrgica de produção de sulfato férrico a partir da pirita pode resultar na diminuição do consumo de ácido sulfúrico, sucata ferrosa ou minério de ferro. Ainda, pode trazer benefícios econômicos para as Empresas Carboníferas e diminuir o potencial poluidor decorrentes da extração de carvão mineral;

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Desenvolver sistemas inteligentes de monitoramento e controle do reator de biolixiviação em parceria com a automação industrial;
- Realizar estudos nanotecnológicos que possam contribuir para o controle mais fino do bioprocessos;
- Estudar detalhadamente o processo anaeróbio, atuação dos micro-organismos e sua aplicação em diversas áreas da indústria de mineração. Também deve ser melhor estudado o metabolismo dos micro-organismos durante a biorredução;
- Utilizar de tecnologia de DNA recombinante, construindo organismos geneticamente modificados com características que confirmam melhor adaptação ao processo e, consequentemente, aumentem a geração de íons férricos e ferrosos em menor tempo;
- Consolidar técnicas moleculares para a identificação de micro-organismos presentes em reatores de biolixiviação;
- Estudar possíveis extroenzimas produzidas pelos organismos acidofílicos.

## PRODUÇÃO CIENTÍFICA ASSOCIADA À TESE

- COLLING, A. V.; MENEZES, J. C. S. S.; SCHNEIDER, I. A. H. Bioprocessing of pyrite concentrate from coal tailings for the production of the coagulant ferric sulphate. *Minerals Engineering*, v. 24, p. 1185-1187, 2011.

AMARAL FILHO, J. R.; FIRPO, B.; COLLING, A. V.; VIGÂNICO, E. M.; SCHNEIDER, C.; SCHNEIDER, I. A. H. Integrated Mine Tailings Management: Possibilities for Coal Tailing Deposits in Santa Catarina. In: *Sustainability through Minerals Resource Conservation & Recycling 11*, 2011, Falmouth. *Sustainability through Minerals Resource Conservation & Recycling 11*, 2011.

- VIGÂNICO, E. M.; COLLING, A. V.; SILVA, R. A.; SCHNEIDER, I. A. H. Biohydrometallurgical/UV production of ferrous sulphate heptahydrate crystals from pyrite present in coal tailings. *Minerals Engineering*, v. 24, p. 1146-1148, 2011.

- COLLING, A. V.; MENEZES, J. C. S. S.; FAGUNDES, R. M. S.; SCHNEIDER, I. A. H. Estudos Aplicados no Tratamento de Água e Esgotos com um Coagulante Férrico Produzido a partir da Pirita Presente em Rejeitos de Carvão. In: *14º ENaSB Silubesa e Simpósio Luso- Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2010, Porto. *Adaptação e Sustentabilidade de Serviços de Abastecimento de Água e de Águas Residuais*, 2010.

- COLLING, A. V.; MENEZES, J. C. S. S.; SILVEIRA, P. S.; SCHNEIDER, I. A. H. Biohydrometallurgical Process to Produce the Coagulant Ferric Sulphate from the Pyrite Present in Coal Tailings. In: *International Mine Water Association 2010 Symposium*, 2010, Sydney, Nova Scotia. *Mine Water & Innovative Thinking*, 2010.

- FAGUNDES, R. M. S.; MENEZES, J. C. S. S.; COLLING, A. V.; SCHNEIDER, I. A. H. Tratamento de efluentes de aterros sanitários com coagulantes produzidos a partir da pirita presente em rejeitos de carvão - estudo de caso de um pequeno aterro no município de Campo Bom, RS, Brasil. In: *14º ENaSB Silubesa e Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2010, Porto. *Adaptação e Sustentabilidade de Serviços de Abastecimento de Água e de Águas Residuais*, 2010.

- COLLING, A. V.; MENEZES, J. C. S. S.; SCHNEIDER, I. A. H. Bioprocessing of Coal Tailing for the Production of the Coagulant Ferric Sulphate. In: *5th International Symposium on Bio & Hydrometallurgy*, 2010, Cape Town. *BioHydromet'10*, 2010.

- 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 Tecnologias Limpas V Fórum Internacional de Produção mais Limpa, 2009, Porto Alegre - RS. Desenvolvimento de Tecnologia Alternativa para a Produção do Coagulante Sulfato Férrico, 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 Sulfato Férrico. In: 3º Seminário Regional Sul de Resíduos Sólidos, 2009, Caxias do Sul - RS. Utilização dos Resíduos do Beneficiamento de Carvão para a Produção de Sulfato Férrico, 2009.
- COLLING, A. V.; MENEZES, J. C. S. S.; HIDALGO, G. E. N.; SCHNEIDER, I. A. H. Biolixiviação de Rejeitos de Carvão para a Produção do Coagulante Sulfato Férrico. In: XXIII Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 2009, Gramado - RS. Biolixiviação de Rejeitos de Carvão para a Produção do Coagulante Sulfato Férrico, 2009.
- PELISER, D. Produção do coagulante sulfato férrico para o tratamento de águas e efluentes a partir da pirita presente em rejeitos de carvão. Trabalho de conclusão do curso de Engenharia Ambiental na Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC. 2011.
  
- Prêmio Excelência e Qualidade Brasil 2013. BRASLIDER - Associação Brasileira de Liderança.
- Prêmio Ciência e Inovação Santander Universidades, Edição 2012, Categoria Biotecnologia.
- Aluna de doutorado selecionada no Programa de Estímulo à Inserção Internacional de Estudantes de Pós-graduação da UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Complutense de Madri/Espanha.
- Para este trabalho, foi montado o laboratório de microbiologia no LTM-UFRGS mostrado na Figura 118. Os recursos orçamentários utilizados para a montagem foram adquiridos através dos seguintes projetos:
  1. Inovações Tecnológicas para o Aproveitamento Integral dos Rejeitos do Beneficiamento de Carvão Mineral. Edital nº 12/2009, Tendências Tecnológicas;

2. Estudos Avançados de Biolixiviação para o Aproveitamento da Pirita Presente em Rejeitos de Carvão Mineral na Produção de Coagulantes Férricos. Edital MCT/CNPq/FNDCT N ° 020/2009 - Formação de Recursos Humanos em Produção e Conversão de Combustíveis Sólidos.



Figura 106. Laboratório de microbiologia montado no LTM-UFRGS ao longo da tese de doutorado.

## 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: 2004b.
- 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.
- ALEXANDRE, N. Z. Influência da mineração do carvão mineral na qualidade das águas superficiais – revisão bibliográfica. *Revista Tecnol. Ambiente*, Criciúma, v. 2, n.1, p. 53-61, jan./jun. 1996.
- [dspace.comiteitajai.org.br/bitstream/123456789/449/1/Influ%C3%Aancia%20da%20minera%C3%A7%C3%A3o%20pdf.pdf](http://dspace.comiteitajai.org.br/bitstream/123456789/449/1/Influ%C3%Aancia%20da%20minera%C3%A7%C3%A3o%20pdf.pdf). Acesso em: 03 jun. 2011.
- 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.
- APHA - American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th Edition. Washington D.C: APHA-AWWA-WEF, 1134p., 2005

- ASTM - American Society for Testing and Material, Standard Test Method For Accelerated Weathering Of Solid Materials Using A Modified Humidity Cell. ASTM D 5744, 1996, 13p.
- ATKINS, P.W. Química Física: 6a. ed. Barcelona : Omega, 1018p. 1999.
- BAKER, 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.
- BALLESTER, A. Biohidrometalurgia y Materiales: Algunas ideas para el Futuro. Departamento de Ciencia de Materiales y Ingeniería Metalúrgica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid. Palestra realizada na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (PPG3M), 2012.
- BECK, J.V. The Role Of Bacteria In Copper Mining Operations. Biotechnology and Bioengineering 9, 487–497, 1967.
- 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.
- BEVILAQUA, D., SUEGAMA, P.H., GARCIA, O. Jr., BENEDETTI, A. V. Electrochemical Studies of Sulphide Minerals in the Presence and Absence of *A. ferrooxidans*. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- BIAGIOLA, S.; SOLSONA, J.; MILOCCO, R. Estimation of Kinetic Rates in Batch *Thiobacillus ferrooxidans* cultures. Journal of Biotechnology, v. 84, p. 13-25, 2000.
- Biotecnologia. Entrada Secundária: Corrosão Microbiológica. 1ed. São Paulo: Edgard Blücher v. 5, 1975.
- BOND, P.L.; SMRIGA, S.P.; BANFIELD, J.F. *Phylogeny of microorganisms populating a thick, subaerial, predominantly lithotrophic biofilm at an extreme acid mine drainage site.* Appl. Environ. Microbiol. 66, 3842 – 3849, 2000.
- 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.
- BOUFFARD, S. C.; DIXON, D. G. Modeling pyrite bioleaching in isothermal test columns with the HeapSim model. Hydrometallurgy 95- 215-226, 2009.

- BOX, J. C., PROSSER, A. P., A general model for the reaction of several minerals and several reagentes in heap and dump leaching. *Hydrometallurgy*, 16, 77-92.
- BOX, J. C., YUSUF, R., Simulation of heap an dump leaching process. *Proceedings of the Symposium on Extractive Metallurgy*, Melbourne, Australia, 184.
- 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.
- BRIDGE, T. A. M.; JOHNSON, D. B. Reduction of Soluble Iron and Reductive Dissolution of Ferric Iron-Containing Minerals by Moderately Thermophilic Iron-Oxidizing Bacteria. *Environmental Microbiology*, 1998.
- BRIERLEY, C. L. Biohydrometallurgical prospects. *Hydrometallurgy*. 104- 324-328, 2010.
- 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.
- BUHRE, B.J.P.; ELLIOTT, L.K.; SHENG, C.D.; GUPTA, R.P.; Wall, T.F. Oxy-fuel combustion technology for coal-fired power generation. *Progress in Energy and Combustion Science*; 2005: 31: 283-307.
- CASTRO, L., GONZÁLEZ, F. BALLESTER, A., BALBOA, C. G., MUÑOZ, J. A., BLÁZQUEZ, M. L. Biohydrometallurgical Applications of iron Bioreduction. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- 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.
- CASTILHOS, C. C.; FERANDES, F. R. C. in Recursos Minerais e Sustentabilidade Territorial: grandes minas Francisco Rego Chaves Fernandes, Maria Amélia Rodrigues da Silva Enríquez, Renata de Carvalho Jimenez Alaminio Rio de Janeiro Cetem MCTI, 2011 Volume I 343p.
- CARRETERO, E., SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G. Bioleaching of Metal Sulphides Ores and Concentrates. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- CASSA, J. C., DE ANDRADE, L. L. R. P., Screening variables in complex systems: A comparative study, Proceedings of the XX International Mineral Processing Congress, Aachen, Germany, Vol. 1, p. 433-444.
- CHÁVEZ, P., OBREQUE, J., VERA., J., QUIROGA, D., CASTRO, J. Microorganisms Counting Techniques in Hydrometallurgy. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.

- 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/MCT. Recuperação Ambiental de Áreas Mineradas. Disponível em: <http://www.cetem.gov.br/publicacao/CTs/CT2004-154-00.pdf>.
- CNI – Confederação Nacional de Indústria. Uso da água no setor industrial Brasileiro: matriz de coeficientes técnicos. Brasília: CNI, 2013. 31p. ISBN 978-85-7957-083-4.
- COLLING, A. V. Oxidação da Pirita por Via Bacteriana em Rejeitos de Carvão para a Produção de Sulfato Férrico. Dissertação de Mestrado defendida no Programa de Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010.
- 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. Qualificação de doutorado defendida no Programa de Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2012.
- Comunicação pessoal Carbonífera Criciúma. Criciúma, Santa Catarina.
- 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](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., ROYA, A., KOSCHORRECKB, M., MANDALC, S. M., WENDT-POTTHOFFB, K., BHATTACHARYAA, 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 ANDRADE, L. L. R. P., Simulação da lixiviação em pilhas de minérios auríferos. Dissertação de mestrado da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 235p. 1992.
- DE ANDRADE, L. L. R. P., VILLAS-BÔAS, R. C., KOHLER, H. M., Análise de sensibilidade de modelos usando as técnicas de cluster analyses e Plackett-Burman, In: XVI Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Hidrometalurgia, Rio de Janeiro, Brasil, 1995.
- DE ANDRADE, L. L. R. P., VILLAS-BÔAS, R. C., KOHLER, H. M., Mathematical Modeling of Gold Ore Heap Leaching, International Symposium on Gold Recovery, Montreal, Canadá, CIM (in press). 1998.
- DE LUCA, S. Medidas Corretivas E Preventivas De Impactos Da Mineração De Carvão. In: Carvão Mineral. Volume II. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1991.
- DEMERGASSO, C., SOTO, P., ZEPE, V., GALLEGUILLOS, P. Scientific Monitoring of Industrial Bioleaching Process. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- DIXON, D. G.; HENDRIX, J. L. A Mathematical model for heap leaching of one or more solid reactants from porous ore pellets. Metallurgical transactions. N° 24B, p. 1087-1102. 1993.
- 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. *Geomicrobiology*. Marcel Dekker. New York. NY. 350-370, 1990.
- 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.
- ENGLERT, A. H; RUBIO, J. Beneficiamento de rejeito piritoso do processamento de carvão mineral por elutriação aquosa. In: III Congresso Nacional de Carvão Mineral, Gramado/RS, 2011.
- 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.
- FERNANDES, F. R. C.; ENRIQUEZ, M. A. R. S.; ALAMINO, R. C. J. Recursos Minerais e Sustentabilidade Territorial: Arranjos Produtivos Locais. Rio de Janeiro Cetem MCTI, 2011 Volume II 180p.
- 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.; SCHWARZBOLD, 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.
- FROMENT, G. F. BISCHOFF, K. B. Chemical Reactor Analysis and Design, John While an Sons, New York, 765p. 1979.
- FIRPO, B. Comunicação pessoal. 2012. Prévia da tese de doutorado prevista para 2014.
- 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.). *Biotechnology Industrial-*

- Processos Fermentativos Industriais. 1ed. São Paulo: Edgard Blücher Editora, v. 3, p. 485-512, 2001.
- GIAVENO, M. A., URBIETA, M. S., DONATI, E. Mechanisms of Bioleaching Basic Understanding and Possible Industrial Implications. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- GINSBURG, M. A.; KARAMANEV, D. Experimental study of the immobilization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* on carbon based supports. *Biochemical Engineering Journal*, 36 294-300, 2007.
- 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](http://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.
- GONZÁLES, C. L. F., BALBOA, C. G., BALLESTER, A., BLÁZQUEZ, M.L., MUÑOZ, J.A. Bioreduction of iron compounds as a possible clean environmental alternative. *Minerals Engineering*, v.24, 10-18, 2011.
- HACKL, R. P.; *Biological Mineralogical Interactions*; Ottawa, p. 25-143, 1997.
- HALLBERG, K. B.; TORIL, E. G.; JOHNSON, D. B. *Acidithiobacillus Ferrooxidans*, sp. Nov.; facultatively anaerobic, psychrotolerant iron-, and sulfur-oxidizing acidophiles isolated from metal mine-impacted environments. *Extremophiles*, 14:9-19, 2010.
- HAMMOND, A. Environmental Indicators: A Systematic Approach to Measuring and Reporting on Environmental policy Performance in the Context of Sustainable Development, World Resources Institute, p.11.
- 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.

- HARVEY, P.I., GRAAFF, Q., PRETORIUS, L. Arsenic Oxidation and Stabilization of Refractory Concentrates. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- 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. The Mechanism Of Bacterial Action In The Leaching Of Pyrite By *Thiobacillus Ferrooxidans* An Electrochemical Study. Journal of The Electrochemical Society 146, 2906–2912. 1999.
- HOSSEINI, T. R.; KOLAHDOOZAN, 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. Thermophilic microbial treatment of precious metal ores. U.S. Patent No. 4,729,788. 1988.
- IBS 20° Simpósio Internacional de Biohidrometalurgia, Antofagasta, Chile. Gecamim (Conferencias para La Minería), 2013. <http://www.ibs2013.com>.
- 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](http://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.
- KARGI, F.; WEISSMAN, J. G.; A Dynamic Mathematical Model for Microbial Removal of Pyritic Sulfur from Coal. Biotechnology and Bioengineering. Vol. XXVI, 604-612, 1984.
- KHAN, S.; HAQ, F.; HASAN, F.; SAEED, K; ULLAH, R.; Grown and Biochemical Activities of *Acidithiobacillus thiooxidans* collectes from Black Shale. Journal of Microbiology Reseach, 2 (4): 78-83, 2012.
- 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.
- KOHR, W. Biodegradation of Crude Oil Bearing Soils. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a pratical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- KONDRAT'EVA, T. F.; PIVOVAROVA, T. A.; BULAEV, A.G.; MELAMUD, V. S.; MURAVYOV, M. I.; USOLTSEV, A. V.; VASIL'EV, E. A. Percolation bioleaching of copper and zinc and gold recovery from flotation tailings of the sulfide complex ores of the Ural region, Russia. Hydrometallurgy 111-112 - 82–86, 2012.

- 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.
- LEE, J., Biooxidation of Gold Ores. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- 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.
- LIMA. L. R. P. A., BÔAS, R. C. V., KOHLER, H. M. Modelagem e simulação do processo de lixiviação em pilha de minérios auríferos voltados ao desenvolvimento de critérios de sustentabilidade. Comunicação técnica publicada no livro: Indicadores de Sustentabilidade Para La Industria Extractiva Mineral – ISBN 85-7227-164-3-CDD 333.7153, pg 231 -251, Outubro 2002, CNPq/CYTED/UNIDO, Rio de Janeiro, Brasil.
- 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.
- MADEIRA, V. S. Aproveitamento de resíduos da mineração de carvão para fabricação de produtos com elevado valor agregado. Tese de doutorado - Universidade Federal de Santa

Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2010.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. Brock Biology of Microorganisms. 9ed. Upper Saddle River: Prentice-Hall, xix, 1044 p, 2000.

MAGENA, 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.

MELAMED, R., CARA, D.V.C., SOBRAL, L.G.S., LOUREIRO, F.L., GASPAR, J.C. Application of Biotechnology to Enhance Nutrient Bioavailability of Rock Powder for Crop Production Systems: A Methodological Approach. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., *Biohydrometallurgical process: a practical approach*. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.

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 Microorganismos 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.
- MIKKELSEN, D.; KAPPLER, U.; WEBB, R.I., RASCH, R., McEwan, Sly, L. I. Visualisation of pyrite leaching by selected thermophilic archaea: Nature of microorganism-ore interactions during bioleaching. Hydrometallurgy, 88, 143–153, 2007.
- 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. Bioleaching of a cobalt-containing pyrite in stirred reactors: a case study from laboratory scale to industrial application. In: Rawlings, D.E., 2007.
- MOYANO, A.G.; TORIL, E. G., AGUILERA, A.; AMILS, R. Prokaryotic community composition and ecology of floating macroscopic filaments from an extreme acidic environment, Río Tinto (SW, Spain). Systematic and Applied Microbiology 30 - 601–614, 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.

- OLSON, G. J., HARVEY, T., J. Biooxidation Amenability Testing. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- 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.
- PANDA, S.; SANJAY, K.; SUKLA, L. B.; PRADHAN, N.; SUBBAIAH, T. MISHRA, B. K.; PRASAD, M. S. R.; RAY, S. K.; Insights into heap bioleaching of low grade chalcopyrite ores – A pilot scale study. Hydrometallurgy 125-126; 157-165, 2012.
- 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.
- PETERSEN, J.; DIXON, D. G. Modelling zinc heap bioleaching. Hydrometallurgy 85- 127-143, 2007.
- 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.
- PRONK, J. T.; BRUYN, J. C.; BOS, P.; KUENEN, J.G. Anaerobic Growth of Thiobacillus ferrooxidans. Environmental Microbiology. Vol. 58, No. 7, 1992.
- PROSSER, A. P., Simulation of Gold heap leaching as na aid to ore-process development, Proceedings of the Precious Metal's, p. 121-135. 1988.
- RAMÍREZ, M., ALMENGLO, F., FERNÁNDEZ, M., GÓMEZ, J.M., CARTERO, D. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- 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.
- Rede de Carvão: Rede de pesquisa, desenvolvimento e inovação do carvão mineral. Acesso ao site: [http://www.ufrgs.br/rede\\_carvao/index.html](http://www.ufrgs.br/rede_carvao/index.html) em 25 de fevereiro de 2013.
- 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.
- Rio Tinto Espanha e Iron Mountain. Acesso na internet em junho de 2013. [http://www.brr.cr.usgs.gov/projects/GWC\\_chemtherm/ironmtn.htm](http://www.brr.cr.usgs.gov/projects/GWC_chemtherm/ironmtn.htm).
- RIVADENEIRA, J., Challenges in Practicing the Bioleaching Process. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- RODRÍGUES, 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.
- RODRÍGUES, 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.

- RODRÍGUES, 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.
- RODRÍGUES, Y. B. A.; BLÁZQUEZ, M. L.; GONZÁLEZ, F.; MUÑOZ, J. A. New Information on the Pyrite Bioleaching Mechanism at Low and High Temperature. *Hydrometallurgy*, v 1, p. 37-46, 2003.
- RODRÍGUES, 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. Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. *Applied Microbiological Biotechnology* 63, 239–248. 2003.
- ROMAN, R. J., BENNER, B. R., BECKER, G. W., Diffusion model for heap leaching and its application to scaleup, p. 247-256. 1974.
- 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.
- SANCHEZ-CHACON, LAPIDUS. Model for heap leaching of gold ores by cyanidation, *Hydrometallurgy*, nº44. P. 1-20.
- SAND, W., GEHRKE, T., JOZSA, P. G., SCHIPPERS, A. (Bio) Chemistry of Bacterial Leaching - Direct vs. Indirect Bioleaching. *Hydrometallurgy*, v. 59, p.159-175, 2001.

- SAND, W.; ROHDE, K.; SOBOTKE, B., ZENNECK, C. Evaluation of *Leptospirillum ferrooxidans* for Leaching. Applied and Environmental Microbiology, v. 58(1), p. 85-92. 1991.
- SANTOS, C. R.; AMARAL F. J.; SCHNEIDER, I. A. H. ; TUBINO, R. M. C. Produção de Agregados Miúdos para Concreto com Rejeitos da Mineração de Carvão. In: III Congresso Brasileiro de Carvão Mineral, 2011, Gramado. Anais. Porto Alegre: UFRGS, 2011.
- 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.
- SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A; AQUARONE, E. BORZANI, W. Biotecnologia Industrial-Engenharia Bioquímica, volume 2. Editora Edgard Blücher Ltda.São Paulo, 2001.
- 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](http://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. 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.
- SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., *Biohydrometallurgical process: a practical approach*. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- 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 JIYUAN, 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.

- TCHOBANOGLIOUS, 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, 2000.
- 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.
- WALTON, J.R. Aluminum in Hippocampal Neurons from Humans with Alzheimer's Disease. NeuroToxicology, v. 27, p. 385-394, 2006.
- WATLING, H., Adaptability of Biomining Organisms in Hydrometallurgical Process. In: SOBRAL, L. G. S., OLIVEIRA, D. M., SOUZA, C. E. G., Biohydrometallurgical process: a practical approach. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2011, 324p.
- 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.
- WHITE, J.M. *Fluid Mechanics*, McGraw-Hill, 1999, 4ª ed., New York.
- 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 ( $\text{FeS}_2$ ), Pirrotita ( $\text{Fe}_{1-x}\text{S}$ ) e Molibdenita ( $\text{MoS}_2$ ). *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 Association : Acessado em 19 de fevereiro de 2013.  
<http://www.worldcoal.org/resources/coal-statistics/> 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  $\text{SO}_2$ . Cap. 18. do livro *Carvão e Meio Ambiente – Centro de Ecologia UFRGS – Editora da Universidade – UFRGS*, p. 641-648, 2000.
- ZEN, L.D.; GOMES, G.M.F.; VILELA, A.C.F.; OSÓRIO, E. Utilização do processo de oxidação em planta piloto de combustão em leito fluidizado borbulhante visando a recuperação de  $\text{CO}_2$ . In: 3o Congresso Brasileiro de Carvão Mineral, 2011, Gramado, RS.
- ZETTLER, L. A. A., ZETTLER, E.R.; THEROUX, S. M.; PALACIOS, C.; AGUILERA, A.; AMILS, R. Microbial community structure across the tree of life in the extreme Rio Tinto. *The ISME Journal* 5, 42-50, 2011.
- ZHANG, L. Bioleaching of Pyrite by *A. ferrooxidans* and *L. ferriphilum*. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, v. 18, p. 1415-1420, 2009.

ZLOKARNIK, M. Scale-up in Chemical Engineering. Second, Completely Revised and Extended Edition, 2006.