

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental

Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental

ALBERTINO FRELLO

**AVALIAÇÃO DA BIODISSULFURIZAÇÃO DO CARVÃO MINERAL
DE SANTA CATARINA POR INTEMPERISMO NATURAL, LIXIVIAÇÃO
COM ÁGUA ÁCIDA DE MINA E INOCULAÇÃO MICROBIANA**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Santa Catarina, para obtenção do
título de Mestre em Engenharia Ambiental

Orientador: Henry Xavier Corseuil

Co-orientador: Fernando S. P. Sant'anna

FLORIANÓPOLIS
SANTA CATARINA - BRASIL
JUNHO, 1998

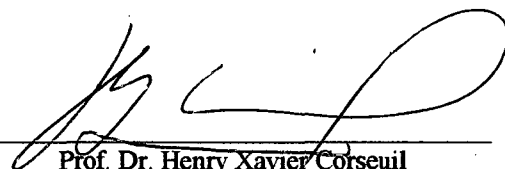
“AVALIAÇÃO DA BIODISSULFURIZAÇÃO DO CARVÃO MINERAL DE SANTA CATARINA POR INTEMPERISMO NATURAL, LIXIVIAÇÃO COM ÁGUA ÁCIDA DE MINA E INOCULAÇÃO MICROBIANA”.

ALBERTINO FRELLO

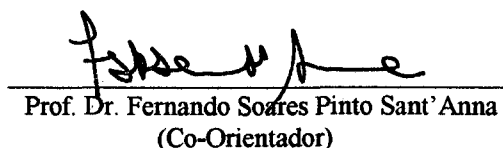
Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de

MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL
na Área de Tecnologias de Saneamento Ambiental.

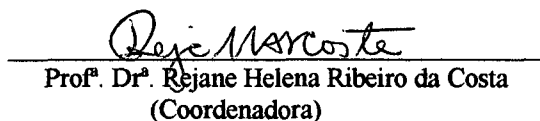
Aprovado por:



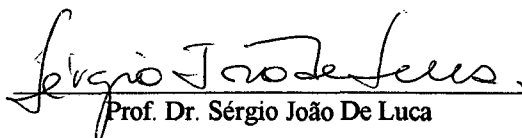
Prof. Dr. Henry Xavier Corseuil
(Orientador)



Prof. Dr. Fernando Soares Pinto Sant'Anna
(Co-Orientador)



Prof. Dr. Rejane Helena Ribeiro da Costa
(Coordenadora)



Prof. Dr. Sérgio João De Luca

FLORIANÓPOLIS, SC - BRASIL
JUNHO DE 1998

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com a colaboração de várias instituições e profissionais de diferentes áreas da ciência. A parte de análises para controle dos parâmetros foram realizadas em dois laboratórios:

- Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFSC.
- Centro Industrial Rio Deserto (CIRD) - Grupo Empresarial Companhia Carbonífera Urussanga (CCU).

Agradeço ao Fundo Nacional de Meio Ambiente pela bolsa concedida para realizar este trabalho e ao Grupo Empresarial CCU, pela colaboração nos estudos de campo.

Várias pessoas contribuíram de forma significativa para a realização deste trabalho, a todas elas o meu sincero agradecimento:

Aos professores Dr. Henry Xavier Corseuil (UFSC) e Dr. Fernando S. P. Sant'ana (UFSC) pela orientação e oportunidade de realizar um trabalho desta natureza.

Ao professor Dr. Sérgio J. De Luca (IPH) pelo acompanhamento, sugestões e recomendações de grande valia para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos colegas do curso de Eng. Sanitária e Ambiental: Janaína A. Souto, Júlio C. S. Cardoso e Luciano B. da Luz pela colaboração no desenvolvimento dos estudos em laboratório.

Aos Eng^{os} Marco Antônio da S. Nunes, Cesar De Lucca, Rosimeri V. Redivo e Francisco May (CCU) pelo apoio na construção, manutenção e controle dos parâmetros de processo da planta piloto de lixiviação microbiológica.

Aos professores da pós-graduação pela contribuição e enriquecimento de conteúdo transmitido durante o período de créditos.

Ao Mestre em Eng Ambiental Rui Carlos Ferreira dos Santos (UFSC) pelo incentivo e constante colaboração.

À Mestra em Eng. Ambiental Marilda Fernandez (UFSC) pelas conversas, sempre produtivas, em momentos decisivos.

À Mestra em biologia Marta Montenegro pelos primeiros passos para a familiarização com a microbiologia.

Ao Mestre em Eng Ambiental Hugo A. Gosmann (EPAGRI) pelo apoio em várias fases.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, do LIMA, e demais amigos e companheiros com os quais contrai muitas dívidas de gratidão por tão generosamente terem me ajudado de diversas maneiras neste trabalho.

À banca examinadora pela avaliação e sugestões.

À Célia por ser uma grande companheira
Aos meus irmãos pelo incentivo constante
À minha mãe por seu espírito de compreensão dos fatos cotidianos
A DEUS por tudo

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT.....	vi

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO.....	1
-------------------	---

CAPÍTULO II

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 O papel do carvão mineral no contexto energético e os problemas relacionados à sua extração e utilização.....	4
2.2 Alternativas para controle da poluição provocada pela queima do carvão.....	9
2.3 Lixiviação microbiológica de sulfeto minerais	9
2.4 O ciclo biogeoquímico do enxofre e os microrganismos envolvidos.....	11
2.5 Participação das bactérias oxidantes do ferro e enxofre no processo de lixiviação microbiológica.....	12
2.6 Outros microrganismos que podem estar envolvidos no processo	15
2.7 Energética e metabolismo do carbono em organismos quimiolitotróficos oxidantes do ferro e enxofre.....	16
2.8 Mecanismos de lixiviação microbiana.....	18
2.9 Fatores que influenciam na biolixiviação dos sulfeto minerais.....	21
2.9.1 pH e potencial Redox.....	21

2.9.2	Temperatura	22
2.9.3	Disponibilidade de oxigênio e gás carbônico	23
2.9.4	Tipo de sulfeto mineral e granulometria.....	24
2.9.5	Concentração de células, densidade de polpa e sólidos.....	24
2.9.6	Regime de fluxo, grau de agitação e trauma celular.....	25
2.9.7	Íons, matéria orgânica em solução e outros fatores inibidores.....	26
2.10	Cinética de dessulfurização microbiana.....	27

CAPÍTULO III

3	MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1	Estudos de laboratório	28
3.1.1	Materiais	28
3.1.2	Reagentes	29
3.1.3	Método de obtenção da cultura e preparo do inóculo	29
3.1.4	Método de multiplicação e concentração do inóculo	30
3.2	Estudos em Escala Piloto	31
3.2.1	Materiais	31
3.2.2	Reagentes	33
3.2.4	Metodologia de análises para controle dos parâmetros do processo	34
3.2.3	Metodologia de construção e operação do sistema de biolixiviação.....	35

CAPÍTULO IV

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1	Experimentos de laboratório.....	39

4.1.1	Crescimento e cultivo em fermentador de 3,0 Litros	39
4.1.2	Cultivo em reservatório 300 Litros e concentração do caldo bacteriano.....	41
4.2	Experimentos em escala piloto	42
4.2.1	Introdução	42
4.2.2	Módulo Nº 1 - Lixiviação por intemperismo natural.....	43
4.2.3	Módulo Nº 2 - Lixiviação com drenagem ácida de mina	45
4.2.4	Módulo Nº 3 - Lixiviação com adição de microrganismos.....	53
4.2.5	Conteúdo de enxofre analisado em diferentes granulometrias.....	59
4.2.6	Comparação dos resultados da remoção do enxofre ocorrida nos três módulos.....	61

CAPÍTULO V

5	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	66
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
	APÊNDICE A.....	83
	APÊNDICE B.....	90
	APÊNDICE C.....	114

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Carvão na Bacia do Paraná.....	5
Figura 2	Mecanismos pelos quais o dióxido de enxofre e os produtos de sua oxidação podem ser removidos da atmosfera.....	7
Figura 3	Esquema simplificado de um sistema de biolixiviação.....	11
Figura 4	Fotomicrografia ilustrando a forma e aparência dos <i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	13
Figura 5	Fluxos de elétron nos <i>Thiobacillus</i>	17
Figura 6	Modelo da lixiviação bacteriana da pirita.....	20
Figura 7	Sistema de cultivo de <i>T. ferrooxidans</i> em com capacidade para 3,0 Litros.....	30
Figura 8	Sistema de cultivo e concentração de <i>T. ferrooxidans</i> com capacidade para 300 Litros.....	31
Figura 9	Esquema da planta de lixiviação microbiológica de carvão mineral.....	32
Figura 10	Resultados da quantificação de bactérias pelo NMP durante período de cultivo dos <i>T. ferrooxidans</i> no fermentador de 3,0 Litros.....	40
Figura 11	Variação de pH durante período de cultivo dos <i>T. ferrooxidans</i> no fermentador de 3,0 Litros.....	40
Figura 12	Resultados da quantificação de bactérias pelo NMP durante período de cultivo dos <i>T. ferrooxidans</i> no sistema de reservatórios com 300 Litros.....	41
Figura 13	Variação de pH durante período cultivo dos <i>T. ferrooxidans</i> no sistema de reservatórios com 300 Litros.....	42

Figura 14	Varição do enxofre total, pirítico, sulfático e orgânico do carvão de ensaio componente da pilha do módulo N ^o 1 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	44
Figura 15	Varição dos valores de pH da solução lixiviante do módulo N ^o 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	46
Figura 16	Varição dos valores de potencial redox da solução lixiviante do módulo N ^o 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	47
Figura 17	Varição de sulfatos na solução lixiviante do módulo N ^o 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	48
Figura 18	Varição do ferro total na solução lixiviante do módulo N ^o 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	49
Figura 19	Varição da acidez na solução lixiviante do módulo N ^o 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	50
Figura 20	Varição de cloretos na solução lixiviante do módulo N ^o 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	50
Figura 21	Varição do enxofre total, pirítico, sulfático e orgânico do carvão de ensaio componente da pilha do módulo N ^o 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	52
Figura 22	Varição dos valores de pH na solução lixiviante do módulo N ^o 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	54
Figura 23	Varição dos valores de Eh na solução lixiviante do módulo N ^o 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	54
Figura 24	Varição de sulfatos na solução lixiviante do módulo N ^o 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	55
Figura 25	Varição do ferro total na solução lixiviante do módulo N ^o 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	56

Figura 26	Varição da acidez na solução lixiviante do módulo N ^o 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	56
Figura 27	Varição de cloretos na solução lixiviante do módulo N ^o 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	57
Figura 28	Varição dos teores de enxofre total, pirítico, sulfático e orgânico do carvão de ensaio componente da pilha do módulo N ^o 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	58
Figura 29	Varição dos teores de enxofre total do carvão de ensaio do módulo N ^o 1 analisado com amostras em diferentes faixas granulométricas.	60
Figura 30	Varição dos teores de enxofre total do carvão de ensaio do módulo N ^o 2 analisado com amostras em diferentes faixas granulométricas.	60
Figura 31	Varição dos teores de enxofre total do carvão de ensaio do módulo N ^o 3 analisado com amostras em diferentes faixas granulométricas.	61
Figura 32	$\ln(C/C_o)$ versus t para enxofre total e pirítico do carvão de ensaio componente da pilha de carvão do módulo N.º 1 no período de redução dos teores de enxofre na planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	62
Figura 33	$\ln(C/C_o)$ versus t para enxofre total e pirítico do carvão de ensaio componente da pilha de carvão do módulo N.º 2 no período de redução dos teores de enxofre na planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	63
Figura 34	$\ln(C/C_o)$ versus t para enxofre total e pirítico do carvão de ensaio componente da pilha de carvão do módulo N.º 3 no período de redução dos teores de enxofre na planta piloto de dessulfurização microbiológica.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características Médias dos Carvões de Ensaio.....	33
Tabela 2	Características principais da drenagem ácida utilizada nos experimentos.....	33
Tabela 3	Quantificação de metais presentes na drenagem ácida utilizada nos experimentos.....	34
Tabela 4	Resultados da aplicação da cinética de primeira ordem sobre os valores de enxofre total e pirítico remanescentes dos carvões componentes dos módulos N ^{os} 1, 2 e 3, da planta piloto de dessulfurização microbiológica de carvão mineral.....	64
Tabela 5	Valores encontrados por meio da aplicação do modelo ANOVA e do TEST-T sobre o enxofre total remanescente nos carvões componentes das pilhas 1, 2 e 3.....	65

RESUMO

O carvão mineral é uma das principais reservas energéticas não renováveis do País; porém, a queima deste combustível fóssil vem sendo questionada devido aos problemas de emissões de gases na atmosfera. O dióxido de enxofre emitido, quando em contato com a umidade da atmosfera, é um dos principais causadores de chuvas ácidas. Entre as várias tecnologias disponíveis atualmente para diminuir as emissões de óxidos poluentes no ar; as de menores custos efetivos são as que procuram diminuir os teores de enxofre do carvão antes da combustão. Nesta categoria enquadra-se a dessulfurização microbiológica do carvão mineral. Esta tecnologia utiliza-se da ação de bactérias quimiolitotróficas acidófilas capazes de catalizar a solubilização do enxofre presente em sulfeto minerais. Porém uma das limitações do processo, dependendo das condições em que é aplicado, é sua relativa lentidão. O objetivo desta dissertação de mestrado foi de avaliar a aplicação da biolixiviação como técnica para redução dos teores de enxofre do carvão mineral em planta piloto, constituída de três módulos individuais de lixiviação, os quais possibilitaram o tratamento de carvões comerciais por meio de lixiviação por intemperismo natural, lixiviação com drenagem ácida de mina e lixiviação com drenagem ácida de mina inoculada com bactérias capazes de solubilizar a pirita presente no carvão. Em laboratório, foram desenvolvidas em reatores de batelada, culturas de bactérias *Thiobacillus ferrooxidans*, obtendo-se soluções de até $5,0 \times 10^{10}$ bactérias/mL, concentradas por ultrafiltração à $1,6 \times 10^{12}$ bactérias/mL, para posterior aplicação na planta piloto. Após a aplicação de cada tratamento aos carvões testados no experimento de campo, pode-se constatar um período de aclimação bacteriana comum de aproximadamente 60 dias a partir do qual iniciou-se uma redução gradativa nos conteúdos de enxofre. Obteve-se diminuições de 26 % do enxofre total e 31 % do enxofre pirítico com constantes taxas de $0,0020 \text{ dias}^{-1}$ e $0,0004 \text{ dias}^{-1}$, respectivamente, no módulo estudado com lixiviação por intemperismo natural. No módulo estudado com lixiviação por drenagem ácida de mina ocorreram diminuições de 29 % do enxofre total e 30 % do enxofre pirítico com constantes taxas de $0,0024 \text{ dias}^{-1}$ e $0,0011 \text{ dias}^{-1}$, respectivamente; e no módulo estudado com lixiviação por drenagem ácida de mina inoculada com a solução de microrganismos obtidas nos experimentos de laboratório ocorreram diminuições de 41 % do enxofre total e 52 % do enxofre pirítico com constantes taxas de $0,0032 \text{ dias}^{-1}$ e $0,0027 \text{ dias}^{-1}$, respectivamente. Análises em diferentes faixas granulométricas comprovaram que em carvões com granulometria menor aumenta a eficiência de remoção do enxofre no tratamento por biolixiviação. Análises comparativas por meio de dois métodos estatísticos distintos revelaram que as diferenças entre as três formas de tratamento aplicadas não foram significativas.

ABSTRACT

Coal is one of the main non-renewable energetic sources of Brazil. However, the burning of this fossil fuel has been questioned because of the problems relating to emission of gases into the atmosphere. Emitted sulfur dioxide, when in contact with the humidity of the atmosphere, is one of the main causes of acid rain. Among the various technologies currently available for reducing emissions of pollutant oxides into the air, the ones with smaller cost are those which seek for diminishing the sulfur content of coal before combustion. Falling into this category, there is the microbiological desulfurization of coal. This technology uses the catalytic action of quimiolitrofic acidophilic bacteria capable quickening the solubility of sulfur present in mineral sulfides. However, one of the limitations of the process, depending on the conditions it is applied, is its relative slowness. The objective of this master's theses was to assess the use of bioleaching as a technique for sulfur content reduction in coal. The study was carried out in a pilot plant constituted by three individual leaching modules which enabled the treatment for commercial coal by means of leaching by weathering, leaching with acid mine drainage, and leaching with acid mine drainage inoculated with bacteria capable of solubilizing the pyrite present in coal. In laboratory, bacterial cultures of *Thiobacillus ferroxidans* were developed in batch reactors, from which solutions of up to 5.0×10^{10} bacteria/mL were obtained and then concentrated through ultrafiltration to 1.6×10^{12} bacteria/mL for a later application to the pilot plant. After the application of each treatment to the types of coal tested in the field experiment, a common period of bacterial acclimation of about 60 days was verified, from which a gradual sulfur content reduction started. Reductions of 26% of total sulfur content and 31% of pyrite sulfur were obtained with constant rates of 0.0020 days^{-1} and 0.0004 days^{-1} respectively in the module studied with leaching by weathering. In the module studied with leaching by acid mine drainage, reductions of 29% of the total sulfur content and 31% of pyrite sulfur were obtained with constant rates of 0.0024 days^{-1} e 0.0011 days^{-1} respectively. In the module studied with leaching by acid mine drainage inoculated with a solution of microorganisms obtained from lab experiments, a reduction of 41% of the total sulfur content and 52% of pyrite sulfur were obtained with constant rates of 0.0032 days^{-1} and 0.0027 days^{-1} respectively. Analyses in different grain size ranges proved that, in treatment by leaching, the effectiveness of sulfur removal increases for coal types with a smaller grain size. Comparative studies by means of two distinct statistic methods reveled that the differences among the three forms of treatment applied were not significant.

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

As atividades humanas influenciam de forma muito fundamental as emissões de gases poluentes na atmosfera, uma vez que estas emissões dizem respeito a produção (geração de energia elétrica, refinarias, siderurgia, etc.) e uso de combustíveis fósseis (indústria, transporte, residências, etc.), mudanças de uso da terra (conversão de florestas em áreas agropecuárias, florestas plantadas, etc.), agricultura (criação de gado, produção de arroz, etc.) e outras atividades básicas (Meira Filho & Miguez, 1997). Controlar estas emissões em níveis que não sejam problemáticos ao meio ambiente é uma preocupação crescente em nível mundial.

Um dos principais combustíveis fósseis utilizados na geração de energia termelétrica e na produção de calor na indústria é o carvão mineral, porém o uso do carvão com altos teores de enxofre tem sido questionado como fonte energética por causa da formação de chuva ácida, considerada um dos maiores problemas atuais de poluição. Óxidos de enxofre emitidos por grandes termelétricas que utilizam o carvão como fonte de energia são convertidos, na atmosfera, a ácido sulfúrico o qual posteriormente se deposita via chuva em cidades, rios e florestas próximas ou distantes das fontes poluidoras (O'Neill, 1993).

A indústria de carvão mineral no País começou há cerca de 140 anos e não acompanhou o ritmo de expansão da economia, principalmente porque os carvões brasileiros têm baixo poder calorífico, muita cinza e alto teor de enxofre, o que exige processos de beneficiamento que oneram seus custos e os tornam pouco competitivos vis-à-vis outros energéticos. Estas limitações poderão perder importância na medida da existência e desenvolvimento de novas tecnologias mais apropriadas a sua queima direta, dispensando as etapas de beneficiamento utilizadas no passado quando a geração térmica estava associada à produção de carvão metalúrgico.

Atualmente, a participação mineral na matriz energética do País é de 5,3 %, dos quais, 1,0% de carvão nacional e 4,3 % de carvão metalúrgico e coque importados. Da produção nacional de pouco mais de 5 milhões de toneladas anuais, 60 % são consumidas em termelétricas e 40 % na indústria. Em 1996, com uma capacidade instalada de geração elétrica (pública) a carvão mineral de 1.056 MW, foram gerados 4.54 GWh e consumidas 3.507 mil toneladas de carvão. No planejamento do setor elétrico nacional, a atual capacidade instalada de usinas térmicas a carvão mineral deverá ser acrescida de 1.400 MW (4 usinas de 350MW) até o ano 2005. As usinas de Jorge Lacerda IV-SC, Jacuí-RS e Candiota III-RS estarão utilizando tecnologia de queima convencional e uma quarta usina utilizará, preferencialmente, nova tecnologia (Patusco 1997).

O futuro da termelétricidade a carvão mineral no Brasil deverá ganhar novo impulso com a privatização do Setor Elétrico e ampliação do espaço de geração térmica, mas sua competitividade estará intimamente ligada ao emprego de novas tecnologias de queima com carvão “run of mine” junto às jazidas. Apesar da comprovação da viabilidade de várias dessas tecnologias, inclusive na queima de carvões de qualidade inferior, nenhuma delas foi ainda aplicada aos carvões de que o Brasil dispõe.

Neste sentido, alguns estudos vem sendo desenvolvidos para utilização de processos que empregam a atividade de microrganismos, ampliando o campo da biotecnologia. A lixiviação bacteriana ou lixiviação microbiológica, utiliza-se da ação oxidativa de bactérias quimiolitotróficas naturalmente presentes nos ambientes minerados, as quais obtém energia para o seu crescimento a partir da dissolução e oxidação de sulfetos metálicos insolúveis, transformando-os em sulfato solúvel. É possível, desta forma, remover o enxofre presente no carvão (Garcia Jr, 1996). Hoje o processo de lixiviação bacteriana é uma realidade em países como Canadá, Estados Unidos, Austrália, Peru, Chile, Japão e outros, que utilizam industrialmente esse processo como uma alternativa em seus setores de metalurgia extrativa (Fridman, 1983).

No Brasil, embora a divulgação do tema seja relativamente antiga, se atentarmos para o seu estágio avançado nos países desenvolvidos, tem sido bastante pequena a quantidade e impactos das pesquisas levadas a cabo no país. Trabalhos para aprimorar a aplicação da lixiviação microbiológica no intento de melhorar a qualidade do carvão nacional para a queima em termelétricas têm sido realizados esporadicamente, apresentando bons resultados (Cybis, 1986; Marques & De Luca, 1991; De Luca, 1992; Mater & Corseuil, 1995; Zancan Filho et al., 1997). A relativa lentidão do processo de biolixiviação é a principal desvantagem desta técnica em relação a outros processos de separação do enxofre contido no carvão mineral. Portanto, para ser economicamente viável, a dessulfurização microbiana do carvão deve ser feita em altas taxas (Andrews et al., 1988). O conhecimento desta condição leva a necessidade do desenvolvimento de processos economicamente viáveis de dessulfurização do carvão mineral em escala industrial.

Este trabalho propõe-se a avaliar o efeito da dessulfurização microbiológica empregada como técnica para reduzir os teores de enxofre em carvões minerais de uso comercial por meio da aplicação de três formas de tratamento realizadas em escala piloto. As formas de lixiviação empregadas serão a biolixiviação dos carvões por intemperismo natural, biolixiviação por aspersão com drenagem ácida de mina e biolixiviação por drenagem ácida de mina inoculada com soluções concentradas de microrganismos capazes de acelerar o processo de solubilização do enxofre presente. Para tanto, objetiva-se, em laboratório, desenvolver culturas de bactérias acidófilas oxidantes do ferro e enxofre da espécie *Thiobacillus ferrooxidans*, concentrar as culturas bacterianas desenvolvidas, produzindo soluções com grande número de bactérias e facilitando o seu transporte e posterior aplicação em pilhas de carvão. Em trabalho de campo,

construir um sistema de lixiviação microbiológica em escala piloto, o qual possa reproduzir em escala as condições encontradas na industrial, aplicar tratamentos diferenciados as pilhas de carvão mineral componentes de sistema e lixiviação microbiológica de forma a obter dados comparativos entre as taxas de remoção para cada tratamento aplicado.

CAPÍTULO II

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O papel do carvão mineral no contexto energético e os problemas relacionados a sua extração e utilização.

As reservas de carvão mineral brasileiro somam hoje 32,4 bilhões de toneladas correspondendo a 2,5 bilhões de toneladas de TEP (Toneladas Equivalentes de Petróleo), caracterizando-o como o combustível fóssil mais abundante e maior reserva energética não renovável do país, abrangendo cerca de a 66% do total de recursos e reservas de energia. O principal uso do carvão mineral é na geração de energia termelétrica e na produção de calor na indústria para a qual tornou-se um substituto ao o óleo combustível nas indústrias de cimento, papel e outros a partir do primeiro choque mundial do petróleo. Como insumo para a produção de energia elétrica, o carvão possibilitou a implantação das usinas termelétricas de Presidente Médici, Jorge Lacerda e Candiota, que consomem hoje 67% do carvão nacional (DNPM, 1997); porém a participação do carvão mineral na estrutura de consumo de energia é de apenas 5,3 %. Devido a tendência natural de queda na produção de petróleo deste final de século, e por ser considerado uma fonte alternativa de energia para o óleo, muitos planejadores esperam que o carvão venha a desempenhar um papel crescente como combustível para geração de energia elétrica (Eliot, 1978; Brito, 1997). Segundo o planejamento do Setor Energético Nacional, a participação do carvão na geração de energia elétrica nesta década passará dos 0,7 GW de 1987 para prováveis 6,5 GW em 2010, um aumento de 800% (Gothe, 1993). Este aumento na produção e consumo de carvão como consequência do aumento no número de termelétricas exigirá um maior cuidado no manuseio e estocagem do combustível.

A maior ocorrência de carvão mineral no Brasil concentra-se no flanco leste da Bacia do Rio Paraná, numa faixa que se estende em direção nordeste/sudeste por 1.500 km, do Estado de São Paulo ao Rio Grande do Sul, nos quais as pesquisas efetuadas confirmam a existência de recursos superiores a 30 bilhões de toneladas. As jazidas de carvão nacional de interesse econômico estão localizadas nos Estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul e, com menor expressão, nos Estados do Paraná e São Paulo, como pode ser visto na Figura 1, sendo que o Estado do Rio Grande do Sul detém mais de 80% das reservas de carvão mineral nacional, embora a maior produção ocorra em Santa Catarina com cerca de 80% do total extraído (Gothe, 1993; Hennies, 1996).

Os carvões do sul do Brasil enquadram-se nos tipos sub-betuminosos, betuminosos e antracitoso, aparecendo em camadas de pouca espessura em condições pouco favoráveis de mineração e beneficiamento, obtendo-se um produto com elevado conteúdo de cinzas, baixo

poder calorífico e alto custo, o que caracteriza um combustível de qualidade inferior e rendimento medíocre. Os carvões do Rio Grande do Sul apresentam-se numa fase mais ou menos evoluída, com grandes quantidades de cinzas (45 a 50%), podendo ser classificados como sub-betuminoso, utilizado quase totalmente para a produção de energia elétrica. Os carvões de Santa Catarina apresentam uma evolução maior, com menor conteúdo de cinzas e melhores propriedades coqueificantes. Em termos de concentração de enxofre total, verifica-se uma tendência de aumento em direção ao norte. Os carvões do Rio Grande do Sul apresentam um baixo conteúdo de enxofre (2%), enquanto no Paraná se tem notícia de carvões com até 14% de S (Abreu, 1973; Machado, 1985; Montenegro, 1986).

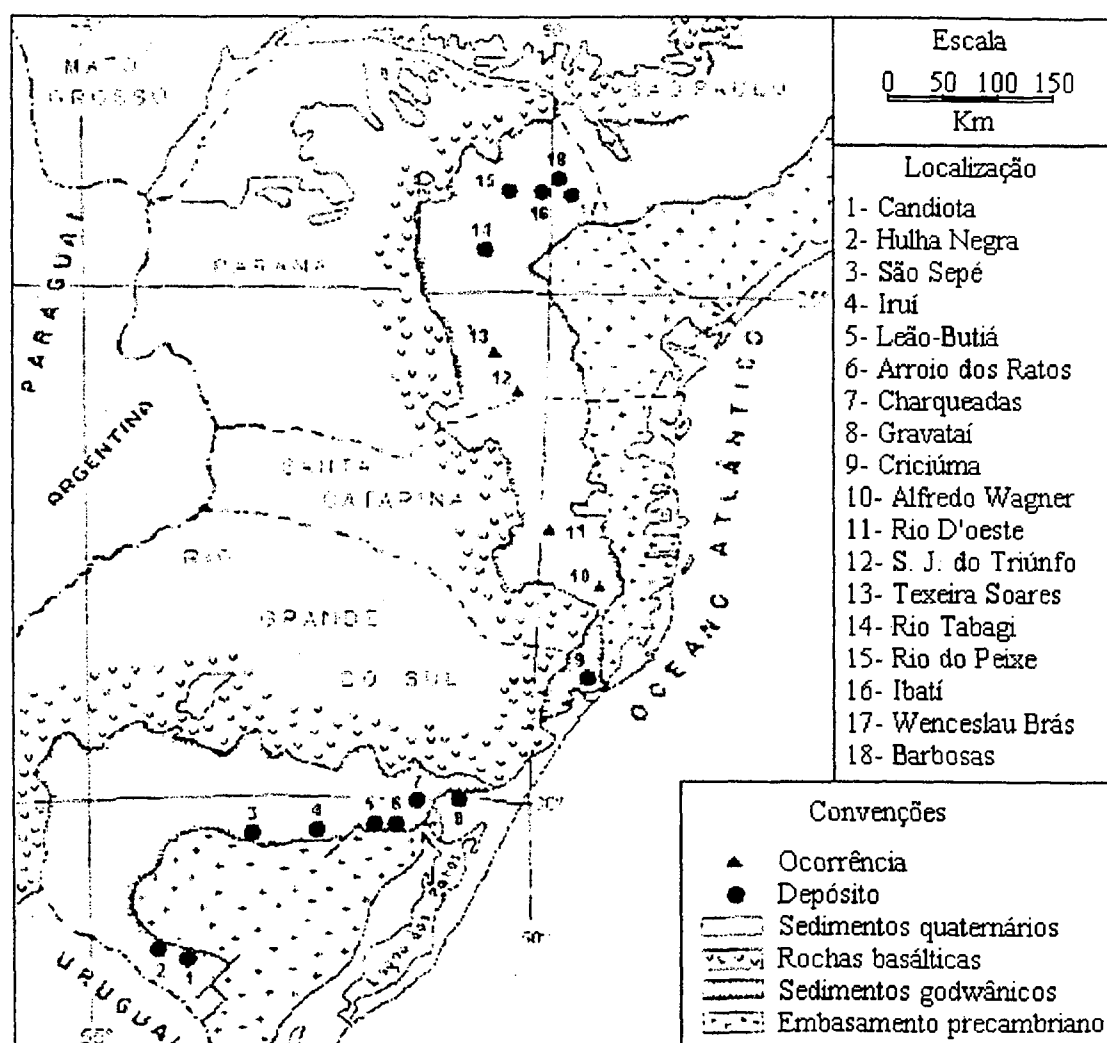
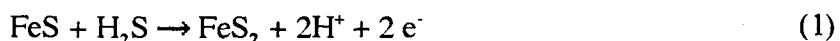


Figura 1 Carvão na Bacia do Paraná (Hennies, 1996).

O carvão é uma rocha sedimentar combustível, formada a partir de determinados vegetais encontrados em diferentes estados de conservação e tendo sofrido soterramento e compactação em bacias originariamente pouco profundas, possuindo teores de carbono,

hidrogênio e oxigênio variáveis de acordo com os diversos estágios de transformação da planta em carvão (Abreu, 1973). As diversas bacias de onde é extraído apresentam camadas de carvão mais ou menos puro ou então impregnadas de matéria estranha, sendo geralmente necessário um beneficiamento mediante lavagem, utilizando-se as diferenças de peso específico entre o carvão e as impurezas para eliminação dos materiais inúteis antes de sua utilização (Machado, 1985). Entre as impurezas mais comuns estão os sulfetos minerais cuja presença no carvão e seus rejeitos são de interesse devido aos problemas ambientais que estes podem provocar durante o ciclo de extração e utilização do minério. Os sulfeto minerais podem ser originados logo abaixo das camadas superiores de sedimentos recentes como, por exemplo, no caso da formação da pirita ou marcasita (FeS_2) que é gerada sob a ação das bactérias sulfato redutoras (reação 1), as quais produzem gás sulfídrico (H_2S) a partir de sulfatos. O H_2S produzido biologicamente reage com compostos de ferro e forma o sulfeto de ferro conhecido como hidrotroilita ($\text{FeS}\cdot n\text{H}_2\text{O}$), que é um composto pouco estável e converte-se no dissulfeto de ferro mais estável (Silverman & Eurlich, 1964; Trundiger, 1971).



Nas regiões de mineração de carvão do sul do Brasil, entre os mais de 125 sulfetos e sais de enxofre existentes, os principais sulfetos minerais encontrados são a pirita e a marcasita, as quais possuem a mesma combinação química (FeS_2) mas diferem na estrutura cristalina. Além destes, ainda aparecem em menor quantidade a pirrolita (FeS), calcopirita (Cu_5FeS_4), bornita (CuFeS_4), covelita (CuS) e esfarelita (ZnS) (Marques, 1986). O enxofre contido no carvão pode apresentar-se sob três formas: (a) enxofre orgânico, no qual o enxofre esta covalentemente ligado ao carbono na forma geral $-\text{R}-\text{S}-\text{S}-\text{R}$, e $-\text{R}-\text{S}-\text{R}$ ou ligado como sulfato na forma $\text{R}-\text{S}-\text{SO}_3$; (b) enxofre pirítico, na forma de pirita e maracassita (a maioria do enxofre em muitos carvões apresenta-se na forma de pirita); e (c) enxofre sulfático. Das três formas de enxofre acima, o conteúdo de enxofre sulfático é muito baixo e de menor importância, enquanto que o de enxofre pirítico pode variar de 0.5% a 4% e geralmente está presente em uma quantidade que excede o conteúdo de enxofre orgânico. O conteúdo de enxofre total representa a soma das parcelas pirítica, orgânica e sulfática. A presença destes compostos influencia diretamente na qualidade do carvão utilizado na queima para produção de energia, ficando sujeito aos padrões de qualidade do ar, os quais são estabelecidos principalmente sobre os conteúdos de nitrogênio e de enxofre emitidos (Dugan & Appel, 1984; Attia & Elzeki, 1988).

Para que possa ser utilizado comercialmente na combustão em caldeiras industriais, termelétricas, produção de gás ou coque metalúrgico, o carvão necessita ter um baixo teor de enxofre. De acordo com o Decreto Federal 9826 de 1946, o carvão metalúrgico obtido por beneficiamento hidromecânico deve apresentar um teor de enxofre máximo de 1,5% e os demais tipos de carvões, no máximo, 3% de S (Abreu, 1973). Portanto, o excessivo teor de

enxofre, como os observados em alguns carvões de Santa Catarina e Paraná, torna-se um grave problema econômico e ambiental para esta atividade, visto que o uso destes carvões com altos teores de enxofre tem sido questionado como fonte energética devido aos danos provocados ao meio ambiente.

A resolução do CONAMA nº 3 de 28/06/90 para os Padrões Nacionais de Qualidade do Ar estabelece que a quantidade limite de SO_2 no ar ambiente é de 0,03 ppm ($80 \mu\text{g}/\text{m}^3$) como concentração média aritmética anual, e que um máximo de 9,14 ppm ($365 \mu\text{g}/\text{m}^3$) em 24 horas, o qual não pode ser excedido mais que uma vez por ano (CONAMA, 1990). Tais critérios foram elaborados para restringir a combustão do carvões com altos teores de enxofre total em grandes usinas termelétricas, porque quando o carvão é queimado, a maior parte do seu conteúdo de enxofre é transformada em dióxido de enxofre (SO_2), considerado um poluente primário. Por meio de foto-oxidação, o SO_2 emitido para a atmosfera pode ser transformado em trióxido de enxofre (SO_3) que, na presença da umidade do ar, origina ácido sulfúrico (H_2SO_4) ou aerossóis de sulfato, contribuindo assim para a formação de chuvas ácidas (Figura 2).

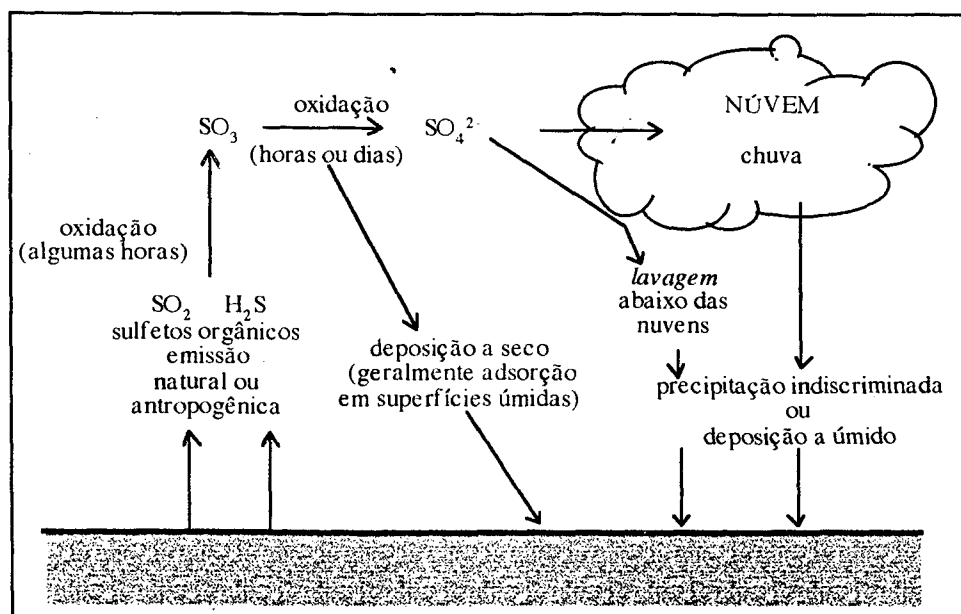


Figura 2 Mecanismos pelos quais o dióxido de enxofre e os produtos de sua oxidação podem ser removidos da atmosfera (O'Neill, 1993).

Associado aos óxidos de nitrogênio (NO_x), o SO_2 é um dos principais contribuintes para a formação de precipitação ácida que modifica as características dos solos, provoca lesões nas plantas e altera o grau de acidez de lagos e cursos de água, comprometendo o equilíbrio destes ecossistemas (O'Neill, 1993). O SO_2 , H_2SO_4 e sulfatos gerados podem provocar danos agudos e crônicos a saúde humana, principalmente no aparelho respiratório, por serem irritantes das mucosas dos olhos e órgãos respiratórios, com sua influência tóxica agravada na

presença simultânea de partículas em suspensão, comuns nas proximidades de usinas termelétricas. A deposição seca e úmida do SO₂ e dos aerossóis sulfurados sobre os materiais provoca corrosão acelerando os processos naturais de envelhecimento e degradação (Eliot, 1978; Amdur et al., 1986).

Além disso, aproximadamente 70% do carvão bruto ROM (*run of mine*) que entra no processo de beneficiamento é classificado e depositado como rejeito provocando um outro problema relacionado ao armazenamento do carvão; os depósitos de rejeitos expostos ao tempo ficam sujeitos as reações entre os sulfetos minerais, ar, água e bactérias produzindo drenagem ácida (Montenegro, 1986). Os poluentes resultantes da drenagem ácida afetam a qualidade dos recursos hídricos da região, baixando o pH, reduzindo a alcalinidade natural, aumentando a dureza total e acrescentando quantidades indesejáveis de ferro, manganês, alumínio, sulfatos e metais pesados, impossibilitando o uso destas fontes no abastecimento para consumo (Machado, 1985; McDonald, 1985; Bricker & Rice, 1989). A acumulação de lodo no leito dos rios também apresenta uma grave ameaça às características das águas e sobrevivência da vida aquática, necessitando um tratamento sofisticado e oneroso quando da utilização destas águas no abastecimento e recreação (Alvarez, 1978; Monteggia, 1981; Corseuil, 1984; Kauffman et al., 1986; Gottschlich et al., 1987).

Observando-se as perspectivas futuras de aumento na demanda de energia elétrica, o modelo brasileiro não poderá permanecer centrado apenas na geração por grandes usinas hidrelétrica, as quais necessitam altos investimentos e também provocam grandes impactos ambientais e sociais. Com potencial hídrico fortemente centrado no Norte do País, as regiões Sudeste e Sul experimentam alguma escassez nos recursos hídricos e começam a repensar seus sistemas, onde usinas nucleares e termelétricas já são objeto de planejamento estratégico dos governos federal e estadual (Brito, 1997). Entretanto, o aumento da produção e consumo do carvão mineral como fonte de energia tende a agravar a situação ambiental, caso medidas de controle da poluição ambiental não sejam tomadas. Ao mesmo tempo, cresce a conscientização mundial quanto à problemática ambiental relacionada às emissões de gases na atmosfera, sendo fortalecida por eventos tais como a Convenção das Nações Unidas para o Meio Ambiente e o Desenvolvimento, conhecida como Rio-92 no Rio de Janeiro e mais recentemente a Convenção - Quatro das Nações Unidas sobre a mudança do Clima em Kyoto-1997. (Meira Filho & Miguez, 1997), aumentando a pressão dos países ricos para que países em desenvolvimento como o Brasil poluam menos, o que pode implicar na liberação de financiamentos externos para grandes obras que depende em grande parte do impacto ambiental por elas causado.

2.2 Alternativas para controle da poluição provocada pela queima do carvão.

As questões expostas anteriormente tem levado pesquisadores brasileiros ao desenvolvimento de novas metodologias que atenuem ou mesmo solucionem o problema ambiental, onerando o menos possível o preço final do carvão. O desenvolvimento de técnicas para melhorar o carvão no sentido de diminuir o conteúdo de enxofre antes da combustão é de interesse crescente tendo em vista que os processos tradicionais do tratamento e recuperação ambiental (melhor planejamento da mineração e disposição dos rejeitos, segregação das águas de subsolo, selagem das minas de subsolo, recirculação das águas de lavagem do carvão, uso das bacias de retenção de finos de lavagem e/ou moagem do carvão e neutralização dos efluentes extremamente ácidos) acabam onerando o preço final do carvão e, conseqüentemente, predispõe os empresários do setor contra estas soluções clássicas, ainda que obrigados por lei (Uhl et. al., 1989; De Luca, 1992).

Vários métodos para a dessulfurização do carvão têm sido tentados, incluindo técnicas de separação física, processos químicos e oxidação bacteriana, sendo que atualmente as soluções técnicas para os problemas ligados a possível formação de chuvas ácidas recorrem a três alternativas: a) Dispersão dos poluentes em chaminés elevadas, apropriada para poluentes contendo baixos teores de enxofre, desde que estudos criteriosos confirmem que a concentração máxima de SO_2 permitida no ar ambiente não será ultrapassado; b) Utilização de equipamentos de controle de emissão de SO_2 . No caso da emissão de elevados teores de SO_2 , o uso de lavadores (*scrubbers*) é indicado por estes sistemas terem tecnologia conhecida e serem utilizados em países de primeiro mundo, porém com a desvantagem do alto custo de investimento de capital e de manutenção, podendo inviabilizar o uso de alguns tipos de carvões como fonte energética alternativa; e c) Diminuição dos teores de enxofre ou dessulfurização do carvão antes da combustão, opção que vem sendo pesquisada e pode oferecer vantagens significativas em relação ao uso de *scrubbers* sob o ponto de vista do custo de tratamento, sendo que de uma forma geral, as técnicas de controle de poluição na fonte são mais efetivas que técnicas de tratamento conhecidas como de "final de tubo", além de geralmente se tornarem mais viáveis economicamente (Dugan & Apel, 1978; Kelly et al., 1979; Kargi, 1983; Kilgroe & Strauss, 1985; Attia & Elzeki, 1988; Stainthorpe, 1989; Lancia et al., 1994; Kwong & Meissner III, 1995).

2.3 Lixiviação microbiológica de sulfeto minerais

Nos últimos anos houve um crescimento significativo no número de processos industriais que se utilizam da participação de microrganismos como agentes ativos para finalidades específicas, ampliando o campo da biotecnologia. Sob o ponto de vista tecnológico, encontra-se entre estes processos um dos mais significativos envolvendo

microorganismos e metais, a “lixiviação microbiológica de metais ou biolixiviação”, a qual, se utiliza da ação oxidativa de bactérias quimiolitotróficas naturalmente presentes nos ambientes minerados, capazes de obter energia para o seu crescimento a partir da oxidação e dissolução de sulfetos metálicos insolúveis transformando-os em sulfato solúvel. Vislumbrando a possibilidade de explorar a atividade de extrair metais para ganho comercial fato que tem recebido crescente atenção nos anos recentes (Lindstrom et al., 1992; Blake II et al., 1994; Garcia Jr., 1996).

Apesar de relativamente nova como processo controlado, esta tecnologia, que pode ser incluída no campo da biometalurgia ou biohidrometalurgia, é bastante antiga como fenômeno conhecido. A presença de cobre nas águas de drenagem de minas deste metal já era conhecida, consecutivamente, pelos fenícios, romanos, árabes e espanhóis, sendo que a recuperação de metais de efluentes naturais de minas, a partir de soluções produzidas pelo contato de águas da própria mina ou de chuvas com os sulfeto minerais, foi provavelmente praticada a cerca de 1.000anos A.C. na região mediterrânea. Entretanto, o primeiro registro oficial da lixiviação natural de cobre em pilhas data do século XVIII nas minas do Rio Tinto na Espanha, onde a extração de cobre a partir de minérios de baixos teores deste metal e continua sendo utilizada até hoje nessa mina (Brierley, 1978; Flett, 1981).

Atualmente a biolixiviação, como técnica de metalurgia extrativa, vem sendo bastante utilizada na metalurgia extrativa no pré-tratamento e recuperação de sulfeto minerais refratários que contém cobre e urânio. Além destes metais, experimentos em escala de laboratório indicaram que o processo também tem expectativa para a recuperação de níquel, cobalto, estanho, cádmio, molibdênio, chumbo, antimônio, arsênio, selênio e ouro, apresentando-se como uma alternativa promissora para a indústria minero-metalúrgica, não somente para a recuperação de metais de interesse econômico, como também para o tratamento de carvões com altos teores de enxofre, oferecendo significativas vantagens sobre os métodos físicos e químicos já desenvolvidos, como por exemplo: (a) menores custos de investimento no capital inicial e baixo custo operacional devido à simplicidade das instalações requeridas e reduzida necessidade de mão de obra especializada na operação, comparado ao alto custo dos processos químicos; (b) economia de insumos utilizados em um processo hidrometalúrgico convencional (ácidos e agentes oxidantes), pois os próprios microrganismos produzem tais insumos a partir de substratos presentes no referido minério; (c) baixa exigência de energia, se comparado a um processo pirometalúrgico, e mesmo a um processo hidrometalúrgico em que se utilizam agitadores (lixiviação ácida agitada, por exemplo), além de serem operados a temperaturas relativamente baixas (25-75°C); (d) não poluição atmosférica por emissão de gases (Guay & Silver, 1980; Kargi & Robinson, 1985; Torma, 1986; Ehlich & Brierley, 1990; Rawlings et al., 1991; Lindstrom et al., 1992; Blake II et al., 1994; Garcia Jr., 1996).

Em muitos casos, a lixiviação microbiológica é aplicada em pilhas de rejeitos de minérios de baixo teor. Para a construção das pilhas quase não existem regras, porém de uma

maneira geral a instalação de uma planta onde é aplicado o processo de biolixiviação pode ser resumidamente esquematizada como na Figura 3, onde grandes quantidades de minério (milhares de toneladas) são depositadas sobre uma base impermeabilizada, seguida da irrigação na superfície da pilha formada, com uma solução ácida, geralmente de ácido sulfúrico (pH ~ 2,0).

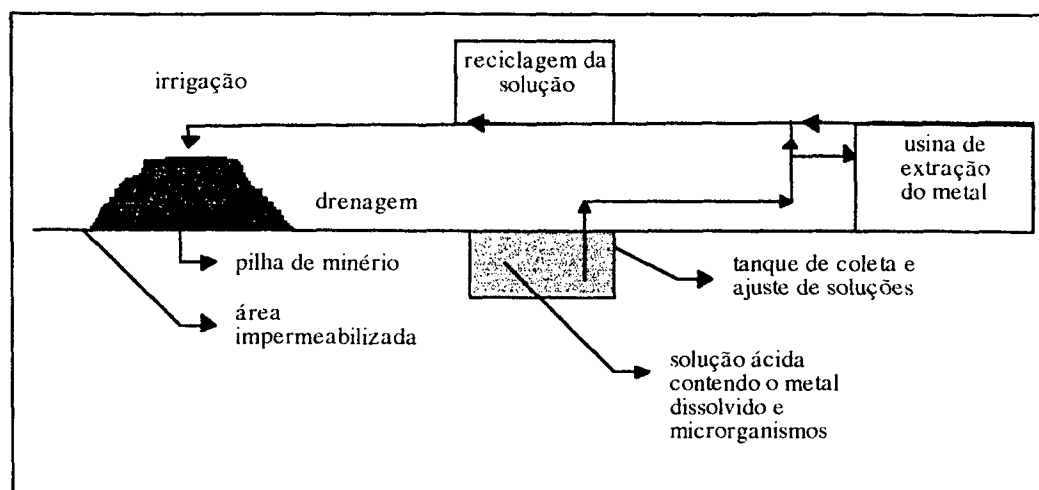


Figura 3 Esquema simplificado de um sistema de biolixiviação (extraído de Garcia Jr., 1996).

Essa solução é coletada após a percolação pelo minério e reciclada constantemente pela pilha, ocasionando uma intensificação da atividade bacteriana no substrato mineral sulfetado. Dessa ação resulta uma elevação da acidez e do poder oxidante da solução pela produção biológica de H_2SO_4 e do íon Fe^{3+} , com a conseqüente solubilização do metal desejado. Após essa etapa, o metal pode ser extraído por processos convencionais (Hudson & Van Arsdale, 1923; Torma, 1987; Tuovinen, 1990; Rossi, 1990; Sand et al., 1993).

A biolixiviação está relacionada à dissolução dos materiais pelos ácidos produzidos durante o metabolismo da microbiota local. Embora saiba-se que uma grande variedade de microrganismos de gêneros e espécies diferentes pode ser encontrada nestes processos, os microrganismos que fazem parte do ciclo do enxofre têm um papel muito importante neste contexto. Portanto, para melhor compreender este fenômeno é importante conhecer o ciclo do enxofre e os microrganismos envolvidos.

2.4 O ciclo biogeoquímico do enxofre e os microrganismos envolvidos

O enxofre é um elemento reativo com estados de valência entre -2 e +6 e está entre os elementos mais abundantes na crosta da terra, podendo ser encontrado nos oceanos (mais importante reservatório de enxofre para a biosfera, na forma de sulfato inorgânico), em sedimentos e rochas na forma de sulfato minerais (gesso, $CaSO_4$; barita, $BaSO_4$) e sulfeto

minerais (pirita, FeS_2 ; calcopirita, FeS.CuS ; pirrotita, FeS). Embora vários estados de oxidação sejam possíveis, somente apresentam-se em quantidades significativas na natureza as formas: -2 (sulfidril, R-S e sulfeto, HS^-), 0 (enxofre elementar, S^0), e +6 (sulfato, SO_4^{2-}), representadas na Figura I do Apêndice A, onde pode-se visualizar o ciclo global de transporte (Brock et al., 1994).

O enxofre nos minerais pode mover-se através do ciclo como resultado da oxidação dos sulfetos a sulfato e/ou da dissolução de sulfatos. Por exemplo, a oxidação da pirita a ácido sulfúrico pode ser seguida imediatamente, *in situ*, pela neutralização pelo carbonato de cálcio (calcita) para formar sulfato de cálcio (gesso). A reação do sulfeto de hidrogênio com íons metálicos dissolvidos pode precipitar sulfetos metálicos os quais são quimicamente indistinguíveis dos sulfeto minerais que ocorrem naturalmente. Os microrganismos estão diretamente envolvidos nas alterações físicas e químicas dos minerais ou produtos intermediários de sua decomposição, os quais podem ser diretamente ou indiretamente necessários ao seu metabolismo. A dissolução dos sulfeto minerais sob condições ácidas (drenagem ácida de rochas), a precipitação de minerais sob condições anaeróbias, a adsorção de metais por bactérias ou algas, e a formação/destruição de complexos organometálicos são todos exemplos da participação indireta de microrganismos. Onde os minerais estão disponíveis como elementos traços solúveis, servem como substratos oxidáveis específicos, ou são doadores/aceptores de elétrons em reações de oxi-redução, eles podem estar diretamente envolvidos na atividade metabólica celular (Shirakawa, 1994).

2.5 Participação das bactérias oxidantes do ferro e enxofre no processo de lixiviação microbiológica

A participação ativa de microorganismos no processo de lixiviação natural era desconhecida até pouco tempo. Somente em 1922, o trabalho pioneiro de Rudolfs Helbrouner alertava para a existência de certos microrganismos, ainda não identificados, capazes de promover a transformação de sulfetos de ferro e zinco em sulfatos. A definitiva correlação entre a lixiviação natural de metais e a participação direta de bactérias no processo foi estabelecida por Colmer & Hinkle em 1947, quando pela primeira vez isolaram e caracterizaram o *Thiobacillus ferrooxidans* da drenagem ácida de minas de carvão betuminoso (Torma, 1970 e 1977; Flett, 1981; Fridman, 1983, Andrade & França, 1984). A partir destes estudos, podem ser encontradas na metalurgia definições de lixiviação microbiológica (ou bacteriana) como um processo de extração de metal no qual certos microrganismos catalisam as reações de oxidação ou como um processo que se baseia na atividade de bactérias do gênero *Thiobacillus* capazes de mobilizar a energia de oxidação de íons ferrosos e compostos reduzidos de enxofre pirítico em benefício de seu metabolismo, tendo como resultado a solubilização de metais de interesse comercial (Berry & Murr, 1978; Andrade & França,

1984). No entanto, quando se utiliza esta tecnologia para o controle ambiental das regiões carboníferas, concomitantemente com a recuperação de compostos de enxofre da lixívia ácida do processo, outro tipo de definição se impõe: a lixiviação microbiológica é o processo pelo qual certas bactérias atacam os sulfeto minerais contidos no carvão e em seus rejeitos, em proveito de seus metabolismos, liberando no processo grandes quantidades de compostos de ferro e enxofre e, secundariamente, outros metais associados (De Lucca, 1992).

O *Thiobacillus ferrooxidans* é o principal microrganismo envolvido na lixiviação/dissolução de sulfeto minerais (cobre, cobalto, níquel, zinco, etc.) e alguns óxidos minerais, sendo o mais amplamente estudado e comprovadamente eficiente para a dessulfurização microbiana da pirita presente no carvão (Silverman & Lundgren, 1959; Dugan et al., 1970; Dugan & Apel, 1978; Brierly, 1978; Lundgren & Silver, 1980; Hoffman et al., 1982; Torma & Bosecker, 1982; Marques, 1986; Yunker & Radovich, 1986; Baldi, 1992; Devassia et al., 1993). A espécie *T. ferrooxidans* caracteriza-se como bactéria gram-negativas, na forma de bastonetes móveis (0,5 x 1,0 a 4,0 μm), quimioautotrófica, capaz de derivar energia de sulfeto metálicos, enxofre elementar ou íon ferroso e de obter carbono do CO_2 em pH ácido; é aeróbia e as suas necessidades de nitrogênio são supridas por sais de amônia ou, em menor escala, por nitratos; é mesofílica e o pH ideal varia de 1,5 a 5,8 (Hutchinson et al., 1969; Belly, & Brock, 1974; Enrich, 1981; Andrade & França, 1984; Brock et al., 1994). Na Figura 4 as fotomicrografias de Le Roux, et al. (1974), ilustram a forma e aparência dos *T. ferrooxidans*.

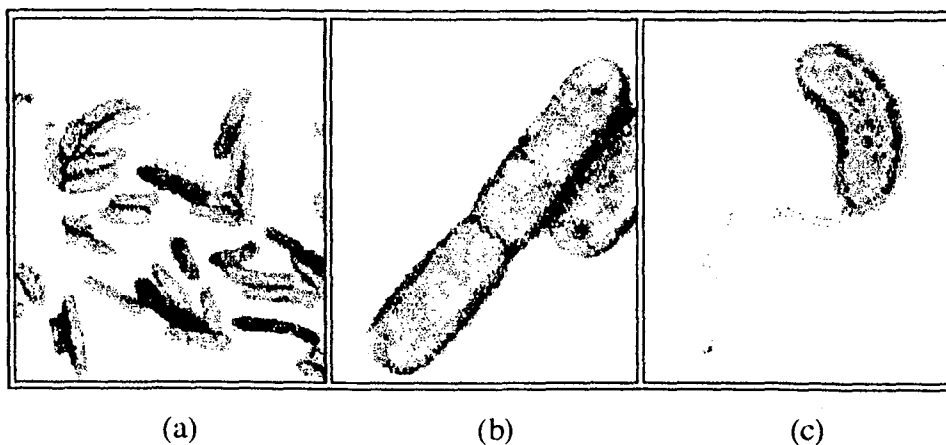


Figura 4 Fotomicrografia ilustrando a forma e aparência dos *Thiobacillus ferrooxidans*. Aumentados cerca de (a) 5.000 vezes, (b) 20.000 vezes, (c) 15.000 vezes (Le Roux. et al., 1974).

O *Thiobacillus thiooxidans* é uma outra espécie também estudada como participante no processo de lixiviação de sulfeto minerais. (Unz & Lundgizen, 1961; Silverman & Ehrlich, 1964; Trundinger, 1971; Mitchell, 1972; Dutrizac & Macdonald, 1974; Forbisher et al., 1974; Tuovinen & Kelly, 1974; Torma, 1977; Murr, 1980; Fridman, 1983; Andrade & França,

1984). As bactérias da espécie *T. thiooxidans* são estritamente autotróficas e aeróbicas, utilizando sais de amônia como fonte de nitrogênio, e enxofre elementar; não são capazes de utilizar íons ferrosos ou mesmo sulfetos metálicos para este fim. São também mesofílicas e apresentam um crescimento ótimo com pH entre 2,0 e 3,0. Na literatura é comentado que esta espécie é capaz de sobreviver em condições extremamente ácidas, com pH igual a 0,5 ou menos (Vishniac & Santer, 1957; Andrade & França, 1984; Kelly & Harrison, 1989; Brock et al. 1994; Shirakawa, 1994). Alguns investigadores utilizaram culturas mistas de *T. ferrooxidans* e *T. thiooxidans* para conseguir em laboratório uma dessulfurização mais efetiva do carvão (Hoffman, 1981; Dugan & Apel, 1984; Curutchet, et al., 1996).

A eficiência no tratamento para solubilização do enxofre contido no carvão também foi testada em laboratório com outros microrganismos em cultura pura ou associados com o *T. ferrooxidans*, comprovando que outras espécies de bactérias também são aptas a oxidar a pirita. Estes organismos são praticamente onipresentes na natureza e obtêm recursos para o crescimento e multiplicação a partir de compostos inorgânicos; suas necessidades em termos de nutrientes são bastante modestas, incluindo principalmente certas concentrações de nitrogênio e fosfato; e secundariamente, sulfato, magnésio, potássio e alguns traços de metais comuns em ambientes de mineração. (Torma, 1970; Tuovinen et al., 1971; Barros, 1984; Dugan & Apel, 1984; Kargi & Robinson, 1985; Arnold et al., 1988; Johnson & McGinness, 1991; Suggio et al., 1992; Sand et al., 1992; Clark et al., 1993; Albrechtsen & Christensen, 1994; Hallberg & Lindstrom, 1996).

Extensivas revisões sobre o *T. ferrooxidans* e seu comportamento foram escritas por Trundinger (1971) e Brierley (1978), porque esta bactéria possui características que o tornam um microorganismo interessante em estudos básicos de fisiologia, bioquímica e genética para o desenvolvimento de processos industriais em atividades hidrometalúrgicas, tais como: a) crescimento em condições ambientais extremas, sobretudo elevada acidez e altas concentrações de metais, b) crescimento autotrófico (fixação de CO₂ atmosférico) proporcionado pela energia liberada da oxidação de compostos estritamente inorgânicos, como o íon Fe²⁺ e formas reduzidas de enxofre; c) capacidade de solubilizar metais de interesse econômico devido ao seu metabolismo oxidativo que produz eficientes agentes de lixiviação ácida de metais (íon férrico e ácido sulfúrico). Quando participam na oxidação do enxofre ou sulfetos para a obtenção de energia, estes microrganismos agem como catalisadores para promover a oxidação dos sulfetos metálicos insolúveis à sulfatos solúveis, os quais podem então ser transferidos à fase aquosa, removendo assim o enxofre das partículas do carvão. A oxidação do sulfeto catalisada pelas bactérias pode ter taxas de reações de seis ordens de magnitude (1.000.000 vezes) maior que as reações na ausência de bactérias (Evangelou & Zhang 1995). Através deste mecanismo o tratamento microbiológico pode reduzir a concentração de enxofre do carvão a níveis toleráveis do ponto de vista ambiental.

2.6 Outros microrganismos que podem estar envolvidos no processo

Sob condições naturais, um microrganismo raramente existe isolado. Em ambientes naturais, numerosas populações de diferentes características coexistem. As populações microbianas que vivem juntas em um determinado local, chamado "habitat", interagem umas com as outras formando uma comunidade microbiana a qual é estruturada de forma que cada população contribui para a sua manutenção. As interações biológicas podem ser positivas ou negativas a um determinado grupo de microrganismos. Entre as populações presentes, poderá ocorrer o neutralismo (organismos vivendo no mesmo habitat não afetam os cohabitantes), o comensalismo (relação oportunista na qual um microrganismo pode crescer como resultado da ação de outro), a simbiose (interação mutuamente benéfica entre organismos), a competição (uma espécie beneficia-se dos recursos disponíveis em detrimento de outra), o parasitismo (organismos derivam suas necessidades nutricionais de hospedeiros) e predação (organismos-predadores alimentam-se da biomassa viva-presas, proporcionando controles de população) (Atlas & Bartha, 1993).

Nas pilhas de lixiviação microbiana existem outros organismos, além das bactérias oxidantes do ferro e enxofre, que provavelmente sobrevivem ao meio extremamente ácido, pela criação de micro-ambientes apropriados. A microflora pode ser formada, além dos *Thiobacillus*, por microrganismos termófilos, bactérias redutoras de enxofre (*Desulfovibrio*, *Enterobacter*, *Leptospirillum*, *Pseudomonas*, *Sulfolobulus*, *Metallogenium*, *Caulobacter*, *Beijerinckia*, etc.), algas microscópicas, protozoários (*Amoeba*, *Eutreptia*, etc), e fungos (Walsh & Mitchell, 1972; Belly & Brock, 1974; Harrison, 1978; De Luca, 1992). Embora a interação total desta microflora seja desconhecida, sabe-se que todos estes microrganismos tem importância no equilíbrio de uma pilha. Por exemplo, o pH típico no habitat do *T. ferrooxidans* é de 1,5 a 3,5 e acredita-se que estas condições são produzidas por um consórcio de bactérias atuando numa sucessão que pode incluir o *T. thioparus* em pH neutro, dando condições para o crescimento da bactéria *Metallogenium* sob condições intermediariamente ácida (pH 3,5 a 4,5), e finalmente a predominância do *T. ferrooxidans* em pH baixo (Walsh & Michell, 1972; Béchar, 1996). Pode-se também citar o mutualismo existente entre os gêneros *Thiobacillus* e *Beijerinckia*. Foi comprovado que a taxa de oxidação dos sulfetos minerais aumenta na presença conjunta destes dois microrganismos, o *Thiobacillus* fornece carbono orgânico para a *Beijerinckia* e esta, por sua vez, fixa nitrogênio para o primeiro, sendo este um exemplo positivo de interação. Sabe-se também que certos organismos heterotróficos (*Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Corynebacterim*) podem assimilar fenóis e humatos, produzindo substâncias orgânicas que poderão acumular-se na pilha, inibindo os *Thiobacillus* com presença de matéria orgânica (Pankhurst 1964; Murr, 1980). Alguns estudos realizados no sentido de identificar bactérias acidófilas heterotróficas com potencial para sobreviver e se reproduzir em drenagens ácidas de mina, encontraram, além das *T. ferrooxidans*, várias outras

espécies diferentes, confirmando que outras bactérias heterotróficas também estão associadas com o carvão e a solubilização dos metais presentes em sulfeto minerais (Harrison, 1978; Wichlacz & Uns, 1981; Wulf-Durand et al., 1997).

A formação de zonas não aeradas no interior das pilhas de lixiviação pode favorecer a proliferação de uma microbiota de características anaeróbias ou facultativas (Goodman et al, 1983). A redução direta dos íons sulfato a sulfeto de hidrogênio é afetada na natureza por bactérias estritamente anaeróbias do gênero *Dessulfovibrio* e *Desulfotomaculum*. Estas bactérias redutoras de sulfato (BRS) são organismos heterotróficos (carbono celular de compostos orgânicos) que utilizam sulfato, tiosulfato, $S_2O_3^{2-}$, sulfito, SO_3^{2-} , ou outros íons redutíveis que contenham enxofre como acceptor final de elétrons no seu metabolismo respiratório (Buisman et al., 1989). No processo, os íons que contém enxofre são reduzidos a sulfeto de hidrogênio, mas as bactérias ainda necessitam de um substrato orgânico o qual é normalmente um ácido de cadeia curta, tal como o ácido láctico ou pirúvico, gerados na natureza pelas atividades fermentativas de outras bactérias anaeróbias sobre substratos orgânicos mais complexos. Dessa forma, em sistemas naturais, a necessidade específica de ácidos de cadeia curta pelas BRS é satisfeita pela disponibilidade de uma complexa fonte orgânica e um sistema bacteriano misto. O lactato é utilizado pelas BRS durante a respiração anaeróbia para produzir acetato como na reação 2 (Cork & Cusanovich, 1979; Caccavo et al., 1994; Ehrenreich & Widdel, 1994).



Alguns experimentos estudaram o crescimento dos *T. ferrooxidans* anaerobicamente em enxofre elementar e sulfeto de cobre utilizando ferro férrico como acceptor de elétrons, sugerindo que organismo pode ser considerado um anaeróbio facultativo nestas condições (Goodman et al., 1983; Pronk et al., 1991 e 1992; Donati et al 1997).

2.7 Energética e metabolismo do carbono em organismos quimiolitotróficos oxidantes do ferro e enxofre

A energia para o metabolismo nos organismos oxidantes do ferro e enxofre é obtida por meio da oxidação de um ou mais compostos reduzidos de enxofre, incluindo sulfetos, enxofre elementar, tiosulfato, politionatos e tiocianatos e fica estocada sob a forma de energia de ligação química, biologicamente utilizável. O sistema de transporte de elétrons é ilustrado na Figura 5a e b, onde os elétrons dos compostos reduzidos do enxofre entram na cadeia em vários pontos (dependendo de seu potencial de redução) e são transportados ao oxigênio molecular, gerando um potencial de membrana, o qual leva a síntese de ATP pela fosforilação oxidativa. Os elétrons para a redução de CO_2 provém das reações inversas de transporte de

elétrons produzindo NADPH (Figura 5a). O potencial de redução relativamente alto dos compostos tais como o $S_2O_3^{2-}$ ou S^0 resulta em uma reduzida cadeia de transporte de elétrons para propósitos de obtenção de energia e uma longa rota para redução do NADPH (série de reações dependentes de energia). Estas são limitações bioquímicas responsáveis em parte pelo rendimento de crescimento relativamente pobre de muitos organismos quimiolitotróficos. Nos *T. ferrooxidans*, o potencial de redução do grupo Fe^{3+}/Fe^{2+} é bastante alto (+0,77 volts), enquanto que a rota de transporte de elétrons para o oxigênio ($1/2 O_2/H_2O$, $E_0' = +0,82$ volts) é baixa (Figura 5a); portanto, os elétrons da oxidação do Fe^{2+} não podem reduzir diretamente NAD^+ , FAD e muitos dos outros componentes da cadeia de transporte de elétrons, de forma que, estas bactérias necessitam utilizar gradientes de próton pré-existentis em seu ambiente com o propósito de gerar energia (Brock et al., 1994).

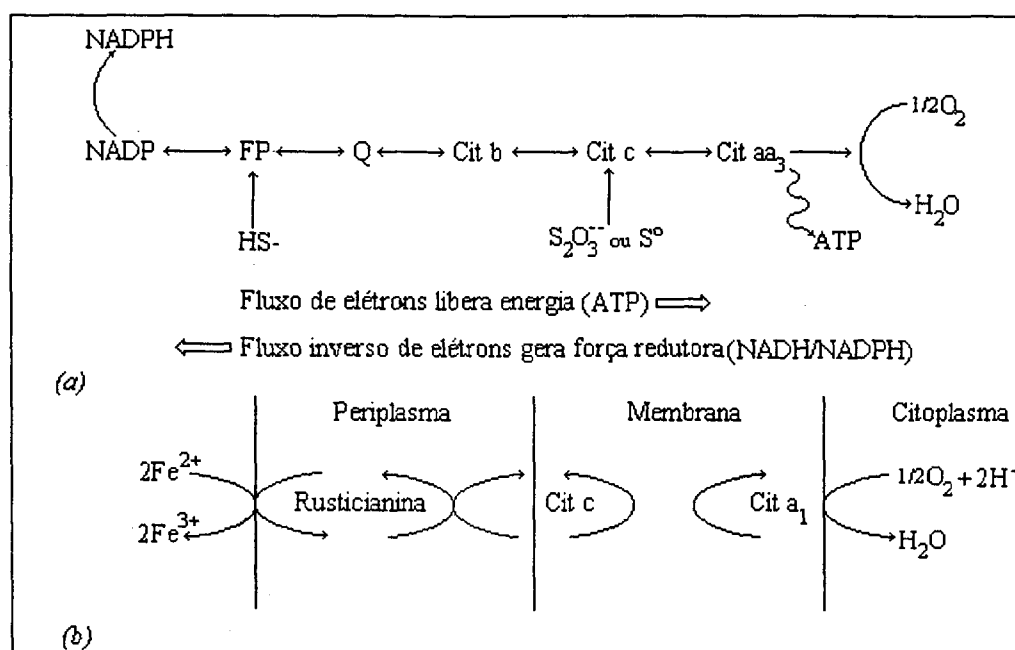


Figura 5 Fluxos de elétron nos *Thiobacillus*. Crescendo em (a) enxofre, tiosulfato, sulfeto, ou (b) ferro. Em (a) observa-se a direção do fluxo de elétrons na síntese do ATP versus o fluxo inverso de elétrons (Brock et al. 1994).

Como no *T. ferrooxidans* o pH interno é próximo de 6,0 e o pH do ambiente externo é próximo de 2,0, esta diferença de pH através da membrana citoplasmática representa uma força motiva natural de prótons que pode desempenhar um papel na síntese do ATP (Cobley & Cox, 1983). Entretanto, para conservar um ambiente de pH neutro, os prótons que penetram na célula através da ATPase translocadora de próton (direcionando a fosforilação do ADP no processo) devem ser consumidos. Neste ponto a oxidação do Fe^{2+} desempenha um papel importante, visto que oxidação do Fe^{2+} à Fe^{3+} ($2Fe^{2+} + 1/2 O_2 + 2H^+ \rightarrow 2Fe^{3+} + H_2O$) é uma reação consumidora de prótons. Evidências experimentais sugerem que a reação $1/2 O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O$ ocorre na face interior da membrana citoplasmática, enquanto que a reação $2Fe^{2+} \rightarrow$

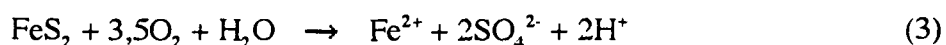
2Fe^{3+} ocorre próximo a face exterior da membrana. Os elétrons do Fe^{2+} são recebidos no espaço periplásmico pela rusticianina que é um ácido estável e funciona otimamente em pH 2,0 (Figura 5b). Os elétrons são doados da rusticianina para um potencial extraordinariamente alto de ligação de membrana do citocromo c, o qual, subseqüentemente, transfere elétrons ao citocromo a_1 , que é a oxidase terminal. Para formar água, o citocromo a_1 doa elétrons ao $1/2 \text{O}_2$ e o citoplasma, dois prótons. Um influxo de prótons via ATPase restabelece o suprimento de prótons e, como o Fe^{2+} permanece disponível, a força motiva natural de prótons através da membrana do *T. ferrooxidans* pode continuar direcionado a síntese do ATP. Portanto, embora a conservação de energia no *T. ferrooxidans* resulte de uma clássica reação quimiosmótica da ATPase, que junta a entrada de prótons à síntese de ATP, o gradiente de prótons no *T. ferrooxidans* não é estabelecido como resultado do transporte de elétrons, mas sim como uma simples consequência do habitat do organismo (Ingledeu, 1982; Brock et al., 1994).

Quando estão crescendo autotroficamente, as bactérias do enxofre usam o ciclo de Calvin para fixar o CO_2 , necessitando da presença de ATP e de força redutora (Gale & Beck, 1967). A força redutora na forma do NADH ou NADPH é gerada pelo processo de transporte inverso de elétrons, utilizando energia do ATP para o fluxo inverso e para formar NADH ou NADPH. Devido ao auto potencial do doador de elétrons, este processo atua na oxidação do ferro. Assim, é compreensível que a produção de células das bactérias ferro-oxidantes seja bastante baixa. A presença destes organismos num ambiente não é salientada pela formação de muito material celular, mas pela presença maciça de precipitação de ferro férrico o qual é um agente oxidante muito poderoso (Dutrizac & MacDonald, 1974; Brock et al., 1994).

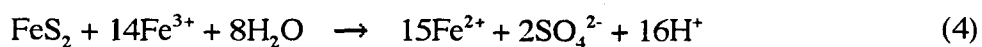
2.8 Mecanismos de lixiviação microbiana

O processo de lixiviação bacteriana dos sulfeto minerais ocorre através de reações espontâneas ou catalisadas biologicamente, com a participação do oxigênio e do íon férrico como aceptores de elétrons em dois mecanismos básicos: o mecanismo direto e o indireto. Estes podem operar separadamente ou em conjunto, dependendo das condições ambientais. (Brierly, 1978; Kelly, 1976; Koravaiks et al., 1977; Lundgren & Silver, 1980; Ehrlich, 1981; Torma & Banhegyi, 1984; Jaynes et al., 1984; Yunker & Radovich, 1986).

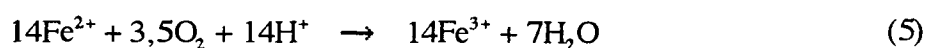
O mecanismo de ataque direto ao sulfeto mineral (reação 3) ocorre pela interação da célula com a superfície mineral, de forma que, através de um sistema enzimático específico, o microrganismo adsorve seletivamente à superfície do rejeito ou carvão somente nos lugares onde existe o sulfeto, oxidado-o a sulfato e ferro ferroso. (Baker & Wilshare, 1972; Le Roux et al, 1973; Berry & Murr, 1978; Andrade & França, 1984; Bennet & Tributsch, 1986).



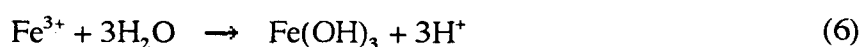
O mecanismo indireto (reação 4) ocorre depois que a bactéria coloca uma grande quantidade de íons férricos (Fe^{3+}) em solução. Estes íons atuam como agente oxidante da porção ferrosa na superfície do sulfeto. Este mecanismo abrange o ciclo do $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ com duas etapas envolvidas: (a) interação química do Fe^{3+} com a superfície do mineral e (b) regeneração do Fe^{3+} pela bactéria (Lundgren et al., 1972; Andrade & França, 1984).



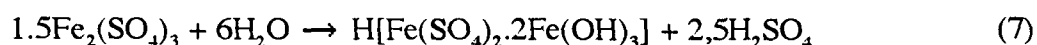
A reação 4 é espontânea e pobre, utilizando-se do oxigênio como agente oxidante, levando ao desenvolvimento de condições ácidas ($\text{pH} < 4$), nas quais o íon ferroso é bastante estável na presença de oxigênio. Neste ambiente ácido o *T. ferrooxidans* catalisa a oxidação do Fe^{2+} à Fe^{3+} , acelerando o processo de biolixiviação (reação 5, regeneração do Fe^{3+} na solução) (Kargi, 1983).



Deve-se observar que, num pH neutro, a reação 5 ocorrerá rápida e espontaneamente como pode ser visualizado na Figura II do Apêndice A. O íon férrico formado pela reação 5 permanece solúvel desde que o pH seja no mínimo igual a 2,5, podendo reagir prontamente com a pirita (reação 4), oxidando-a. O íon ferroso Fe^{2+} será novamente oxidado a Fe^{3+} pelas bactérias e reagirá com mais pirita ocorrendo um rápido incremento na taxa de oxidação da pirita (ciclo de propagação). Quando o pH for maior que 2,5, o íon férrico será hidrolizado, formando o hidróxido férrico (reação 6, espontânea), que precipitará (Starkey, 1945; Brock, 1994).



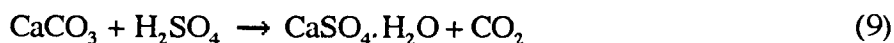
Outras reações podem ocorrer no lugar da reação 6 e hidróxidos mais complexos podem ser formados como, por exemplo, jarosita (reação 7) e potássio jarosita (reação 8), que igualmente precipitarão, formando uma camada que isolará o sulfeto da ação das bactérias (Ehlich, 1981; Murr & Mehta, 1982; Bell et al., 1987, Grishin, 1988; Kargi, 1989).



Outras estequiometrias e mecanismos foram propostos, porém com o mesmo resultado global. Neste caso pode-se notar que somando as reações 4 e 5 obteremos a reação 3. Assim, apesar dos mecanismos serem diferentes o resultado é o mesmo: dois moles de ácido são produzidos para cada mol de pirita e três moles e meio de oxigênio consumidos (Andrews & Maczuga, 1982; Jaynes et al., 1984).

Em ambientes bióticos, a oxidação direta e indireta da pirita ocorre simultaneamente; as taxas de oxidação são aumentadas significativamente quando o ferro férrico é continuamente regenerado via oxidação do sulfeto ferroso mediada pela bactéria (reação 5), sendo este o passo limitante do processo. Entretanto, a biolixiviação ainda pode ocorrer muito lentamente na ausência de Fe^{3+} , somente pelo mecanismo de contato direto (Roman & Benner, 1973; Yunker & Radovich, 1986). Em ambientes abióticos, somente o mecanismo indireto opera e a regeneração do ferro férrico é novamente o passo limitante da taxa. (Kargi, 1983; Ehrlich, 1981; Chang & Myerson, 1984)

No carvão e principalmente nos rejeitos do mesmo, poderá ocorrer consumo do ácido produzido na reações 3 e 4 pela ganga mineral formada de argilas, outros silicatos e carbonatos. Pode-se exemplificar este processo com a reação 9, a seguir (Murr, 1980).



O processo de lixiviação pode ser visualizado como um todo na Figura 6.

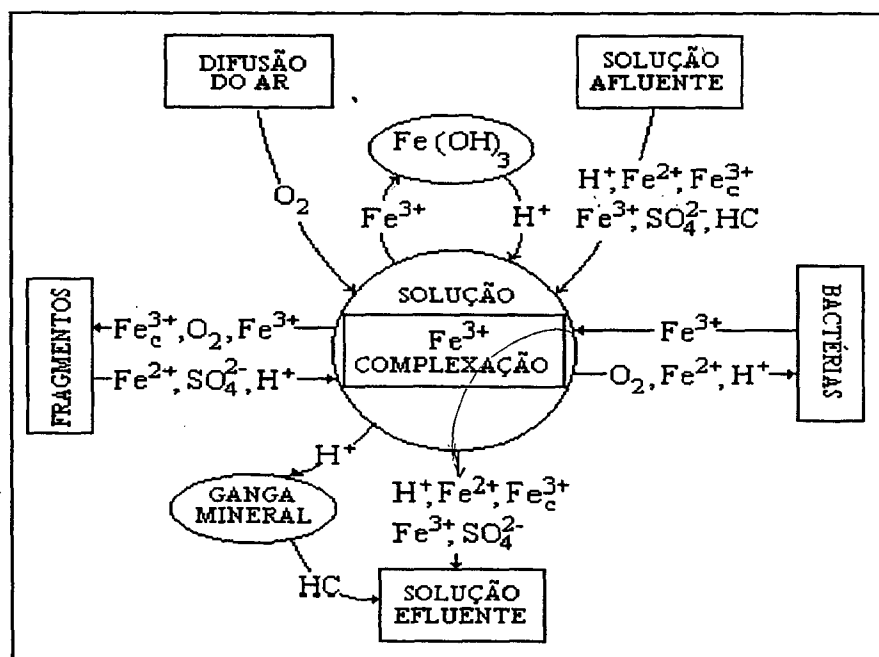


Figura 6 Modelo da lixiviação bacteriana da pirita (Jaynes et al, 1984).

Neste modelo considera-se a oxidação da pirita, representada pelas equações 3 e 4, ocorrendo na superfície dos grãos de pirita contidos no carvão ou rejeitos do mesmo (lado esquerdo da Figura 6). Os reagentes e produtos da oxidação difundem-se entre a pirita e a solução lixiviante que envolve os fragmentos de carvão ou rejeito. A oxidação do íon ferroso é feita pela bactéria no interior da solução lixiviante. A oxidação da pirita e do íon ferroso interagem através da solução lixiviante. A difusão de oxigênio é feita entre os poros cheios de

ar e a solução. A hidrólise do Fe^{3+} , equações 6, 7 e 8, em $\text{pH} > 2,5$, tem os seus produtos representados como Fe_c^{3+} , e remove os íons férricos da solução, produzindo H^+ . Reações entre os H^+ na solução e a ganga acabam ocorrendo, removendo H^+ da solução, elevando o pH , e gerando uma variedade de produtos, como na reação 9, e assinalados no modelo como HC (canto esquerdo em baixo). Finalmente, espécies solúveis percolam através da pilha e são removidas com a solução (Jaynes et al., 1984). Sob o aspecto ambiental, o processo acarretará a conhecida drenagem ácida oriunda das áreas de mineração, trazendo como consequências: (a) diminuição do pH dos recursos hídricos da região, (b) com a dissolução de metais das estruturas por onde percolou a drenagem ácida e (c) a adição Fe^{2+} à solução, o qual num momento de elevação do pH e na presença de oxigênio, será oxidado a Fe^{3+} , hidrolizar-se-á e acabará por precipitar.

2.9 Fatores que influenciam na biolixiviação dos sulfeto minerais

Para obter-se taxas favoráveis de remoção microbiana do enxofre, algumas condições devem ser observadas de forma a evitar que ocorram fatores limitantes ao processo de biolixiviação. De uma maneira geral, os fatores que influenciam a biolixiviação dos sulfeto minerais são os seguintes:

2.9.1 pH e potencial Redox

O pH ótimo para a lixiviação bacteriana pode variar, dependendo da fonte de energia utilizada pelas bactérias e da ganga mineral associada. Quanto ao processo de oxidação da pirita, diferentes faixas são recomendadas de acordo com cada pesquisador: (a) 1,0 - 2,5 (Forbisher et al., 1974; Andrade & França, 1984); (b) 2,0 - 3,0 (Baker & Wilshare, 1972; Bruynesteyn & Duncan, 1977; Murr, 1980; Jaynes et al., 1984); (c) 2,5 a 3,8 (Lundgren et al., 1972). No entanto, a partir de uma série de observações feitas por alguns dos autores revisados, é plausível recomendar-se a faixa de valores de pH entre 1,5 e 2,0 como mínimo e 2,5 a 3,0 como máximo (Baker & Wilshare, 1972; Lundgren et al., 1972; Dutrizac & Macdonald, 1974; Bruynesteyn & Duncan, 1977; Brock, 1979; Murr, 1980; Jaynes et al., 1984; Marques, 1986; Karamanev & Nikolov, 1988).

O Potencial Redox (Eh) é uma medida da tendência de um determinado substrato de doar ou receber elétrons, isto é, indica a capacidade de oxidação ou redução do meio. O Eh afeta o metabolismo celular e também a oxidação dos sulfetos provocada por ação do Fe^{3+} . Uma forma conveniente de visualizar a transferência de elétrons em sistemas biológicos é imaginar uma torre vertical (ver Figura III, Apêndice A) onde os pares redox estão arranjados a partir dos redutores mais fortes (potenciais de redução negativos) dispostos no topo até os

mais fortes oxidantes (potenciais de redução positivos) na base (Brock et al. 1994). De acordo com a disposição do par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ (760 mV) pode-se verificar que o Fe^{3+} é oxidante poderoso pois mesmo a uma proporção de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ de 1:1.000.000, gera um potencial Redox maior que + 400 mV, suficiente para o ataque de muitos sulfeto minerais (Dutrizac & MacDonald, 1974). O potencial Redox do par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ para uma solução aquosa à 25 °C é dado pela seguinte equação (Stumm & Morgan, 1970):

$$\text{Eh} = 0,771 + 0,059 \log [\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}] \quad (\text{em volts}) \quad (10)$$

A partir da equação (10) pode-se constatar que o equilíbrio entre as concentrações de Fe^{2+} e Fe^{3+} ocorre em $\text{Eh} = +771$ mV, valor que não deve ser ultrapassado durante a lixiviação bacteriana, pois neste caso ter-se-ia mais Fe^{3+} que Fe^{2+} no processo. Um excesso de Fe^{3+} pode acelerar a oxidação dos sulfetos, mas ao mesmo tempo pode ser nocivo ao mesmo, precipitando Fe^{3+} sobre a superfície do minério, impedindo tanto o mecanismo direto quanto o indireto de ocorrer. O Fe^{2+} , por sua vez, possui ação sobre o metabolismo da bactéria, tendo sido demonstrado que sua adição artificial tem efeito positivo na oxidação de sulfeto minerais. A medida do Redox nem sempre corresponde ao valor calculado, porque nos processos hidrometalúrgicos o Redox resulta de potenciais misturados e, portanto, não poderá ser usado para interpretações teóricas da química envolvida. No entanto, estas medidas servem como um bom indicador para o controle químico da lixiviação e na predição do ambiente propício para a atividade bacteriana (Natajara & Iwasaki, 1974; Sakagushi et al., 1976; Torma, 1977; Andrade & França, 1984; Lizama & Suzuki, 1988).

2.9.2 Temperatura

A temperatura exerce pronunciada influência na solubilização dos diversos produtos da oxidação de sulfeto minerais e na oxidação do íon ferroso por via bacteriana, sendo que as taxas de lixiviação microbiológicas são bastante afetadas pelas temperaturas dominantes, podendo aumentar ou diminuir a atividade bacteriana dentro de certos limites de aumento de temperatura (Dutrizac & Macdonald, 1974; Andrade & França, 1984; Ahonen & Tuovien, 1991). Tanto as variações de temperatura ocorridas nas águas de minas a céu aberto e nas soluções lixiviantes, as quais provocam mudanças sazonais nas superfícies das pilhas, como os sulfetos minerais presentes, os quais são fontes potenciais de calor, proporcionam uma distribuição de temperatura bastante variável nos sistemas de lixiviação, podendo ocorrer zonas de elevada temperatura dentro das pilhas de minério (Belkin et al., 1985). De uma maneira geral afirma-se que o *T. ferroxidans* é uma bactéria mesofílica com uma temperatura ótima de crescimento na faixa de 25 a 30 °C e que a maior efetividade na lixiviação microbiana ocorre na faixa de 30 ± 3 °C, podendo sofrer variações entre cepas, onde mudanças no pH alteram a temperatura ótima de crescimento (MacDonald & Clark 1970; Brierley, 1978; Guay & Silver,

1980; Lundgren & Silver, 1980; Torma & Bosecker, 1982; Cwalina, 1988; Ahonen & Tuovinen, 1992). As mudanças notadas com a temperatura indicam que esta bactéria passa por modificações de metabolismo ou de cinética. Os *T. ferrooxidans* e *L. ferrooxidans* podem ser ativos em temperaturas acima de 40°C, apresentando, porém, rápida expressão do choque térmico nas proteínas e perda das atividades celulares normais, incluindo a fixação do dióxido de carbono (Alvarez & Jerez, 1990; Jerez, 1988). Mater & Corseuil (1995) observaram um declínio na taxa de reação em temperaturas maiores que 30 °C, provavelmente devido ao efeito desnaturante que a temperatura provoca nas enzimas. As bactérias acidófilas termofílicas moderadas são ativas na faixa de temperatura entre 40 e 60°C, e as termofílicas (ex. *Sulfobacillus*, *Acidanus*, e *Sulfolobus*) podem ocorrer em temperaturas acima de 80°C (Norris, 1990). Na faixa de baixa temperatura, os *Thiobacillus* continuam sendo metabolicamente ativos em 2 a 4°C, podendo efetivar-se a oxidação do ferro em temperaturas tão baixas quanto 5 a 6 °C, ocorrendo, porém, uma redução nos valores da atividade microbiana (Ahonen, 1989; Sand et al., 1993).

2.9.3 Disponibilidade de oxigênio e gás carbônico

Na literatura é comentado o fato de que para que ocorra a oxidação da pirita é necessária a presença de oxigênio e que a disponibilidade de oxigênio controla a oxidação bacteriana de sulfetos. Entretanto, sabe-se que os microorganismos responsáveis pela lixiviação podem usar outros oxidantes existentes no ambiente de mineração, tal como o Fe^{3+} , que oxida a pirita mesmo na ausência de O_2 . A oxidação de 1 Kg de S, na passagem de sulfeto a sulfato, requer 2 Kg de O_2 . Em concentrações de oxigênio menores que 0,7 mg/L, o crescimento do *T. ferrooxidans* é limitado, cessando em concentrações abaixo de 0,2 mg/L de oxigênio (Marques, 1986; Liu et al., 1988).

Os microrganismos usados para a degradação de enxofre pirítico são autotróficos e utilizam o gás carbônico como sua fonte de carbono. Isto torna o fornecimento adequado de CO_2 essencial para o crescimento celular, podendo haver melhoria significativa na taxa de oxidação da pirita caso seja utilizado um suprimento externo de CO_2 . Em baixas concentrações de CO_2 dissolvido, o metabolismo de crescimento celular pode ser afetado sem que o metabolismo de manutenção seja prejudicado. Os experimentos projetados para diferenciar entre estas limitações mostram que o transporte de CO_2 é limitado em frascos agitados com densidade de polpa maiores que 20%. Na lixívia são recomendados valores desde 0,2% até 2% de CO_2 (Bruynesteyn & Duncan, 1977; Jaynes et al., 1984; Machado, 1985; Andrews et al., 1988).

2.9.4 Tipo de sulfeto mineral e granulometria

O tipo de sulfeto mineral presente também determinará se o processo será mais ou menos efetivo. Por exemplo, a pirita (FeS_2) é mais suscetível ao ataque bacteriano que a calcopirita (CuFeS_2) e menos suscetível que a galena (PbS) (Brock, 1979). Além disso, de uma maneira geral, para mobilização substancial do metal presente em sulfeto-minerais devem ser encontradas as seguintes condições: 1) Ferro férrico para oxidação do sulfeto; 2) *T. ferrooxidans* e oxigênio para oxidação do ferro ferroso a ferro férrico; 3) pH compatível com as necessidades de habitat do *T. ferrooxidans* (Roman & Benner, 1973).

A reatividade química da pirita varia com a morfologia e área superficial, podendo aumentar com a diminuição do tamanho das partículas de forma que a eficiência da biolixiviação também está associada ao tamanho da partícula de carvão. De uma maneira geral, quanto menor a granulometria do carvão maior é a eficiência. Estudos iniciais consideraram que o tamanho da partícula afeta a lixiviação devido somente à variação da área superficial, a qual pode ser produzida por variação na densidade de polpa. Ambos os tipos de experimento nos quais o tamanho da partícula ou a densidade de polpa foram variadas indicaram maiores taxas de lixiviação com aumento na área superficial. Este aumento, entretanto, é observado apenas até um certo tamanho devido à eficiência na adesão a superfície do sulfeto mineral aumentar com o aumento no tamanho da partícula. (Blankarte-Zurita & Branion, 1986; Ehrlich & Fox 1967; Torma et al., 1972; Lundgren & Silver, 1980; Disprito et al., 1981; Myerso & Kline, 1983; Shrihari et al., 1991).

A adsorção do *T. ferrooxidans* não ocorre aleatoriamente na superfície do sulfeto mineral, mas sim seletivamente onde emergem deslocações, fronteiras de grãos e outras deformidades na estrutura do cristal, de forma que a reatividade também varia com o número de imperfeições nas arestas do cristal observadas como densidades deslocadas nas superfícies da pirita. Os estudos do ângulo de contato indicaram que as inclusões de pirita tem energia livre superficial mais baixas do que aquelas ao redor da matriz do carvão, sugerindo que a adsorção seletiva é influenciada pelos efeitos da energia superficial. (Bagdigian & Myerson, 1986; Andrews et al., 1988; Baldi et al., 1992; Devasia et al., 1993).

2.9.5 Concentração de células, densidade de polpa e sólidos

A quantidade de células viáveis também podem afetar diretamente a velocidade do processo, uma população adequada de *Thiobacillus* permite que os sítios de reação do mineral sejam plenamente ocupados aumentando com isso a eficiência. Para tanto, algumas vezes é necessário que se proceda a inoculação do material a ser lixiviado pela absoluta ausência de bactérias oxidantes do ferro e enxofre. Neste caso, pode-se usar a própria drenagem ácida da mina, o efluente de algum processo de lixiviação bacteriana antigo ou ainda soluções

concentradas de bactérias aclimatadas em laboratório (Murr, 1980; Andrews et al., 1988). Foram relatados valores de 10^5 a 10^6 células/100 ml como ótimos, havendo a possibilidade de que em quantidades maiores as bactérias saturam a superfície das partículas (Andrade & França, 1984; Uhl et al., 1989). Isto foi deduzido por Ehrlich & Fox (1967), pela constatação de que uma concentração de células maior que 1.8×10^6 /ml não tinha significado nas taxas de lixiviação, provavelmente devido à inibição aos *T. ferrooxidans* por outras células de *T. ferrooxidans* que competem pelos locais de ligação das células oxidantes do Fe^{2+} (Suzuki et al., 1989). Se muito mais células são adicionadas depois que a superfície torna-se saturada, as células descendentes não podem encontrar local para adsorver e caem no líquido, a população pode permanecer constante em seu valor máximo. Com a finalidade de maximizar a taxa de dessulfurização, o inóculo de células poderia ser grande o suficiente para alcançar esta condição de saturação (Andrews et al., 1988).

Em testes de laboratório com frascos agitados (Shake Flask) para a determinação da relação mais adequada entre sólido e líquido utiliza-se como parâmetro a densidade de polpa (Dp) definida pela seguinte relação (Andrade & França, 1984):

$$Dp = \frac{\text{Massa do substrato sólido (gramas)} \times 100 (\%)}{\text{Volume do meio líquido (ml)}} \quad (11)$$

A partir desta relação, levando-se em conta o tempo necessário para conseguir uma determinada remoção do metal ou do enxofre, pode-se determinar uma taxa de aplicação que servirá como uma primeira aproximação para usos comerciais. Existe relação direta entre as taxas de remoção de enxofre e a concentração do rejeito, em baixas densidades de polpa (5 a 15%) com um máximo de 20%; acima desta, as taxas tornam-se independentes desta variável e decrescem. Este declínio pode ser atribuído à interferência dos sólidos na transferência de massa de O_2 e CO_2 para as bactérias; portanto, a densidade de polpa mais recomendada é de 20% (Torma, 1970; Sakagushi et al., 1976; Atkins, 1978; Disprito et al., 1981; Andrews et al., 1988; Marques & De Luca, 1991; Bailey & Hansford, 1993).

2.9.6 Regime de fluxo, grau de agitação e trauma celular

Em termos do regime de fluxo adotado em plantas de lixiviação bacteriana de sulfeto minerais, existe um consenso de que este deva ser intermitente. A operação intermitente inclui períodos com e sem fluxo. Os sulfetos são oxidados num ambiente aeróbio úmido, sendo que os produtos da oxidação são dissolvidos na solução que envolve os fragmentos ou mantidos entre ou dentro dos fragmentos. No período com fluxo, os produtos da oxidação são removidos pela solução lixiviante a medida em que esta percola pelo material que está sendo lixiviado (Radway, et al., 1987). Este tipo de operação parece melhorar o rendimento do processo, pois faz com que, durante os períodos secos, os produtos da oxidação tenham

chance de vir para a superfície do fragmento juntamente com a água que, com a evaporação, apresenta um movimento de dentro para fora no fragmento (Vaisbich et al., 1979; Murr, 1980). A extensão do tempo de descanso é determinada pela taxa de evaporação e a concentração de sais na fase líquida em volta dos fragmentos. Quando estes dois fatores tornam-se críticos, o material deve ser molhado novamente. Este fato só é válido quando o montante total de sulfetos é suficiente para que a produção de ácido exceda o consumo pela ganga mineral; se isso não ocorre, o pH da fase líquida poderá subir causando a formação de hidróxidos férricos insolúveis (Bruynesteyn & Duncan, 1977). Apesar das aparentes vantagens do regime intermitente, a operação com um regime contínuo poderia evitar mudanças grosseiras nas características de permeabilidade do material que está sendo lixiviado (Jaynes et al, 1984). Sem dúvida o movimento da massa líquida em torno das partículas é importante por ser um dos mecanismos de troca gasosa no sistema, porém, a biolixiviação está associada diretamente a aderência bacteriana ao substrato energético, sendo necessário um ambiente relativamente calmo para que haja a fixação bacteriana.

O uso de altas taxas de agitação melhora a transferência de massa durante a oxidação de materiais com alta concentração de sulfetos e sólidos, onde a demanda de oxigênio é alta, mas também aumenta a “ceifação” a qual a bactéria está sujeita. O termo turbohipobiose foi criado para descrever a inibição das taxas de oxidação durante estes processos. A turbohipobiose das bactérias geralmente é observada por um decréscimo na produção de adenosina trifosfato (ATP), mudanças nos caminhos metabólicos, redução no consumo de O_2 e baixa taxa de crescimento específico. A histamina, que é um indicador de estresse em microorganismos, aumenta durante agitações violentas, comprovando que a agitação é um fator estressante. É possível que a diminuição da taxa de crescimento e o decaimento da habilidade de biolixiviação possa ser causada por efeitos da turbohipobiose (Alvarez & Jerez, 1990; Mater & Corseuil, 1995).

2.9.7 Íons, matéria orgânica em solução e outros fatores inibidores

Nas drenagens ácidas de minas, várias espécies de íons são encontrados em solução, com concentrações dependendo do pH. Normalmente estas concentrações obedecem a seguinte ordem: $SO_4 > Mg > Al \geq Ca \geq Fe \geq Mn \geq Zn \geq Na$ (Evangelou, 1983). A quantidade de ferro presente na lixívia pode vir a influenciar a velocidade de lixiviação da forma como foi relatado no ítem 2.9.1. Altas concentrações de sulfato também retardam a oxidação do Fe^{2+} . Embora a taxa de oxidação continue a ser de 1ª ordem com relação ao Fe^{2+} , ela é mais lenta do que na ausência de sulfato (Bruynesteyn & Duncan, 1977). Com relação aos metais pesados os *Thiobacillus* são bastante tolerantes, sofrendo inibição apenas em caso de concentrações elevadas. Os resultados de estudos realizados por vários autores podem ser vistos na Tabela I do Apêndice A. (Trundinger, 1971; Tuovinen et al., 1971; Torma, 1977; Le Roux, 1973 e

1978; Norris & Kelly, 1974; Chakrabarty, 1978; Dugan & Apel, 1978; Murr, 1980; Baldi & Olson 1987).

A presença de matéria orgânica (frutose, lactose, extrato de carne, peptona, etc) e esgotos (alto conteúdo de matéria orgânica) poderão inibir a atividade das bactérias (Tuovinen et al., 1971; Arredondo et al., 1994). A toxicidade de ácidos orgânicos de baixo peso molecular para microrganismos acidófilos deve-se ao fato de que, nos baixos valores de pH do meio de cultura, muito do ácido orgânico está presente na forma não dissociada, podendo espalhar-se facilmente sobre a membrana citoplasmática. Como o pH interno dos acidófilos é aproximadamente neutro, as moléculas do ácido se dissociarão logo ao entrar no citoplasma. Desta forma, a penetração do ácido baixa seu gradiente de concentração, dirigindo os prótons para dentro da célula, levando a dissipação do gradiente de pH transmembrana essencial para o crescimento em ambiente ácidos (Pronk et al., 1991). Após a constatação de que o lauril sulfato de sódio, alquilbenzeno sulfonato e os ácidos benzóico sórbico, fórmico, hexanóico, oxálico, propiônico, e pirúvico em baixas concentrações efetivamente inibem a oxidação bacteriana do ferro ferroso em culturas de bateladas de *T. ferrooxidans* e também a formação de sulfato, alguns pesquisadores propuseram o uso destas substâncias para conter a drenagem ácida (Dugan, 1987a e b; Dugan & Apel, 1983; Onysko et al., 1984). Também devem ser levados em consideração como interferentes a presença de outros microrganismos que poderão diminuir ou acelerar o processo, conforme foi visto no item 2.6, bem como o efeito provocado por radiações ultravioleta (Chakrabarty, 1978).

2.10 Cinética de dessulfurização microbiana

Na literatura existem diversos estudos sobre a cinética de dessulfurização microbiana do carvão na lixiviação da pirita e de outros sulfeto minerais (tais como sulfeto de zinco, por exemplo). Estes estudos foram baseados em grande parte em experimentos descontínuos de laboratório, nos quais normalmente a taxa de conversão máxima da pirita estava correlacionada com a concentração inicial de pirita. De uma maneira geral, constantes de taxa de primeira ordem foram encontradas por vários pesquisadores (Andrews & Maczuga, 1982; Hoffmann et al., 1982; Chang & Myerson, 1982; Kargi & Robinson, 1984; Uhl et al., 1989, Olson, 1991, De Luca, 1992; Ohmura et al, 1993; Mater & Corseuil, 1995). Experimentos empregando a biolixiviação no tratamento do carvão mineral em pilhas, para redução dos teores de enxofre, foram realizados por Cybis (1987), De Luca (1992) e Zancan Filho et al. (1996). De Luca (1992), aplicando a técnica de biolixiviação em pilhas de 30 toneladas de carvão antracitoso com teor de enxofre total inicial de 3,7 %, obteve remoções médias na ordem de 56 % para o enxofre total e 70 % para o enxofre pirítico com constantes de taxa de oxidação, utilizando cinética de primeira ordem, de $0,00187 \text{ dia}^{-1}$ para o enxofre total e $0,00356 \text{ dia}^{-1}$ para o enxofre pirítico.

CAPÍTULO III

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os trabalhos foram realizados em duas etapas:

- Estudos em laboratório para a produção do caldo bacteriano, desenvolvidos no Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e compreenderam a produção e concentração do inóculo de bactérias da espécie *Thiobacillus ferrooxidans* para aplicação no sistema de biolixiviação;
- Estudos em escala piloto para determinar a viabilidade do processo em escala industrial, desenvolvidos numa área próxima ao lavador de beneficiamento de carvão, no pátio da Mina São Geraldo, pertencente ao Grupo Empresarial C.C.U., no município de Siderópolis/SC.

3.1 Estudos de laboratório

3.1.1 Materiais

Os trabalhos em laboratório foram desenvolvidos com o auxílio dos seguintes materiais e equipamentos:

- Rejeito piritoso R1, proveniente do lavador primário da Mina CCU-São Geraldo;
- Recipiente, fermentador fabricado por Schott Mainz, modelo Plexiglas, com capacidade para 3,0 L;
- Medidor de pH, marca Digmed, modelo DMPH-2;
- Incubadora bacteriológica, marca Biomatic, modelo 1.353;
- Equipamento de ultrafiltração de fluxo tangencial, marca Millipore, modelo P17511;
- Cassete de filtração tangencial em PVDF, marca Millipore de porosidade 0,45 μm , com 5 ft^2 de área filtrante;

Uma relação mais detalhada dos materiais é apresentada junto às técnicas analíticas descritas no Apêndice B.

3.1.2 Reagentes

Como meio para a cultura dos *T. ferrooxidans* foi utilizado o meio 9 K descrito por Silverman & Lundgren (1964) e modificado pela subtração do sulfato ferroso, ficando com a seguinte composição:

• Sulfato de amônio [(NH ₄) ₂ SO ₄]	3,00 g
• Cloreto de potássio (KCl)	0,10 g
• Fosfato de potássio dibásico (K ₂ HPO ₄)	0,50 g
• Sulfato de magnésio (MgO ₄ .7H ₂ O)	0,50 g
• Nitrato de cálcio [Ca(NO ₃) ₂]	0,01 g
• Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄ - 10 N)	1,00 ml
• Água destilada	1,000 ml <u>700ml</u>

O H₂SO₄ também foi utilizado na concentração 1N, em quantidade suficiente para controlar o pH. Os demais reagentes utilizados na quantificação de NMP estão listados junto com técnica de análise no Apêndice C.

3.1.3 Método de obtenção da cultura e preparo do inóculo

—> Uma cepa de *T. ferrooxidans* foi obtida de rejeitos piritosos de carvão do lavador primário da Mina São Geraldo da Companhia Carbonífera Rio deserto em Siderópolis, lavando-se repetidas vezes 500 gramas da pirita em 3,0 litros água destilada condicionada a pH 2,0 pela adição de H₂SO₄ 1N, sob forte agitação. A suspensão obtida foi transferida para o sistema de fermentador mostrado esquematicamente na Figura 7, constituído de vaso cilíndrico com capacidade para 3,0 L de solução associado ao agitador magnético e controlador de temperatura, contendo 0.2 Kg de rejeito piritoso e o meio de cultura 9K (item 3.1.2) menos o sulfato ferroso o qual foi garantido pelo FeS₂ presente no rejeito piritoso. Oxigênio e dióxido de carbono foram adicionados por aeração através de dispersor poroso de vidro em mistura de 1:12 de CO₂ e ar a 0,45 L/h. A temperatura foi mantida a 30 °C e o pH controlado diariamente por um período de 20 dias, durante o qual, a cada cinco dias, efetuou-se a quantificação dos *T. ferrooxidans* presente na cultura de acordo com a norma técnica L5.217 (CETESB, 1991- Apêndice B) para determinação do número mais provável de bactérias, pela técnica de tubos múltiplos. Após a realização dos primeiros experimentos utilizando este procedimento, constatou-se que o maior número de bactérias ocorria no décimo quinto dia, quando então o

fermentador era desligado e deixava-se a suspensão em descanso, separando-se o sobrenadante e recolhendo-se a massa depositada no fundo, acondicionado-a em frascos de polietileno sob refrigeração a $\pm 4^{\circ}\text{C}$, sendo posteriormente aplicado como inóculo no sistema com 300 litros.

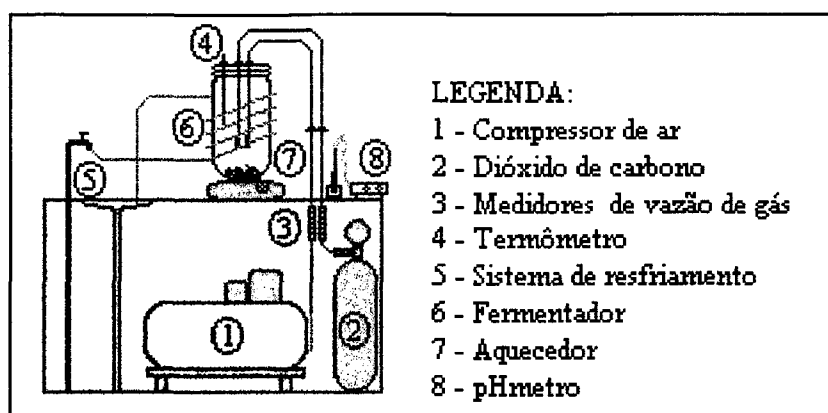


Figura 7 Sistema de cultivo de *T. ferrooxidans* em com capacidade para 3,0 Litros.

3.1.4 Método de multiplicação e concentração do inóculo

Para que o caldo bacteriano cultivado pudesse ser aplicado em pilhas de 30 toneladas foi necessário o cultivo e concentração de quantidades muito maiores que as proporcionadas pelo sistema de fermentador do item 3.1.3, sendo utilizado, para este fim, um sistema constituído de dois reservatórios de polietileno, operando com 300 litros de água tratada, condicionada a pH 2,5 pela adição de H_2SO_4 , 1N, meio de cultura 9K (menos o sulfato ferroso) proporcional aos volumes empregados, 20 Kg de pirita, 750 mL do inóculo obtido a partir dos trabalhos realizados com o fermentador e mais a injeção de CO_2 e Ar (Figura 8). Os tanques foram colocado em operação com 7 dias de intervalo um do outro, possibilitando a retirada de uma solução concentrada a cada semana em um tanque diferente. Análises para quantificação microbiológica e controle do pH foram realizadas durante o período de crescimento e após a concentração pelo mesmo método empregado no item 3.1.2.

Este procedimento de concentração foi realizado a cada 15 dias de incubação para cada tanque, quando então o sistema era desligado e o conteúdo deste bombeado para um tanque de sedimentação, ficando armazenado por 2 hora. O sobrenadante era concentrado por meio de um equipamento de ultrafiltração marca Millipore, modelo P17511 com cassete de filtração tangencial em PVDF, marca Millipore de porosidade $0,45\ \mu\text{m}$, com $5\ \text{ft}^2$ de área filtrante, recuperando-se o retido que era novamente passado através do filtro. O precipitado bacteriano era recolhido diretamente do fundo. O volume final, concentrado mais precipitado bacteriano era de aproximadamente 4 litros. Esta suspensão era acondicionada em frascos de polietileno de 1 litro sob refrigeração a $\pm 4^{\circ}\text{C}$ até o momento da aplicação nas pilhas de biolixiviação.

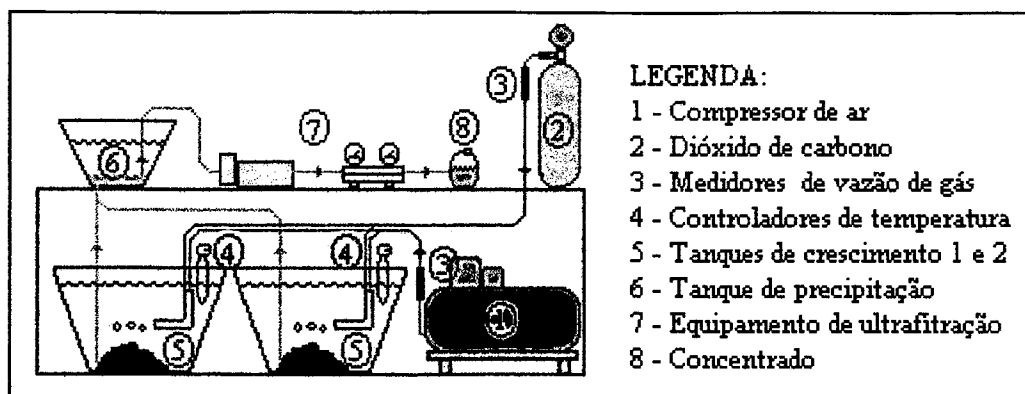


Figura 8 Sistema de cultivo e concentração de *T. ferroxidans* com capacidade para 300 Litros.

3.2 Estudos em Escala Piloto

3.2.1 Materiais

- Lona de polietileno com 0,5 mm de espessura;
- Mangueira plástica com 12,7 mm de diâmetro;
- Tubos e conexões PVC com 25 mm de diâmetro;
- Tubos e conexões de PVC com 40 mm de diâmetro;
- Tanque de fibra, marca Bacoftec com capacidade para 2000 L;
- Tela de Nylon com malha 200 meshes;
- Motobomba, marca Schneider com potência de 1/2 CV;
- Irrigador giratório, marca Biehl, tipo espiga;
- Rotâmetro, marca Ohmel com capacidade para 0-50 L/min;
- Medidor de pH digital, marca Orion, modelo 7020;

Para os testes de lixiviação em escala piloto foram construídos três módulos de lixiviação com capacidade para pilhas de até 25 m³ de carvão como mostra o esquema exposto na Figura 9, apresentando a disposição dos componentes da planta. Os módulos de lixiviação foram projetados e construídos de forma a permitir a biolixiviação de materiais sulfetados dispostos em pilhas constituídas cada qual de 30 toneladas de carvão, montadas em forma semelhante a pirâmide truncada com 6 X 6 metros de arestas na base e 1,20 metros de altura,

com inclinação nas arestas laterais de 45 graus. A estação piloto compreendia ainda sistemas de bombeio, aspersão e recirculação da lixívia e de tanques para armazenamento da solução lixivante, ocupando uma área total de 640 m².

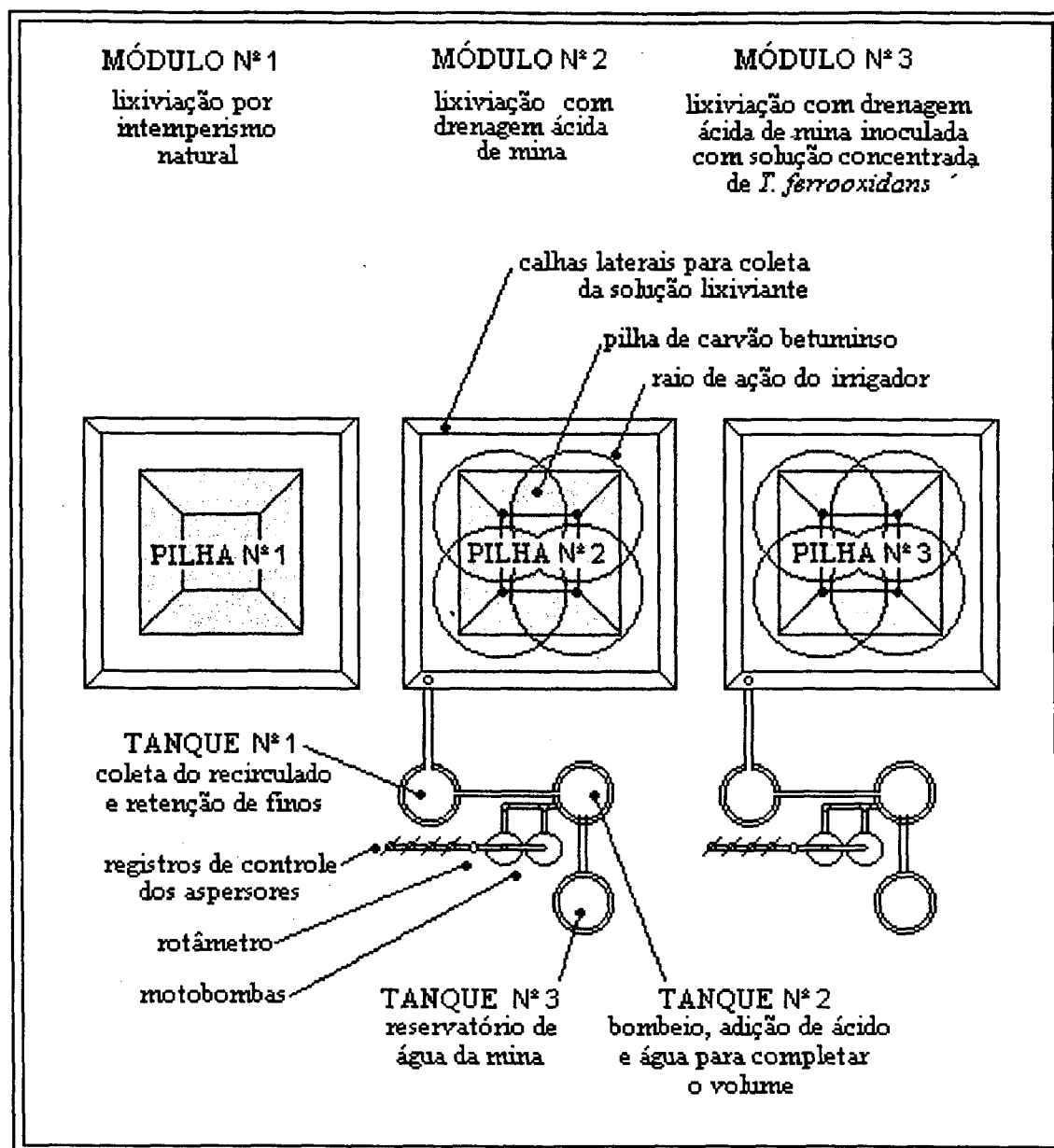


Figura 9 Esquema da planta de lixiviação microbiológica de carvão mineral, instalada no pátio de beneficiamento de carvão, próximo ao lavador, Mina CCU-São Geraldo, Siderópolis, S.C.

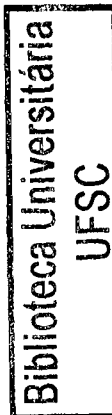
Na construção das pilhas foi utilizado um lote com 90 toneladas do carvão energético 4500. Na Tabela 1 pode-se verificar as características do carvão antes do início do experimento, sendo este lote, uma amostra dos carvões fornecidos rotineiramente ao

Complexo Termelétrico Jorge Lacerda, Tubarão, SC, apresentando os parâmetros granulométricos exigidos pela ELETROSUL.

Tabela 1 Características Médias dos Carvões de Ensaio. (Dados referentes a análise do dia 03/04/1997, do carvão utilizado para construção das pilhas na planta de lixiviação microbiana).

Características	Valor Médio (%)
Carbono Fixo	33,17
Matéria Volátil	22,7
Cinza	44,06
Enxofre Total	2,17
Enxofre Pirítico	1,34
Enxofre Sulfático	0,10
Enxofre Orgânico	0,72
Umidade Higroscópica	0,68
Poder Calorífico Superior	4469 Kcal/Kg

Fonte: Centro Industrial Rio Deserto - CIRDE.



3.2.2 Reagentes

Nos módulos Nº 2 e 3 foi utilizada como solução lixiviante a própria drenagem ácida da Mina São Geraldo de Siderópolis, Santa Catarina. As principais características desta água, podem ser verificadas na Tabela 2.

Tabela 2 Características principais da drenagem ácida utilizada nos experimentos (Mina CCU - São Geraldo, coletada em 13 Abril de 1997).

Parâmetro	Valor
pH	2,50
Potencial redox (mV)	+530,00
Acidez (mg/L como CaCO ₃)	1165,00
Sulfatos (mg/L)	1810,00
Ferro Total (mg/L)	172,13
Cloretos	302,12
NMP para <i>T. Ferrooxidans</i> (bactéria/mL)	2 x 10 ²

Fonte: Centro Industrial Rio Deserto - CIRDE.

Tabela 3. Quantificação de metais presentes na drenagem ácida utilizada nos experimentos (Mina CCU - São Geraldo, coletada em 13 Abril de 1997).

Metal	Teor (ppm)
Alumínio	73,00
Cálcio	159,70
Cádmio	0,01
Cromo	Não detectado
Cobre	0,38
Potássio	2,70
Sódio	17,00
Magnésio	30,80
Manganês	6,70
Chumbo	Não detectado
Zinco	4,82

Fonte: Central de Análises Químicas - Depto. de Química - UFSC.

Esta água era bombeada do interior da mina e ficava represada em uma lagoa a qual abastecia as mesas concentradoras do lavador e, ao mesmo tempo, servia para alimentação e reposição das perdas no sistema piloto (Figura VI do Apêndice A). A reposição da água perdida por evaporação era realizada diariamente junto com a substituição de parte da solução lixiviante e as chuvas sobre as pilhas também foram coletas. O pH da solução lixiviante foi controlado durante o período de operação, por meio da adição de H_2SO_4 comercial a 98%. No módulo Nº 3, foi utilizada como solução lixiviante a drenagem ácida de mina descrita anteriormente, mais o inóculo de bactérias elaborado nos laboratórios da UFSC de acordo com os procedimentos descritos no item 3.1.3 e 3.1.4.

3.2.4 Metodologia de análises para controle dos parâmetros do processo

Durante o período de funcionamento da planta piloto de lixiviação microbiológica, os parâmetros operacionais do processo foram monitorados por meio de análises tanto da fase líquida (lixívia recirculante) como da fase sólida (carvão componente das pilhas) do sistema. A solução lixiviante foi controlada por análise diárias de pH, potencial redox, temperatura e vazão, análises semanais de acidez, ferro total, sulfatos, fosfato total, nitrato e cloreto, e análises quinzenais para quantificação de *Thiobacillus ferrooxidans* pelo NMP. No carvão testado, foram analisados a cada 15 dias os teores de enxofre total, pirítico, sulfático e orgânico.

As análises microbiológicas para a quantificação da cinética microbiana foram efetuadas no LIMA de acordo com a norma técnica CETESB L5.217 (1991) para determinação do número mais provável pela técnica de tubos múltiplos (transcrita no Apêndice B). As demais análises foram realizadas no Centro Industrial Rio Deserto (CIRDE-CCU). Para quantificação dos teores de enxofre pirítico, sulfático, orgânico, total e cinzas do carvão, foram utilizadas as técnicas ABNT 8297 e ASTM 2492 (transcritas no Apêndice B), adaptadas aos procedimentos internos deste laboratório. Os resultados obtidos nestas análises, segundo o controle de qualidade do CIRDE-CCU, podem estar sujeitos a uma margem de variação de $\pm 0,10$ no teor de enxofre apresentado. Os demais parâmetros da lixívia foram analisados de acordo com as técnicas do “Standard Methods for Examination of Water and Wastewater”, também adaptadas aos procedimentos interno do laboratório. As amostras da lixívia recirculada no sistema para quantificação bacteriana e demais parâmetros de controle do processo foram coletadas em quatro pontos com três alturas diferenciadas dentro dos tanques N^o 1 e 2 e misturadas de forma a obter-se uma representação média do conteúdo presente no sistema. As amostras para análises do carvão em processo de biolixiviação foram coletadas por amostrador de sólidos tipo trado helicoidal, sendo composta uma amostra mista de 4 pontos em planta, em alturas variando entre 0,10 a 1,00 metro a partir do topo para o interior da pilha. Estas amostras eram obtidas em locais alternados e homegeinizadas por quarteamento. Este procedimento foi o mais adequado para obter-se uma amostra representativa neste caso, porém, algum erro nos resultados pode ter sido introduzido devido a heterogeneidade granulométrica do carvão estudado.

As determinações de pH temperatura e potencial Redox em campo foram obtidas a partir de leitura direta, com o auxílio de um medidor de pH digital Orion, modelo 7020. Nas análises de pH, foi utilizada uma sonda Ingold modelo B718, tipo combinado, e nas de potencial Redox, uma sonda Analion, modelo Rox 674, também do tipo combinado. A acidez foi determinada por titulação potenciométrica com hidróxido de sódio. Foi necessário adicionar algumas gotas de peróxido de hidrogênio (água oxigenada) e ferver a amostra antes da determinação por causa dos grandes montantes de metais hidrolizáveis presentes. As análises de sulfatos e ferro total foram feitas pelo método turbidimétrico, utilizando-se um espectrofotômetro digital modelo B242 da Micronal.

3.2.3 Metodologia de construção e operação do sistema de biolixiviação

As pilhas foram numeradas de 1 a 3, correspondendo ao número de cada módulo, respectivamente, para facilitar a identificação, conforme a Figura 9 e foram testadas recebendo cada qual um tratamento específico, na seguinte ordem:

- Na pilha Nº 1 nenhum tratamento foi aplicado, ficando esta sujeita apenas a ação do intemperismo natural, servindo como uma prova em branco para o experimento;
- A pilha Nº 2 foi pulverizada com água de drenagem ácida, proveniente do interior da mina São Geraldo e recirculada no sistema;
- A pilha Nº 3 foi pulverizada com a mesma água de drenagem ácida inoculada com soluções concentradas de bactérias capazes de solubilizar a pirita presente no carvão.

As três pilhas de carvão foram depositadas sobre um terreno de 15 por 35 metros, o qual foi terraplenado obedecendo uma inclinação de 5° para proporcionar o escoamento dos líquidos aspergidos no sentido da coleta. Após o acerto do terreno, este foi recoberto com 30 centímetros de argila compactada e revestido com lona plástica para impermeabilizar a base de cada pilha possibilitando o escoamento e recuperação do líquidos aspergido sobre as pilhas. Em torno das pilhas foram instaladas calhas para coleta e transporte da solução lixiviada. As calhas laterais foram cavadas em forma de meia canaleta, com 10 centímetros de raio, impermeabilizadas da mesma forma que o restante do terreno e conectadas a um reservatório de retenção de finos por um tubo de 40 mm. (Figuras VI, VII, VIII e IX, Apêndice A).

Tanto para sistema de lixiviação da pilha Nº 2 como para da pilha Nº 3 foram utilizados três tanques de fibra, com capacidade de 2000 L cada, para armazenar a água e as soluções lixiviantes. Os tanques foram numerados de 1 a 3 e individualmente tinham as seguintes funções: o tanque Nº 1 recebia a lixívia que retornava das pilhas e ocorria a sedimentação dos resíduos finos de carvão arrastados pela solução lixiviante; o tanque Nº 2 servia para o bombeio da solução lixiviante e adição de reagentes ao sistema; o tanque Nº 3 armazenava a solução para abastecimento e complemento dos volumes do sistema. Os tanques foram cobertos por uma tela de nylon para evitar a penetração de insetos, folhas e galhos de árvore trazidos pelo vento, os quais poderiam provocar o entupimento das bombas e irrigadores (Figura X, Apêndice A).

O sistema de bombeio para cada módulo, era constituído de duas motobombas com rotor em PVC, sendo que uma das motobombas funcionava continuamente, enquanto a outra ficava como reserva, ambas acopladas em paralelo ao circuito de distribuição, com opção de manutenção em uma das bombas sem parada do sistema por longos períodos de tempo. Toda tubulação partindo dos tanques de bombeio até os registros de controle de vazão nos irrigadores era constituída de tubos de PVC de 25 mm de diâmetro e ambas as bombas eram acionadas por um painel de comando com as devidas proteções ao funcionamento. Após as motobombas, a tubulação de distribuição da solução lixivante dividia-se em três ramais. O primeiro era o ramal principal que levava o líquido bombeado até os registros de controle de vazão nos irrigadores. O segundo ramal ligava um rotâmetro em paralelo com o ramal principal

e o terceiro ramal retornava o líquido ao tanque de bombeio, possibilitando o controle da vazão no ramal principal.

Os sistemas de aspersão, em cada módulo, eram constituídos de 04 irrigadores de modelo facilmente encontrados no comércio, instalados sobre a pilha com registros individuais para controle de vazão e conexões entre registros e irrigadores feita por meio de mangueiras flexíveis de 12,7 mm (Figura X, Apêndice A). Irrigadores e mangueiras sobressalentes eram mantidos sempre à mão prevendo a sua troca por motivo de entupimento ou ruptura, bem como fusíveis, contactores e outros.

As pilhas de carvão N^{os} 1, 2 e 3 dos módulos N^{os} 1, 2 e 3 foram instaladas entre os dias 14 a 17 de março de 1997, com início das análises no dia 24 de março. Estas pilhas ficaram sob observação até 08 de dezembro de 1997, perfazendo um total de 253 dias em observação. Os módulos foram operados de maneira a proporcionar o tratamento definido no item 3.2.3., com taxa de aplicação média de 300 L/m²/dia, ficando ligados durante 8 horas por dia de segunda a sexta-feira e desligados durante a noite e finais de semana (Figura XI, Apêndice A).

Até o dia 26/10/97 foram realizadas análises de amostras médias do carvão componente das três pilhas, como descrito no item 3.2.4, para acompanhamento e quantificação da redução do conteúdo de enxofre. Nos dias 06/11, 18/11 e 08/12/97, correspondentes respectivamente aos 221, 233 e 253 dias de lixiviação, foram realizadas análises para verificar a influência da granulometria sobre o conteúdo de enxofre. Para tanto, em cada coleta as amostras, foram separadas por peneiras retendo os grãos maiores que 12,7 mm (> 1/2"), entre 12,7 mm e 6,35 mm (< 1/2" e > 1/4"), e menores que 6,35 mm (< 1/4"). Ao final do experimento também foi analisada a granulometria das pilhas para compará-la a granulometria original.

A operação do módulo N^o 2 começou no dia 10 de abril de 1997 e permaneceu em funcionamento até 08 de dezembro de 1997. Iniciou-se com a colocação de 4.000 Litros de água de drenagem ácida de mina nas características apresentadas na tabela 2, dentro dos tanques N^o 1 e 2. Ligou-se a bomba e a vazão foi regulada por meio dos registros dos retornos aos tanques. A água subia aos aspersores e era distribuída sobre as pilhas, percolava através das mesmas, escorria pela base impermeável e voltava ao tanque N^o 1. Durante as 8 horas diárias de funcionamento este ciclo era repetido ininterruptamente. Durante os dois primeiros meses de operação no módulo N^o 2, foi adicionado ácido sulfúrico comercial a 98% na drenagem ácida utilizada para repor o volume perdido, de forma a condicionar o pH da solução lixiviante que estava entrando no sistema, mantendo, assim, o mesmo valor de pH da solução lixiviante que voltava da pilha. Isto proporcionou o acompanhamento nas variações de pH durante a recirculação. Após esse período inicial de 60 dias, tendo-se comprovado que a lixiviação continuada provocava um abaixamento no pH da solução lixiviante, prosseguiu-se a operação adicionando-se cerca de 1.000 Litros por dia de drenagem ácida de mina, o que

evitava o abaixamento excessivo do pH, mantendo-o numa faixa de 2,0 a 2,5. Quando o teor de sulfato atingiu valores anormalmente altos, foi realizada uma troca da água do sistema.

O módulo N^o 3 não foi acionado imediatamente após a instalação, ficando desde de 17 de março de 1997 até o início da operação 14 de agosto de 1997 sujeito a ação do intemperismo, sofrendo durante um período de 150 dias apenas o processo de biolixiviação natural. Após este tempo de espera, ele foi então acionado ficando em operação por 114 dias. O tratamento foi iniciado pela lixiviação com a drenagem ácida de mina durante uma semana para lavar os resíduos superficiais remanescentes no material a ser tratado. Após esta limpeza inicial foi adicionado o caldo bacteriano. A cada 20 dias era feita uma inoculação adicionando-se a solução bacteriana concentrada no laboratório (item 3.1.4) dentro do tanque N^o 2 e homogeneizando durante 20 minutos para então iniciar o bombeio até as pilha de carvão, sendo coletada amostras da lixívia antes e depois da adição do caldo. A adição da solução concentrada em laboratório contendo 10^{12} bactérias/mL, possibilitou a lixiviação em taxas médias de 10^9 bactérias/mL. Neste módulo também a lixívia evaporada era repostada diariamente e as chuvas sobre as pilhas também foram coletadas mantendo-se o pH na faixa de 2,0 a 2,5.

CAPÍTULO IV

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimentos de laboratório

Os testes em laboratório foram realizados de acordo com a metodologia descrita no item 3.1, proporcionando os seguintes resultados para os experimentos de cultivo e concentração dos microrganismos.

4.1.1 Crescimento e cultivo em fermentador de 3,0 Litros

Os resultados obtidos no desenvolvimento da cultura de *T. ferrooxidans* em fermentador de 3 Litros, de acordo com as condições descritas para este experimento (item 3.1.3), podem ser acompanhados por meio dos valores obtidos nas análises de número mais provável, técnica de tubos múltiplos e de pH, efetuadas a cada cinco dias durante o período de cultivo. Estes resultados estão apresentados na Tabela I do Apêndice C e expostos nas Figuras 10 e 11, a seguir.

Observando-se o comportamento do número de bactérias presentes no meio, pode-se constatar um período de crescimento gradativo no número de bactérias, iniciando em $1,60 \times 10^5$ bactérias/mL e aumentando até $9,00 \times 10^7$ bactérias/mL até o décimo dia, a partir do qual inicia-se uma fase de crescimento exponencial atingindo valores máximos em torno de $5,00 \times 10^{10}$ bactérias/mL no décimo quinto dia. A partir deste ponto, observa-se uma redução gradativa da população bacteriana chegando a $1,30 \times 10^7$ bactérias/mL nas quantificações finais. Como base neste dados pode-se deduzir que a melhor época de retirada dos microrganismo do fermentador para a inoculação do sistema de tanques contendo 300 Litros deveria ser por volta do décimo quinto dia.

O pH = 2,51 apresentado inicialmente foi obtido condicionando-se a solução contida no fermentador por meio da adição de H_2SO_4 , 1 N; porém, a medida em que o experimento progride ocorre a diminuição do pH até um valor de 1,40 no vigésimo dia. Este comportamento pode ser explicado pelas reações 3, 4 e 5, discutidas no item 2. A liberação de íons H^+ na solução provoca o abaixamento do pH a medida que as bactérias catalisam, tanto pelo mecanismo direto como pelo indireto, a solubilização da pirita presente no rejeito piritoso contido no fermentador. A partir dos resultados apresentados pelos experimentos com o fermentador, iniciaram-se os trabalhos de concentração do caldo bacteriano no reservatório com 300 Litros.

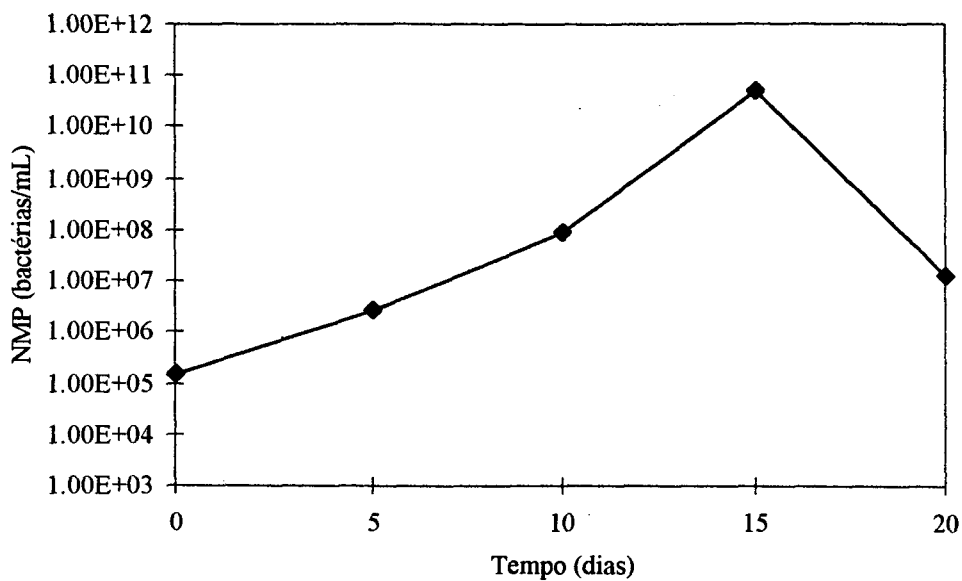


Figura 10 Resultados da quantificação de bactérias pelo NMP durante período de cultivo dos *T. ferrooxidans* no fermentador de 3,0 Litros.

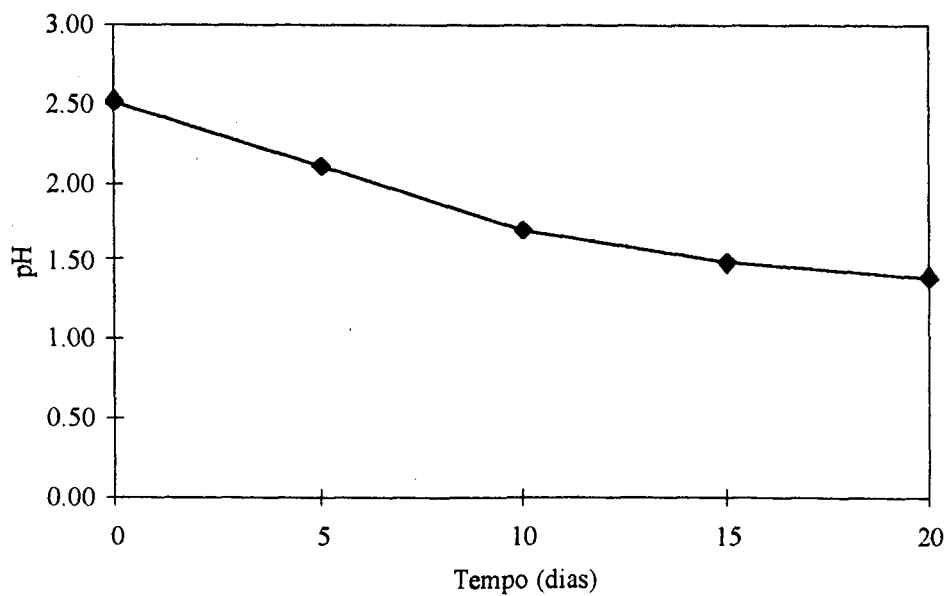


Figura 11 Variação de pH, durante período de cultivo dos *T. ferrooxidans* no fermentador de 3,0 Litros.

4.1.2 Cultivo em reservatório 300 Litros e concentração do caldo bacteriano

Os resultados de quantificação de *T. ferrooxidans* e pH referentes ao cultivo e concentração do caldo no sistema de reservatório com 300 L estão transcritos na Tabela II do Apêndice C e podem ser visualizados na forma de gráfico nas Figuras 12 e 13 a seguir:

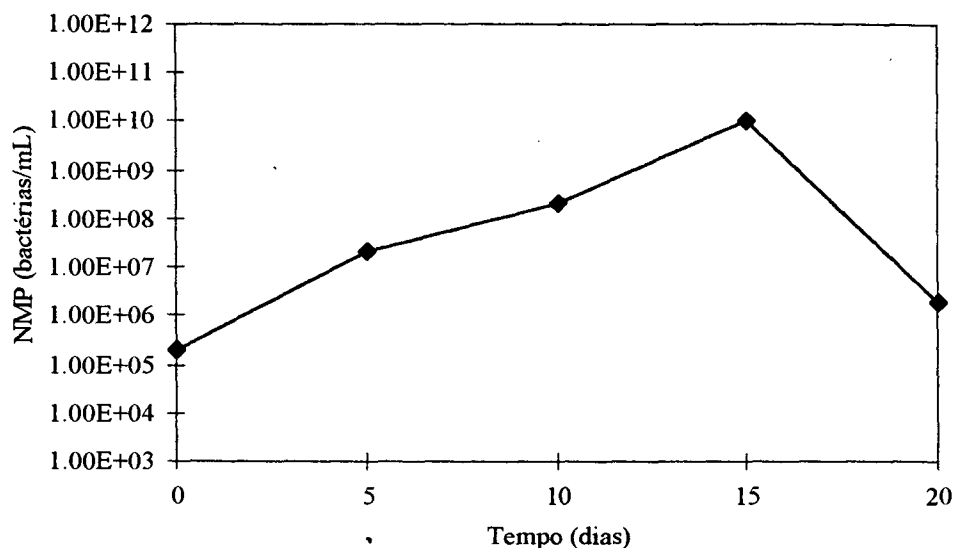


Figura 12 Resultados da quantificação de bactérias pelo NMP durante período de cultivo dos *T. ferrooxidans* no sistema de reservatórios com 300 Litros.

Observando-se o comportamento do número de bactérias presentes no meio, pode-se verificar que este sistema apresentou uma curva de crescimento semelhante à curva do sistema de fermentador de 3,0 L, partindo este experimento com uma quantidade inicial de $2,00 \times 10^5$ bactérias/mL obtidas pelo acréscimo do inóculo produzido no fermentador. Em cinco dias a concentração aumentou para $2,00 \times 10^7$ bactérias/mL, continuando o crescimento até atingir o valor máximo de $1,10 \times 10^{10}$ bactérias/mL no décimo quinto dia, iniciando o decaimento da população partir deste ponto. Dessa forma, a melhor época de retirada e filtração dos microrganismo dos tanques e sua concentração por filtração deveria ser no décimo quinto dia. Neste sistema também ocorreu um abaixamento nos valores de pH durante o tempo de operação. O pH inicial de 2,50 foi diminuindo gradativamente no decorrer do experimento até atingir um mínimo de 1,50.

Com a aplicação do processo de ultrafiltração sobre a cultura contendo $1,1 \times 10^{10}$ bactérias/mL, obtida até o 15º dia no sistema com 300 L foi possível obter uma solução concentrada de até $1,6 \times 10^{12}$ bactérias/mL.

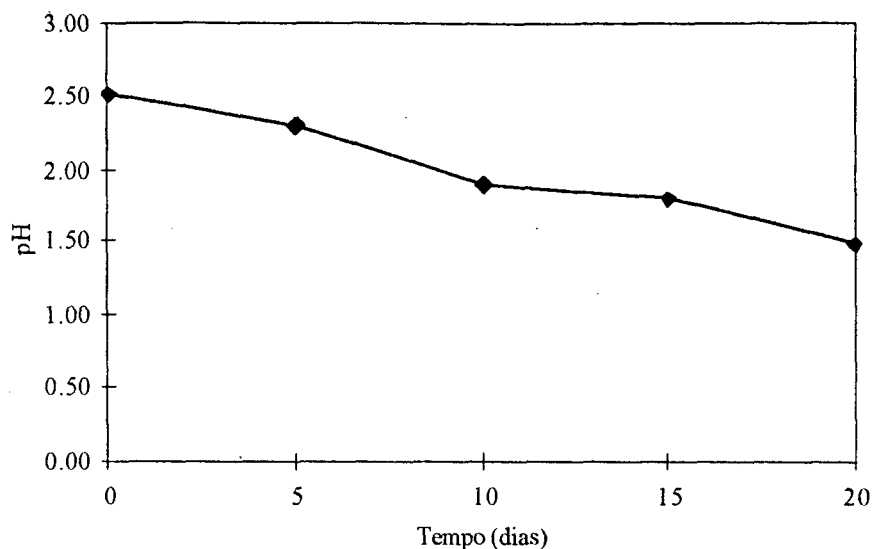


Figura 13 Variação de pH durante período cultivo dos *T. ferrooxidans* no sistema de reservatórios com 300 Litros.

4.2 Experimentos em escala piloto

4.2.1 Introdução

Este teste foi realizado de acordo com a metodologia descrita no item 4.2. Foram construídos três módulos de lixiviação constituídos cada um de 1 pilha com 30 toneladas de carvão com granulometria comercial e o sistema avaliado durante 253 dias, dos quais os últimos 32 dias foram reservados para estudo com diferentes granulometrias.

Em um experimento de campo realizado em escala piloto com estas dimensões, somente a utilização de cálculos para estimar as remoções de enxofre total e pirítico, via sulfato e ferro liberados na solução lixiviante, dificilmente seria tão expressiva quanto a análise direta do conteúdo real de enxofre presente no carvão em cada fase do experimento. Optou-se, portanto, pela leitura por análise direta das formas de enxofre mais comuns. Porém, pelo fato deste estudo ter sido realizado com um carvão do tipo comercial, no qual estão presentes diversas granulometrias misturadas, bem maiores do que as normalmente utilizadas em estudos de laboratório, foi possível constatar que entre os resultados obtidos pelas análises dos teores de enxofre do carvão, alguns apresentavam valores que não correspondiam a tendência natural de redução do enxofre em função de cada tratamento aplicado. Se no decorrer do experimento a tendência do conteúdo de enxofre é diminuir ou mesmo permanecer estático, os resultados que expressam um aumento nestes valores podem ser explicados, não propriamente por erros na análise, mas sim por erros no processo coleta das amostras, onde poderiam ser introduzidos

pontos de maior concentração de enxofre que a presente na média. Entretanto, as medições realizadas foram consideradas adequadas para uma interpretação dos fenômenos ocorridos durante o processo e também para a comparação entre os resultados.

Todos os resultados obtidos por meio das análises quinzenais de enxofre total, pirítico, sulfático, orgânico, umidade higroscópica e cinzas estão apresentados nas Tabelas III, IV e V do Apêndice C e os resultados das análise da solução lixiviante dos módulos N^o 2 e 3 encontram-se nas Tabelas XIII e XIV do Apêndice C.

4.2.2 Módulo N^o 1 - Lixiviação por intemperismo natural

O carvão utilizado para teste no módulo N^o 1 permaneceu exposto ao tempo durante 253 dias de duração do experimento, ficando sujeito a ação do intemperismo natural. As transformações ocorridas nos conteúdos de enxofre até o 212^o foram analisadas em amostras extraídas com granulometris mistas. As características iniciais do carvão utilizado neste módulo estão descritas na Tabela 2 do item 3.2.1 e os resultados completos, provenientes das transformações ocorridas apresentadas na Tabela III do Apêndice A.

No decorrer do experimento, verificou-se que nas proximidades da base da pilha era comum o aparecimento e acúmulo de uma quantidade apreciável de um licor de coloração amarelo-avermelhada que escorria da superfície do carvão junto com a água da chuva. Esse fato indicava que o carvão estava sofrendo tanto a ação de fenômenos físicos e químicos como também o processo de lixiviação microbiológica durante o tempo em que permaneceu exposto ao ar livre. Os componentes desta lixívia não foram identificados, porém, segundo Nelson (1989), os processos de intemperismo no carvão mineral envolvem a oxidação da matéria orgânica pelo ar (intemperismo químico), oxidação microbiana da pirita (intemperismo biológico) e mudanças no tamanho da partícula (intemperismo físico). A pirita no carvão oxida-se lentamente quando exposta ao ar e água produzindo ácidos e ferro ferroso ($2\text{FeS}_2 + 7\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{FeSO}_4 + 2\text{H}_2\text{SO}_4$), formando inicialmente sulfatos de ferro, os quais são em seguida transformados em oxihidróxidos de ferro. Esta oxidação é acelerada pelo aumento da umidade, temperatura, e pressão parcial do oxigênio. O enxofre elementar que não é um constituinte natural do carvão bruto, aparece no carvão que sofreu ação do intemperismo, podendo sua formação estar ligada à autooxidação dos constituintes orgânicos do carvão, bem como pela reação da pirita como hidroperóxidos intermediários ($2\text{FeS}_2 + 3\text{ROOH} \rightarrow \text{Fe}_2\text{SO}_3 + 4\text{S}^{2-} + 3\text{ROH}$). Também ocorre a oxidação microbiológica aeróbia da pirita e outros sulfetos minerais metálicos associados com os depósitos de carvão. O *Thiobacillus ferrooxidans* prontamente oxida os íons ferrosos a íons férricos em pH baixo, como fonte de energia metabólica ($4\text{FeSO}_4 + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow 2\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + 2\text{H}_2\text{O}$). O ferro férrico reage com mais pirita ($\text{FeS}_2 + \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \rightarrow 3\text{FeSO}_4 + 2\text{S}^{2-}$). Outros sulfetos metálicos (MS) também são

atacados pelas soluções sulfato-férrico ($MS + 2Fe^{3+} \rightarrow M^{2+} + 2Fe^{2+} + S^2$). Desta forma, o íon férrico é o maior oxidante da pirita na sequência de oxidação natural e as bactérias são os maiores fatores na geração do íon férrico em águas de drenagem ácida de mina que possuem baixo pH. O enxofre elementar pode também ser oxidado a ácido sulfúrico pelos microrganismos (*T. ferrooxidans* e *T. thiooxidans*).

Os resultados das transformações ocorridas no carvão, apresentados pelas análises dos conteúdos de enxofre, podem ser vistos na Figura 14. Inicialmente tem-se 2,17 % de enxofre total e 1,60 % de enxofre pirítico, os quais, ao final dos 212 dias de duração deste teste, diminuíram para 1,34 % e 0,92 %.

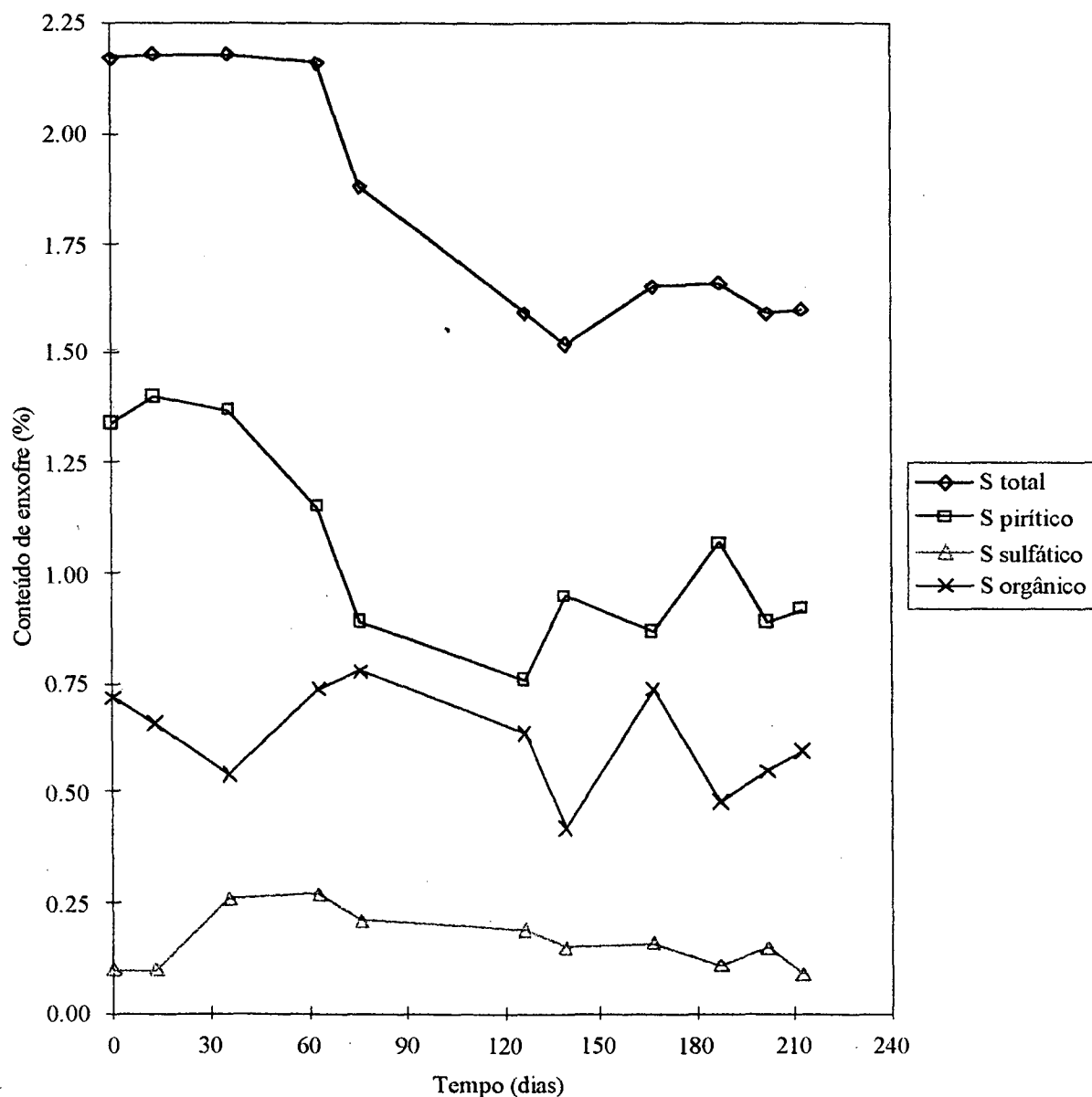


Figura 14 Variação do enxofre total, pirítico, sulfático e orgânico do carvão de ensaio componente da pilha do módulo N.º 1 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

Observando o comportamento destes parâmetros pode-se verificar que, até o 60º dia aproximadamente, os teores de enxofre permanecem constantes e a partir deste ponto começa a ocorrer uma redução mais evidente nos valores, o que significa que, mesmo com a “lavagem” do carvão pela chuva e a conseqüente dissolução de produtos da oxidação dos sulfetos expostos superficialmente, as reações de lixiviação provocadas pelo intemperismo tornam-se mais intensas a partir do 60º dia em diante. Ocorre a partir dessa data uma diminuição gradativa nestes parâmetros até o 126º, a partir do qual ocorreu uma estabilização, sem que grandes variações pudessem ser notadas até o final do experimento.

Em termos de percentagem, considerando 100 % o conteúdo de enxofre inicial, as diminuições totais ocorridas foram de 26 % para o enxofre total e de 31 % para o enxofre pirítico. O enxofre orgânico também sofreu redução de 0,72 % até 0,60 %, correspondendo a 17 % de remoção. Este fato não pode ser explicado pela atividade dos *T. ferrooxidans*, sobre os quais sabe-se serem capazes de solubilizar apenas compostos inorgânicos (item 2.5). A possível presença e atividade de outros microorganismos heterotróficos sobre o material testado (item 2.6) bem como a autooxidação dos constituintes orgânicos do carvão podem ter sido os fatores predominantes na redução do enxofre orgânico (Nelson, 1989). Quanto aos conteúdos de enxofre sulfático e cinzas praticamente nenhuma diminuição significativa ocorreu, levando-se em consideração o tempo que esta pilha ficou em observação. Comparando-se os ensaios granulométricos realizados no início (Tabela VI, Apêndice C) e no final (Tabela VII, Apêndice C) do experimento, pode-se observar que também não ocorreram mudanças expressivas na granulometria do material testado.

4.2.3 Módulo Nº 2 - Lixiviação com drenagem ácida de mina

Este módulo foi colocado em operação 14 dias após a instalação das pilhas de carvão no local, ficando em observação durante 253 dias, com uma parada para manutenção na base impermeável sobre a qual a pilha estava depositada entre os dias 22º e 47º, sendo o período de tratamento por lixiviação com drenagem ácida de 239 dias nos quais, por 212 dias, foi efetuado o acompanhamento dos conteúdos de enxofre com análises em amostras com granulometrias mistas e, por 198 dias, foi controlada as características da solução lixiviante resiculada no sistema, com análises de pH, potencial redox, sulfatos, ferro total, cloretos, nitratos e fosfatos. No 70º dia foi realizada uma troca de água no sistema para reduzir a concentração das espécies químicas presentes na solução lixiviante. Nos dois primeiros meses de lixiviação, foi realizando um teste para verificar as variações provocadas nos valores pH e potencial redox, sulfatos, ferro total, acidez e cloretos da solução lixiviante devido a influência das características intrínsecas do carvão em estudo. Os resultados encontram-se transcritos na Tabela XIII do Apêndice C.

Para execução deste teste foi utilizada a drenagem ácida de mina apresentando pH inicial 2,57. A medida em que a solução lixiviante era recirculada entrando em contato com o material que estava sendo estudado, o pH inicial foi diminuindo até que no 77º dia atingiu 1,66 como pode ser visto na Figura 15. Durante o funcionamento deste módulo, as perdas de solução lixiviante ocorridas eram repostas com nova drenagem ácida com o pH condicionado ao mesmo valor da solução recirculante por meio da adição ácido sulfúrico comercial 98 %. O conhecimento das variações provocadas no pH da solução lixiviante devido a influência do carvão utilizado no ensaio é necessário para que seja possível estabelecer um maior controle das condições de funcionamento do processo de biolixiviação, tendo em vista que, se o conteúdo de material argiloso alcalino presente na ganga mineral for elevado, pode ocorrer o consumo do ácido presente no sistema durante o processo (como representado na reação 9 do item 2.8). Este fato provocaria a elevação do pH acima de 2,50 ocasionando a precipitação de óxidos e hidróxidos férricos na superfície da pirita, impedindo o acesso da solução lixiviante e do oxigênio à superfície mineral (reações 6, 7 e 8), prejudicando o processo (Dutrizac & Macdonald, 1974; Bruynesteyn & Duncan, 1977; Benjamin, 1983; Jaynes et al, 1984). Caso a liberação de ácido em solução seja muito maior do que o seu consumo, o pH da solução recirculante tende a permanecer abaixo de 2,00; podendo ocorrer a inibição da atividade bacteriana (Baker & Wilshare, 1972; Murr, 1980; Jaynes et al, 1984).

A diminuição do pH durante o tempo inicial de lixiviação demonstra a presença de pequena quantidade de material alcalino na ganga mineral, indicando uma tendência maior para a acidificação e conseqüente abaixamento do pH da solução lixiviante como o representado pelas reações 3, 4 e 5, discutidas no item 2.8. Este comportamento apresenta semelhanças ao descrito por Radaway et al (1987) e Cybis (1987).

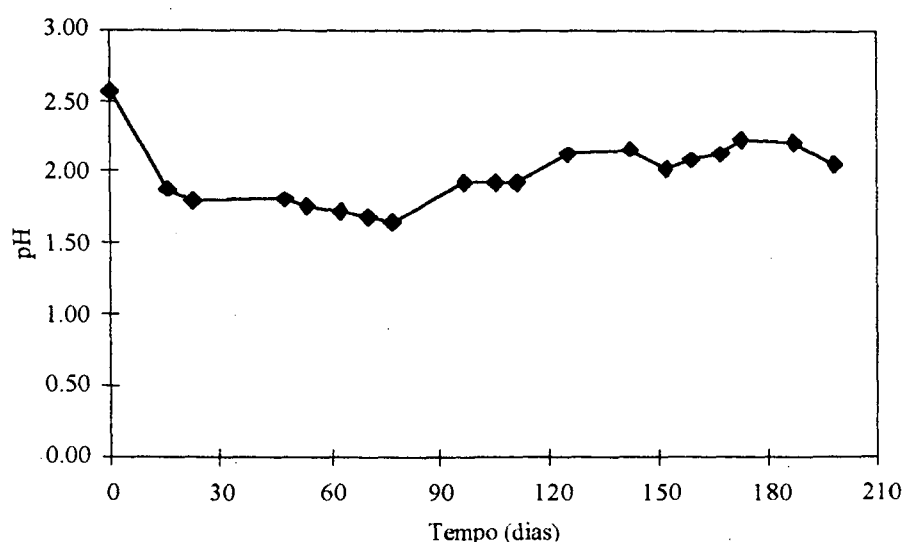


Figura 15 Variação dos valores de pH da solução lixiviante do módulo Nº 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

Com a constatação de que a tendência do pH era de baixar e por isso haveria a necessidade da adição de algum hidróxido ou substância alcalina para a manutenção deste na faixa de valores recomenda ($2,0 \pm 0,5$), optou-se a substituição de uma parte da solução lixiviante contida nos tanques por drenagem ácida com pH inicial aproximado de 2,5. Após diversas tentativas trocando-se 300 L, 500 L, 750 L e 1.000 L de solução recirculante no sistema por drenagem ácida, escolheu-se a substituição diária de 1.000 L, mantendo-se o pH na faixa de 2,1.

Quanto ao potencial redox, sofreu um aumento neste tempo inicial como pode ser observado na Figura 16. A drenagem de mina utilizada como solução lixiviante já possuía inicialmente um valor de potencial redox relativamente alto de 503 mV, o qual aumentou durante a lixiviação do carvão das pilhas, permanecendo numa faixa de valor médio de 634 mV, a partir do 47º até o final do tratamento.

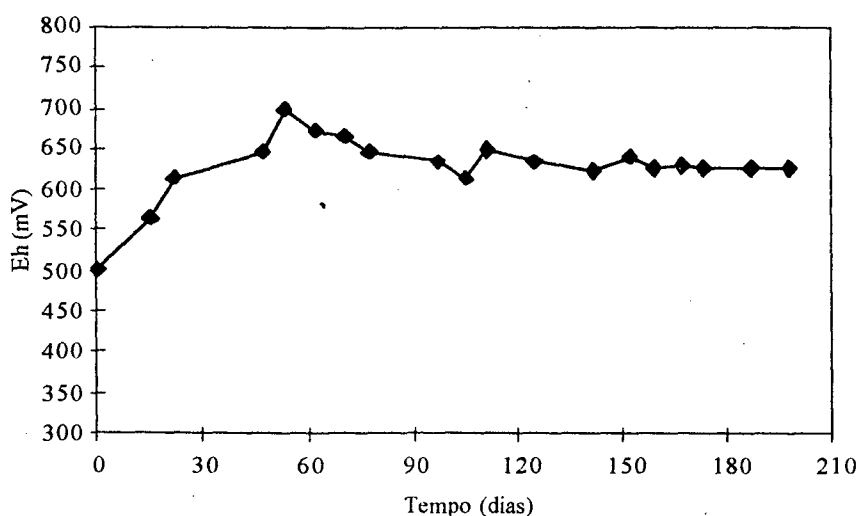


Figura 16 - Variação dos valores de potencial redox da solução lixiviante do módulo Nº 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

Tendências semelhantes foram constatadas por Radaway et al (1987), Cybis (1987), Lizama & Suzuki (1988), Uhl et al. (1989), Ahonen (1992), evidenciando que o Fe^{3+} produzido pelos microorganismos acelera o processo pela manutenção de um alto potencial redox (E_h) no meio durante os experimentos. De acordo com o que foi mencionado no item 2.9.1, em valores de Eh acima de +771 mV ter-se-ia mais Fe^{3+} que Fe^{2+} no processo, um excesso que poderia acelerar a oxidação dos sulfetos, mas ao mesmo tempo poderia ser nocivo ao processo, precipitando-se sobre a superfície do minério, impedindo tanto o mecanismo direto quanto o indireto de ocorrer. Por sua vez o Fe^{2+} possui ação sobre o metabolismo da bactéria, tendo sido demonstrado que sua adição artificial tem efeito positivo na oxidação de sulfeto mineral. Nos processos hidrometalúrgicos o Redox resulta de potenciais misturados e,

portanto, não poderá ser usado para interpretações teóricas da química envolvida, no entanto, estas medidas servem como um bom indicador para o controle químico da lixiviação e na predição do ambiente propício para a atividade bacteriana (Natajara & Iwasaki, 1974; Sakagushi et al., 1976; Torma, 1977; Andrade & França, 1984; Lizama & Suzuki 1988).

Os resultados das análises para controle das concentrações de sulfatos, ferro total, acidez e cloretos na solução lixiviante encontram-se apresentados nas Figuras 17 a 20. Os níveis de sulfato (Figura 17), que inicialmente encontravam-se em 1.810,00 mg/L, aumentaram para 9.674,00 mg/L até o 22º dia, permanecendo praticamente constantes durante o período de para do sistema e voltando a aumentar com o reinício da operação, atingindo um valor máximo de 13.183,00 mg/L no 62º dia, a partir do qual se inicia uma diminuição gradativa até estabilizar-se numa faixa média, com alguma variação na faixa de 2.000,00 mg/L a partir do 170º dia aproximadamente, permanecendo assim até o final.

As altas concentrações de sulfatos presentes no sistema nos primeiros dois meses do experimento podem ter sido devidas tanto a dissolução da pirita presente no carvão como também em função do ácido sulfúrico adicionado para controlar o pH da solução lixiviante. Na fase final do experimento, os valores de sulfato praticamente equivalem aos valores inicialmente introduzidos pela drenagem ácida de mina antes do contato com a pilha de carvão tratado, indicando que quase todo o sulfato que deveria estar presente no sistema provavelmente encontra-se precipitado ou foi dissolvido pela água da chuva, ficando em circulação o sulfato contido na drenagem ácida adicionada.

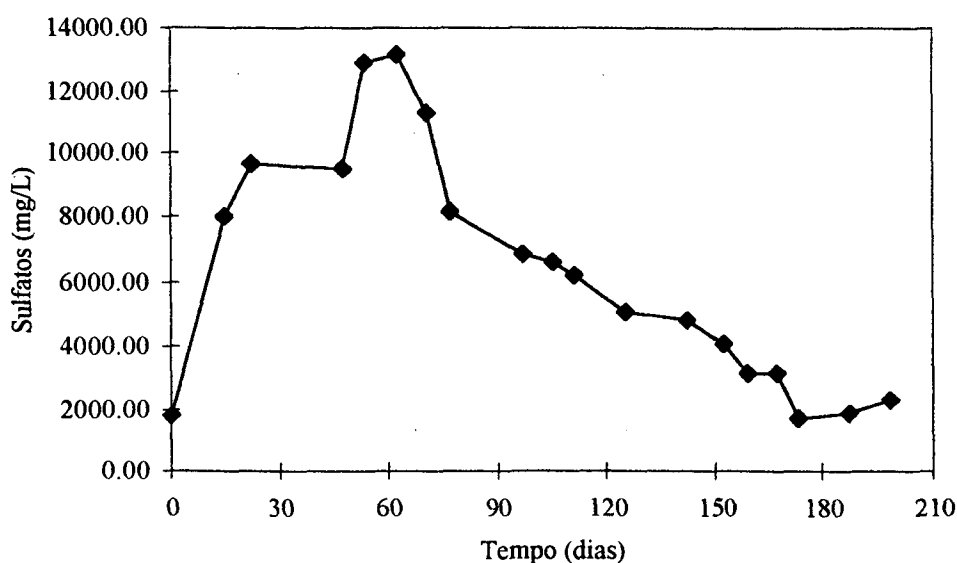


Figura 17 Variação de sulfatos na solução lixiviante do módulo N^o 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

A quantidade de ferro total demonstrada na Figura 18 apresentava inicialmente 172,13 mg/L e aumentou para 2.318,05 mg/L até o 47º dia, permanecendo nesta faixa de valores durante o período de parada e voltando a aumentar com o reinício do funcionamento, até atingir o valor máximo 4.534,07 mg/L no 53º dia, sofrendo um subsequente declínio até 609,00 mg/L no 152º dia a partir do qual permaneceu com pequenas variações em torno de 600,00 mg/L, demonstrando que nenhum acréscimo significativo deste composto em solução ocorreu, provavelmente devido à influência dos fenômenos precipitação e dissolução.

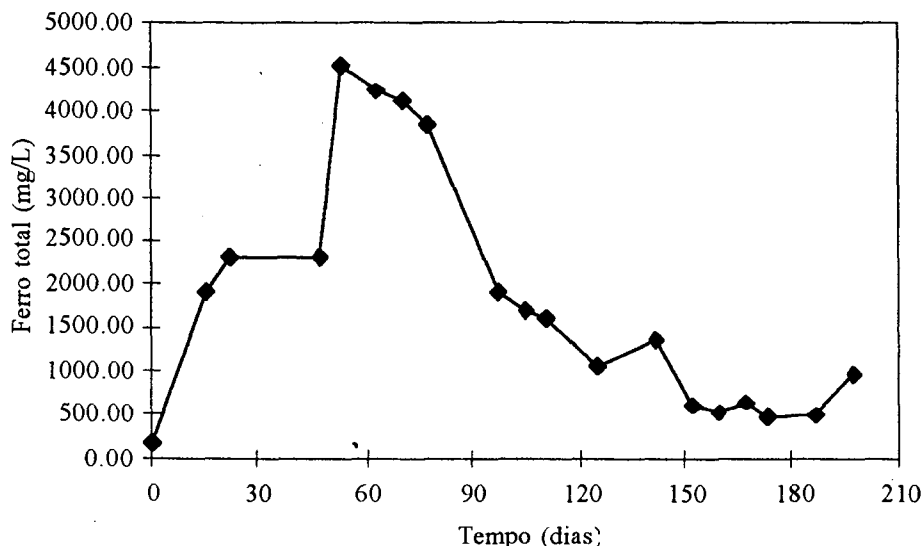


Figura 18 Variação do ferro total na solução lixiviante do módulo N° 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

Os resultados para as análises da acidez apresentados na Figura 19, que no início apresentavam 1.165,00 mg/L, também sofreram elevação para 7.841,24 mg/L até o 22º com estabilização durante a parada do sistema. Estes valores voltaram a aumentar, atingindo um máximo de 11.566,00 mg/L no 62º dia, estando sujeitos a queda gradativa até o 173º dia, permanecendo na faixa de 2.000,00 mg/L até o final.

Os níveis de cloretos sofreram um pico nos 22 primeiros dias de funcionamento, como podem ser vistos na Figura 20. No início haviam 302,12 mg/L, atingindo 17.62,36 mg/L no 22º dia, voltando a diminuir até 503,00 mg/L durante a parada do sistema. Com o reinício da operação, aumentou novamente até 1.258,83 mg/L no 62º dia para em seguida baixar até 307,00 mg/L, mantendo-se nesta faixa de valores até o final do experimento.

As variações ocorridas nas concentrações de sulfatos, ferro total, acidez e cloretos apresentam algumas semelhanças, permitindo algumas considerações em conjunto. Do 1º ao 22º dias de tratamento ocorreu o aumento destes parâmetros, seguido de uma fase sem modificações entre o 22º e 47º dias, correspondendo ao período em que o sistema ficou parado

para manutenção, voltando a aumentar como o reinício da operação, permanecendo em um patamar bastante alto do 53º ao 70º dias quando foi realizada uma troca de água no sistema para evitar que as altas concentrações provocassem a inibição do processo.

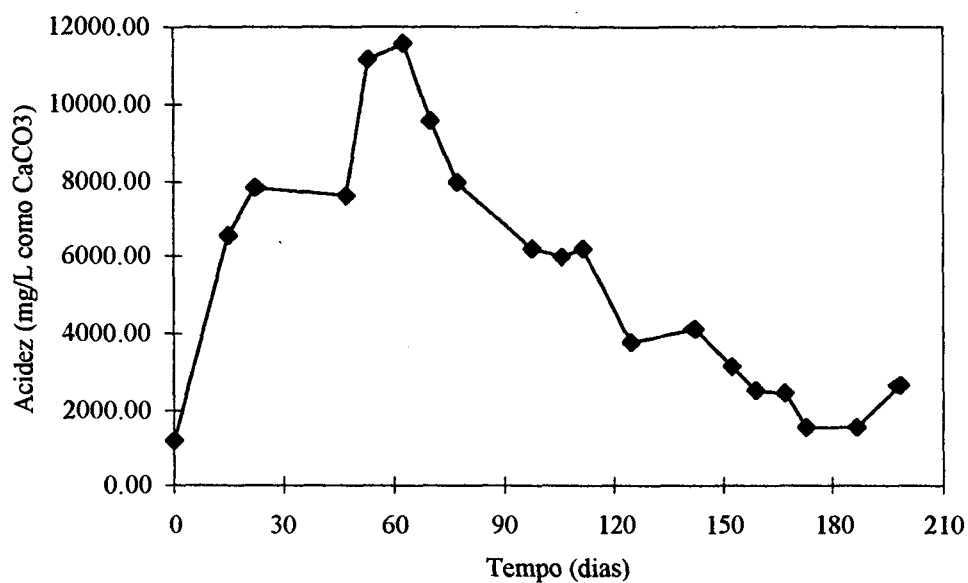


Figura 19 Variação da acidez na solução lixiviante do módulo N° 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

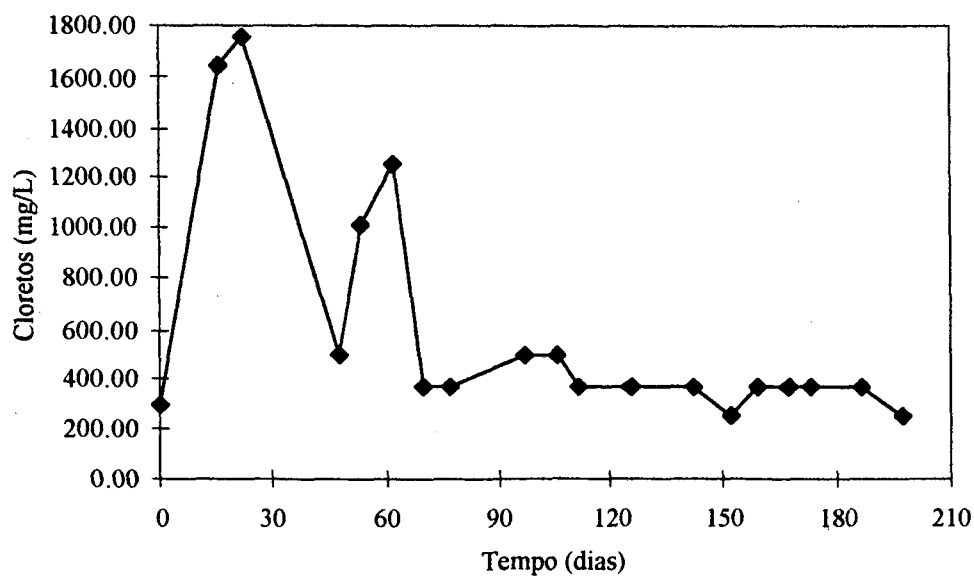


Figura 20 Variação de cloretos na solução lixiviante do módulo N° 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

A partir do 77º dia a solução lixiviante começa a apresentar concentrações menores de sulfatos, ferro total, acidez e cloretos, sendo que a tendência natural do processo de lixiviação do carvão seria de aumentar estes parâmetros, caso não houvesse ocorrido seguidamente a dissolução da solução lixiviante pela água da chuva. As chuvas, que incidiam sobre as pilhas de carvão, também eram coletadas nos tanques de armazenamento de lixívia, ocorreram com maior frequência e intensidade a partir do mês de julho, isto é, aproximadamente por volta do 90º dia em diante. De forma que, neste período, devido a diluição frequente, as concentrações diminuem ao invés de aumentar como era esperado.

Nos primeiros 60 dias do teste, provavelmente ocorreu a lixiviação dos compostos presentes na região mais superficial do carvão; isso ocasionou a dissolução, na lixívia, dos produtos da oxidação dos sulfetos e outras substâncias presentes. Esse fato explica o aumento acentuado das concentrações de sulfato, ferro, acidez e cloretos, atingindo um valor máximo por volta do 52º dia. Nesta fase do experimento, a manutenção do pH da lixívia em valores abaixo de 2,0 influenciou na permanência destas substâncias em solução. No entanto, não ocorreu remoção aparente do enxofre presente no carvão, como pode ser verificado na Figura 21 referente aos dados da Tabela IV. Até o 62º dia, os conteúdos de enxofre total permaneceram constantes e houve pouca remoção do enxofre pirítico. Somente desta data em diante, as concentrações de ambos começam a diminuir.

Após os 60 primeiros dias o pH começa a elevar-se acima de 2,0, pois até então haviam sido adicionados 15,5 litros de ácido sulfúrico para condicionar o pH. Com a interrupção na adição de ácido e o conseqüente aumento gradativo do pH em função da água adicionada para complementar o volume, verifica-se que os compostos que se mantinham em suspensão em pH menor começam a precipitar-se diminuindo a quantidade destes em solução. Este comportamento também foi observado por Cybis (1987), em experimento realizado em menor escala com amostras de carvões semelhantes.

A precipitação de hidróxidos ficou evidente pela constatação da presença de material retido no fundo dos tanques de armazenamento de lixívia e também pela modificação na coloração da solução recirculante, a qual possuía até então cor avermelhada e passou a ficar transparente. Esse fato poderia ter causado o envelopamento dos fragmentos de carvão, dessa forma, inviabilizando o acesso, à superfície dos fragmentos, de O_2 , CO_2 e Fe^{3+} . Porém o bombeio ininterrupto, com a lixiviação continuada durante oito horas por dia, pode ter auxiliado no funcionamento do processo de oxidação microbiológica.

Quanto aos teores de enxofre total e pirítico (Figura 21), estes permanecem sem alteração nos primeiros 60 dias do experimento, vindo a diminuir a partir deste ponto até o 120º dia, quando tendem a estabilizar, sem que grandes variações pudessem ser notadas até o final do experimento. As remoções de enxofre total e pirítico mais significativas que ocorreram apresentaram-se a partir do 75º dia do teste em diante, com diminuição dos teores de enxofre

total de 2,17 % para 1,66 % e do enxofre pirítico de 1,34% para 1,01 %, proporcionando remoções finais de 29 % e 30 %, respectivamente. O enxofre orgânico também sofreu redução de 0,72 % até 0,52 %, correspondendo a 26 % de remoção. Este fato não pode ser explicado pela atividade dos *T. ferrooxidans*, sobre os quais sabe-se serem capazes de solubilizar apenas compostos inorgânicos (item 2.5). A possível presença e atividade de outros microorganismos heterotróficos sobre o material testado (item 2.6) bem como a autoxidação dos constituintes orgânicos do carvão podem ter sido os fatores predominantes na redução do enxofre orgânico (Nelson, 1989).

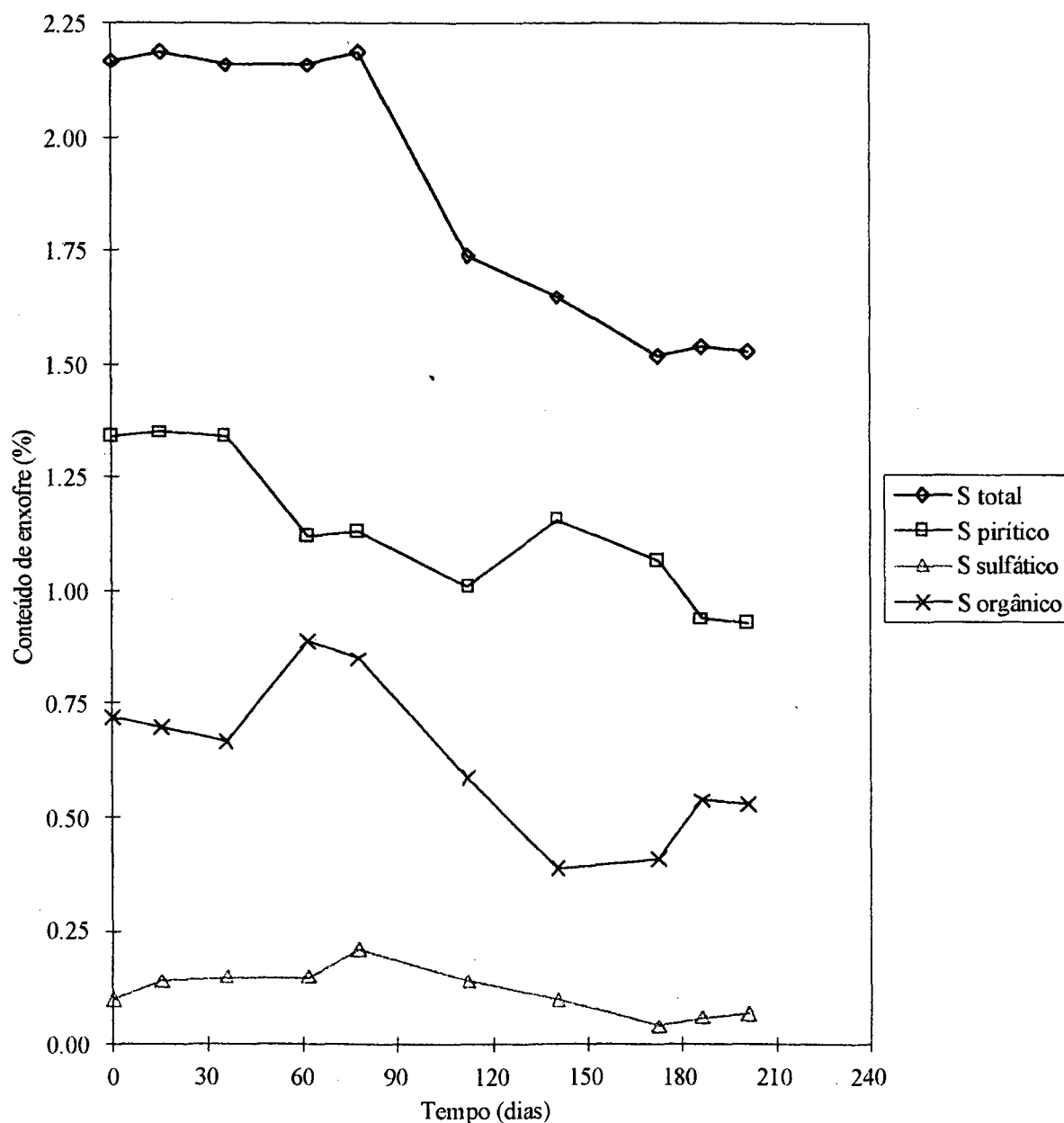


Figura 21 Variação do enxofre total, pirítico, sulfático e orgânico do carvão de ensaio componente da pilha do módulo N^o 2 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

Nenhuma remoção apreciável de enxofre sulfático e cinzas foi notada, fato que vem corroborar com as experiências anteriormente feitas por Dugan et al. (1985) e Cybis (1987). Comparando-se os ensaios granulométricos realizados no início e no final do experimento (Tabelas VI e VIII, Apêndice C) pode-se observar que também não ocorreu mudança na granulometria do material testado.

Análises para quantificação de *Thiobacillus ferrooxidans* pela técnica de número mais provável (NMP) também foram realizadas e encontram-se transcritas na tabela XV do Apêndice C, sem no entanto conseguir-se estabelecer alguma correlação entre o número de bactérias presentes em solução e os demais parâmetros aqui discutidos.

4.2.4 Módulo N^o 3 - Lixiviação com adição de microrganismos

Os experimentos no módulo foram realizado de acordo com o item 3.2 da metodologia. A pilha de carvão foi depositada no local em 17 de março de 1997. Por problemas de ordem operacional os testes com lixiviação somente foram iniciados em 14 de agosto de 1997 ficando durante o intervalo de tempo entre a instalação e o início do experimento sujeito a ação do intemperismo natural, sofrendo o mesmo processo de biolixiviação natural ocorrido na pilha do módulo N^o 1. Após o tempo de espera, o módulo N^o 3 foi acionado, ficando em operação por 114 dias, sendo o acompanhamento do conteúdo de enxofre por análises em amostras com granulometrias mistas, realizado desde o dia da instalação do módulo, perfazendo um total de 212 dias. Os parâmetros da solução lixivante foram acompanhados durante 73 dias.

Os resultados para as análises de pH, potencial redox, sulfatos, ferro total, acidez e cloretos solução lixivante estão transcritos na Tabela XIV do Apêndice C e as variações ocorridas durante o tempo de experimento estão apresentadas nas Figuras 22 a 27. Verificando-se o comportamento do pH na Figura 22, pode-se constatar que o tratamento iniciou-se em pH 2,52, que é o pH natural da drenagem ácida utilizada como solução lixivante. No 7^o dia de funcionamento, pode-se verificar uma diminuição para 2,02 explicada pelas reações 5, 6 e 7 do item 2.8, mantendo-se próximo a este valor até o final do experimento. Neste módulo, assim como no módulo N^o 2, também foi realizada diariamente a substituição de uma parte da solução lixivante por drenagem ácida (ver item 4.2.3). Como nenhum reagente foi adicionado ao sistema para condicionar o pH, a manutenção destes valores devem-se ao abaixamento provocado pela liberação de ácido no meio como resultado do processo de biolixiviação e pela substituição diária de 1.000 Litros da solução lixivante contida no sistema.

As variações no potencial Redox (Eh) também foram acompanhadas durante o processo, permitindo obter-se os valores apresentados na Figura 23. Inicialmente o potencial redox da solução lixivante encontrava-se em 536 mV. A drenagem de mina utilizada como solução lixivante já possuía inicialmente um valor de potencial redox relativamente alto de 530

mV, aumentando para 610 mV até o 7º dia e permanecendo em torno de 630 mV até o final. Este comportamento assemelha-se ao discutido em no módulo N° 2.

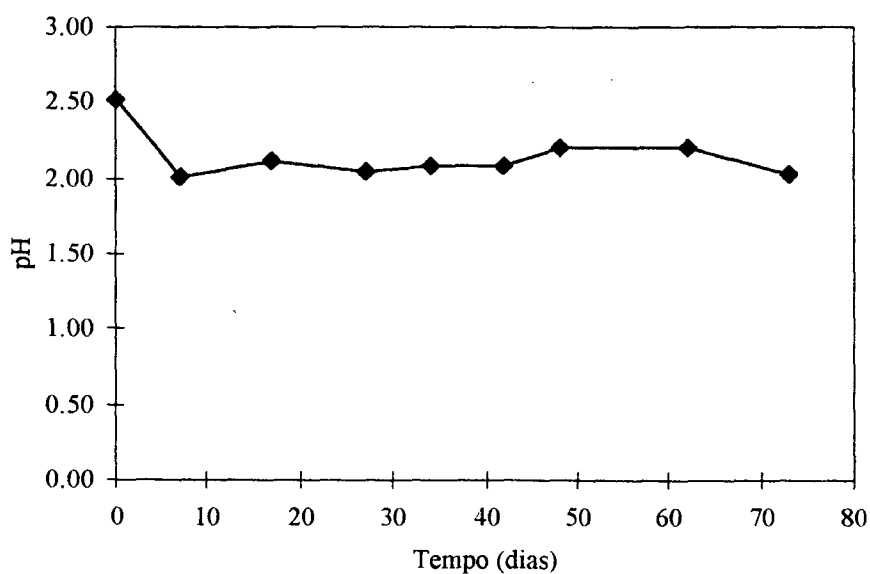


Figura 22 Variação dos valores de pH na solução lixiviante do módulo N.º 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

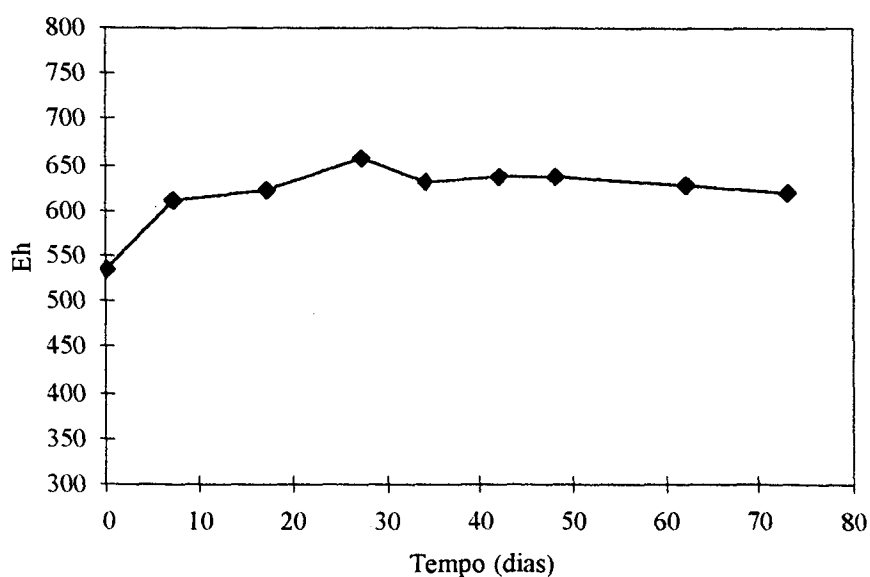


Figura 23 Variação dos valores de Eh na solução lixiviante do módulo N.º 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

As variações de sulfatos, ferro total, acidez e cloretos na solução lixiviante estão mostradas nas Figuras 24 a 27. Os níveis de sulfato, apresentados na Figura 24, inicialmente

eram de 2.630,00 mg/L e aumentaram para 6.586,00 mg/L até o 7º dia, iniciando uma diminuição gradativa até atingir 2.082,00 mg/L no 48º dia, permanecendo nesta média de valores até o final. A partir deste ponto os valores finais de sulfato apresentados pelas análises da solução lixiviante apresentaram-se muito baixos, indicando que quase todo o sulfato que deveria estar presente no sistema como resultado do tratamento, provavelmente encontrava-se precipitado ou havia sido diluído pela água da chuva, ficando em circulação somente o sulfato contido na drenagem ácida adicionada.

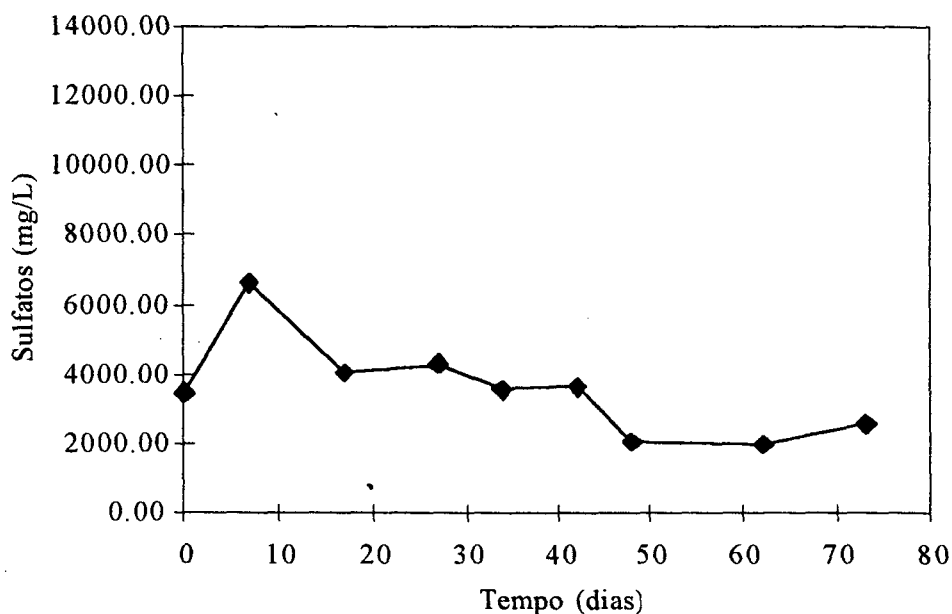


Figura 24 Variação de sulfatos na solução lixiviante do módulo N° 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

A quantidade de ferro total, como mostra a Figura 25 era de 669,00 mg/L do início aumentou para 1.508,00 mg/L até o 7º dia voltando a diminuir para 633,00 no 48º dia. Após cinquenta dias, praticamente estabilizou-se com alguma variação em torno de 630,00 mg/L, não apresentando nenhum acréscimo significativo.

Os resultados para as análises da acidez (Figura 26) inicialmente apresentaram o valor de 2.630,00 mg/L, sofrendo elevação para 5.600,00 mg/L até o 7º dia, seguida de diminuição para 1.757,00 mg/L até o 48º dia, com pequenas variações até o final.

Os níveis de cloreto, como mostra a Figura 27, não sofreram grandes variações, permanecendo numa faixa média de valores de 377,00 mg/L. Neste módulo, a lixiviação dos compostos presentes na região mais superficial do carvão durante os primeiros dias do experimento ficou evidente pelos mais altos índices de sulfato, ferro e acidez presentes em solução. Porém, pode-se observar que os valores encontrados são muito menores do que os

obtidos pelas análises da solução lixiviante utilizada no módulo N^o 2, indicando que, durante o tempo em que o carvão testado ficou estocado a espera do início do tratamento por biolixiviação, muitos dos compostos presentes na superfície já haviam sido removidos por ação do intemperismo natural.

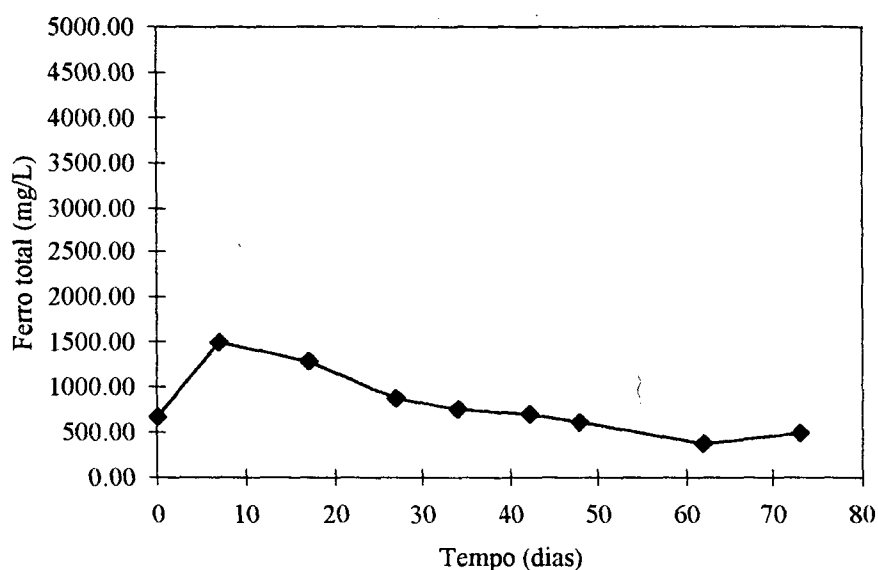


Figura 25 Variação do ferro total na solução lixiviante do módulo N^o 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

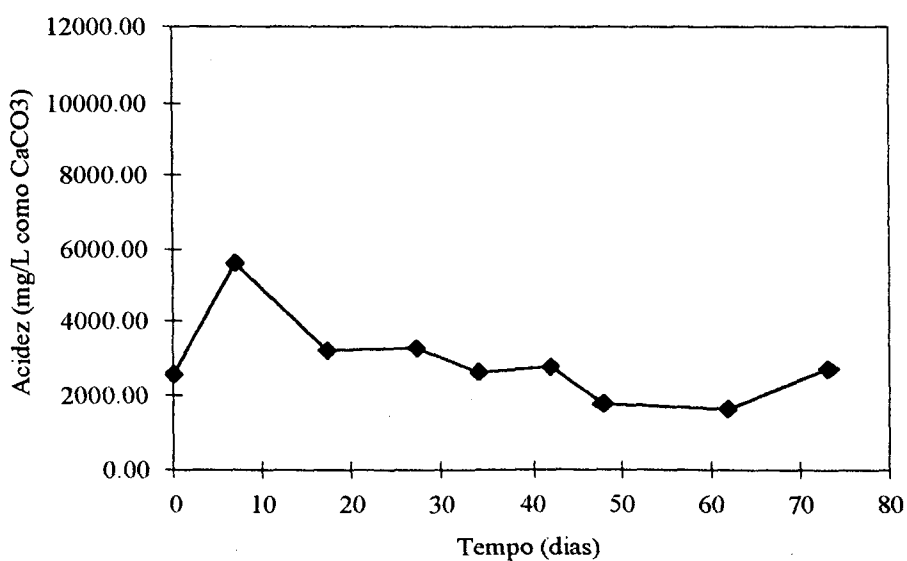


Figura 26 Variação da acidez na solução lixiviante do módulo N^o 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

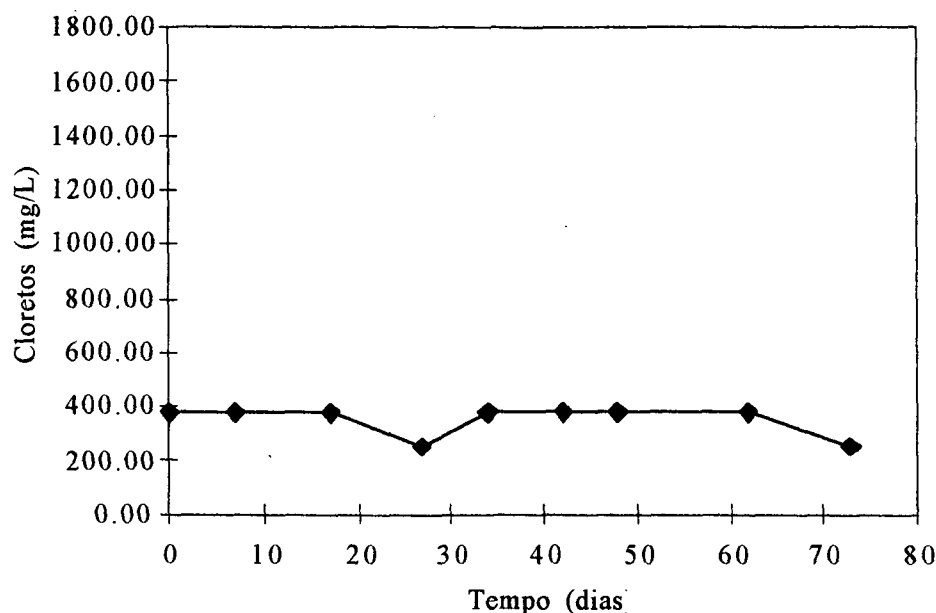


Figura 27 Variação de cloretos na solução lixiviante do módulo N° 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

As análises do conteúdo de enxofre realizadas no dia 13/06/97 (Tabela V do Apêndice C), data do início do tratamento no módulo 3, apresentaram para o enxofre total 1,77 % e para o enxofre pirítico 0,99 %. Estes valores, se comparados aos obtidos nas análises do dia 23/04/97, data em que foram instaladas as pilhas de carvão nos respectivos módulos de lixiviação, os quais eram de 2,17 % para o enxofre total e 1,34 % para o enxofre pirítico, confirmam que ocorreu uma diminuição dos teores decorrentes da lixiviação microbiológica ocorrida durante tempo em que o carvão constituinte da pilha 3 ficou aguardando, exposto ao ar livre, o início do tratamento a ser aplicado.

Os resultados obtidos com as análises dos conteúdos de enxofre presente no carvão durante todo o período de estudo podem ser verificados na Figura 28, referente aos dados da Tabela V do Apêndice C. Neste módulo, também pode-se verificar que as mudanças no conteúdo de enxofre começaram a ocorrer por volta do 63º dia a partir da instalação das pilhas no local. Iniciou-se a lixiviação com introdução de 4 litros da solução concentrada com $1,6 \times 10^{12}$ bactérias/mL produzidas no laboratório (item 3.1.4) em 4.000 litros de solução lixiviante, o que possibilitou a inoculação da pilha N° 3 com um valor médio de 10^9 bactérias/mL de solução lixiviante. Se considerarmos o peso de uma célula igual a $8,3 \times 10^{-10}$ mg, teremos 830 mg de bactérias/Litro de solução lixiviante (Okerere & Stevens, 1991).

Após a adição da solução concentrada contendo os *T. ferrooxidans* no 150º dia, pode-se observar que o decaimento no conteúdo de enxofre prossegue no decorrer do tratamento, não ocorrendo a mesma estabilização apresentada pelas pilha N° 1 e 2, passando dos iniciais

1,77 % de enxofre total e 0,99 % de enxofre pirítico, para 1,28 % e 0,64 %, respectivamente, no final. Obteve-se, dessa forma, um total de remoção de 41 % de S total e 52 % de S pirítico.

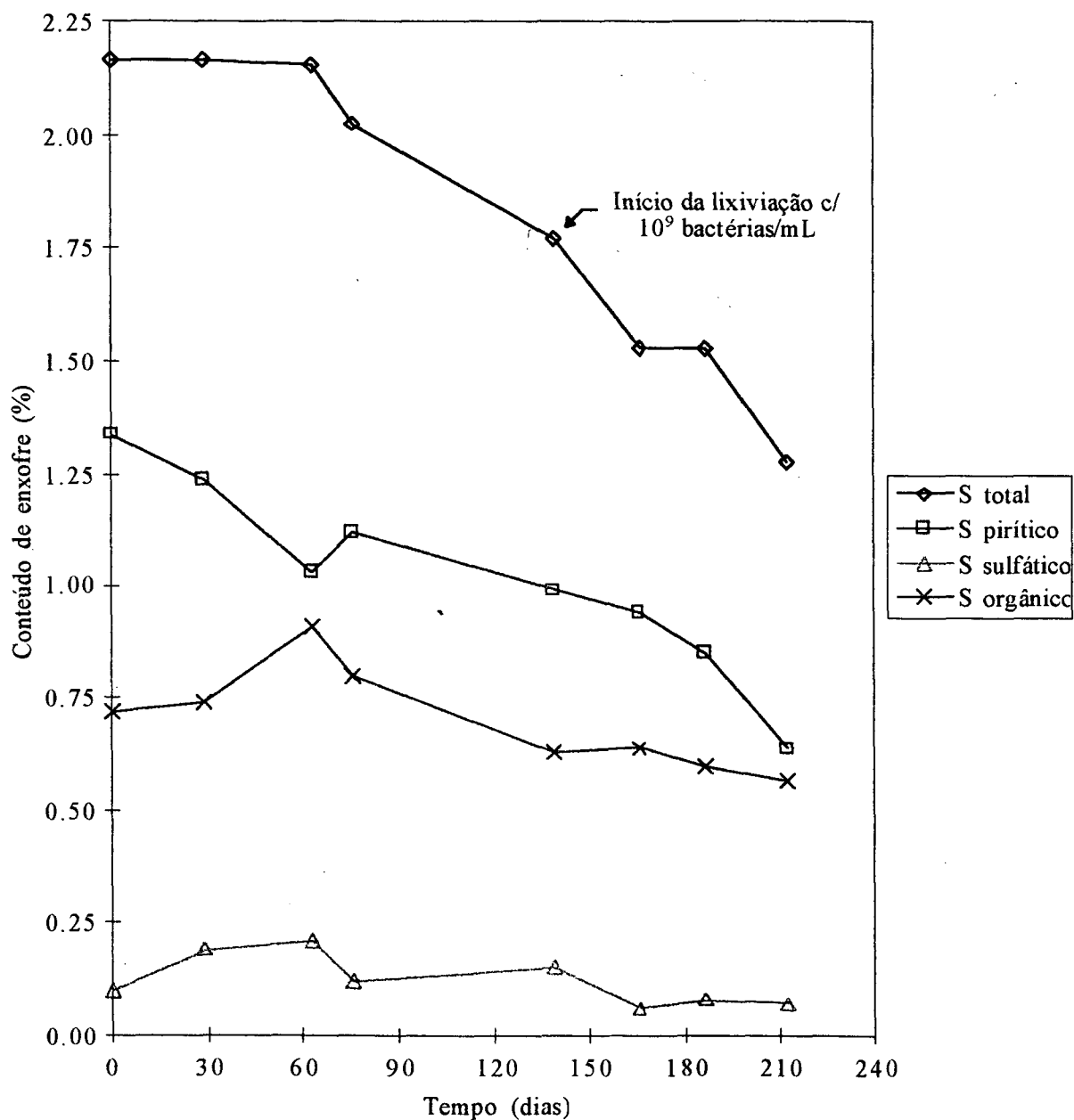


Figura 28 Variação dos teores de enxofre total, pirítico, sulfático e orgânico do carvão de ensaio componente da pilha do módulo N^o 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica.

O enxofre orgânico também sofreu redução de 0,72 % até 0,57 %, correspondendo a 21 % de remoção. Este fato não pode ser explicado pela atividade dos *T. ferrooxidans*, sobre quais sabe-se serem capazes de solubilizar apenas compostos inorgânicos (item 2.5). A possível presença e atividade de outros microorganismos heterotróficos sobre o material testado

(item 2.6), bem como a autoxidação dos constituintes orgânicos do carvão podem ter sido os fatores predominantes na redução do enxofre orgânico (Nelson, 1989). As reduções nos conteúdos de enxofre sulfático e cinzas não foram significativas. Comparando-se os ensaios granulométricos realizados no início e no final do experimento (Tabela IV e IX, Apêndice C), pode-se observar que não ocorreu mudança na granulometria do material testado.

Análises para quantificação de *T. ferrooxidans* pela técnica de número mais provável (NMP) também foram realizadas e encontram-se transcritas na tabela XVI do Apêndice A, sem no entanto conseguir-se estabelecer alguma correlação entre o número de bactérias presentes em solução e os demais parâmetros aqui discutidos.

4.2.5 Conteúdo de enxofre analisado em diferentes granulometrias

As amostras nos testes realizados para verificar a influência da granulometria sobre o conteúdo de enxofre foram coletadas e analisadas separadas por peneiras retendo os grãos maiores que 12,7 mm ($> 1/2''$), entre 12,7 mm e 6,35 mm ($< 1/2''$ e $> 1/4''$), e menores que 6,35 mm ($< 1/4''$), com descrito no item 3.2.3 da metodologia. Os resultados desta análises estão transcritos nas Tabelas X, XI e XII do Apêndice 3 e podem ser também visualizados nas Figuras 29, 30 e 31.

Comparando-se os valores de enxofre total (%) presente em cada faixa granulométrica, o carvão constituinte da pilha N^o 1 situou-se na faixa de 1,85 % para as granulometrias acima de 12,7 mm, 1,60 % para as granulometrias entre 12,7 e 6,35 mm, e 1,05 % para as granulometrias abaixo de 6,35 mm. O enxofre total do carvão pertencente a pilha N^o 2 situou-se na faixa de 2,28 % para as granulometrias acima de 12,7 mm, 1,55 % para as granulometrias entre 12,7 e 6,35 mm, e 1,08 % para as granulometrias abaixo de 6,35 mm. O enxofre total do carvão constituinte da pilha N^o 3 situou-se na faixa de 2,00 % para as granulometrias acima de 12,7 mm, 1,61 % para as granulometrias entre 12,7 e 6,35 mm, e 1,03 % para as granulometrias abaixo de 6,35 mm.

A comparação dos valores encontrados para os carvões constituintes das três pilhas em faixas granulométricas distintas permite observar que o teor de enxofre contido no carvão vai diminuindo à medida em que diminui o tamanho dos grãos, o que vem a confirmar que a eficiência do processo de lixiviação esta relacionada ao tamanho do grão como havia sido afirmado anteriormente por Mater & Corseuil (1995).

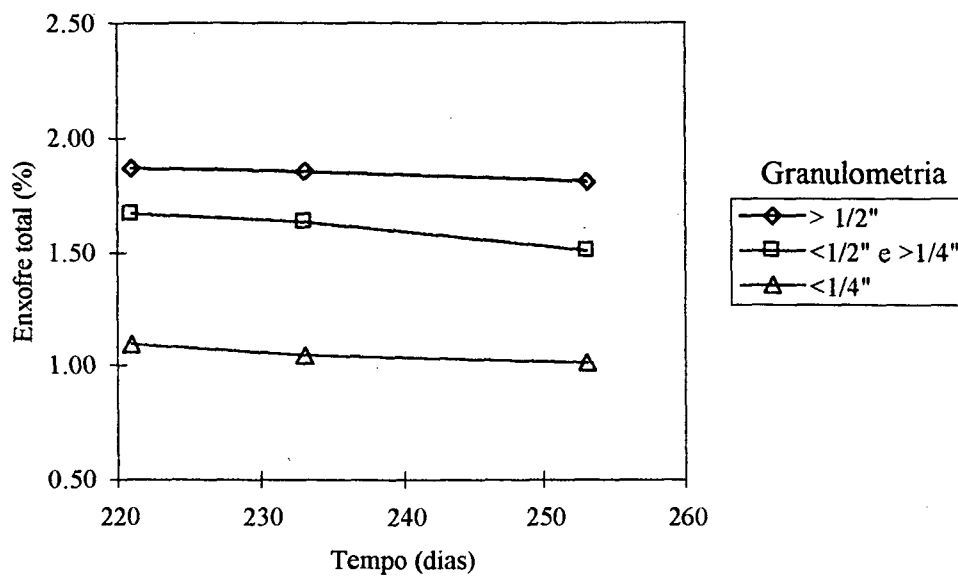


Figura 29 Variação dos teores de enxofre total do carvão de ensaio do módulo N° 1 analisado com amostras em diferentes faixas granulométricas.

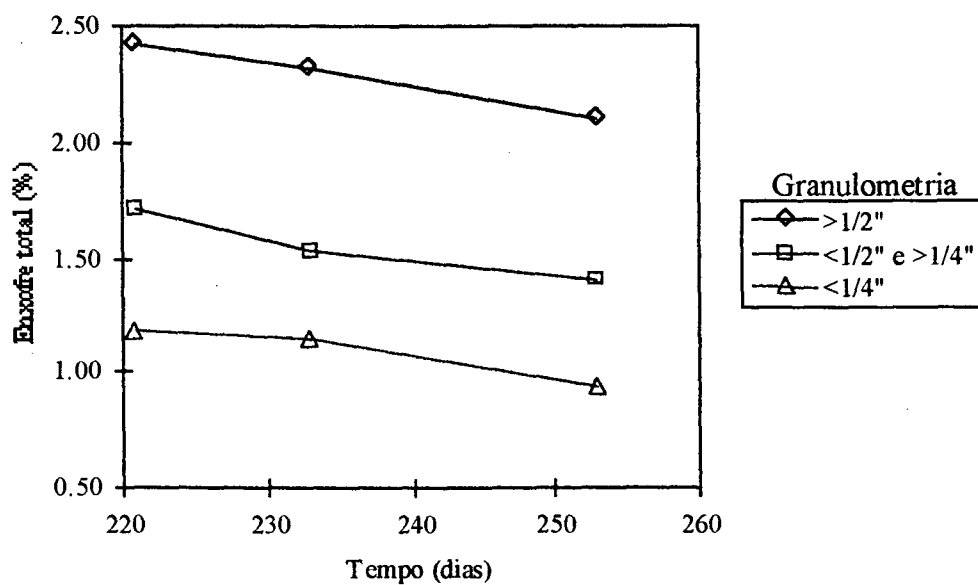


Figura 30 Variação dos teores de enxofre total do carvão de ensaio do módulo N° 2 analisado com amostras em diferentes faixas granulométricas.

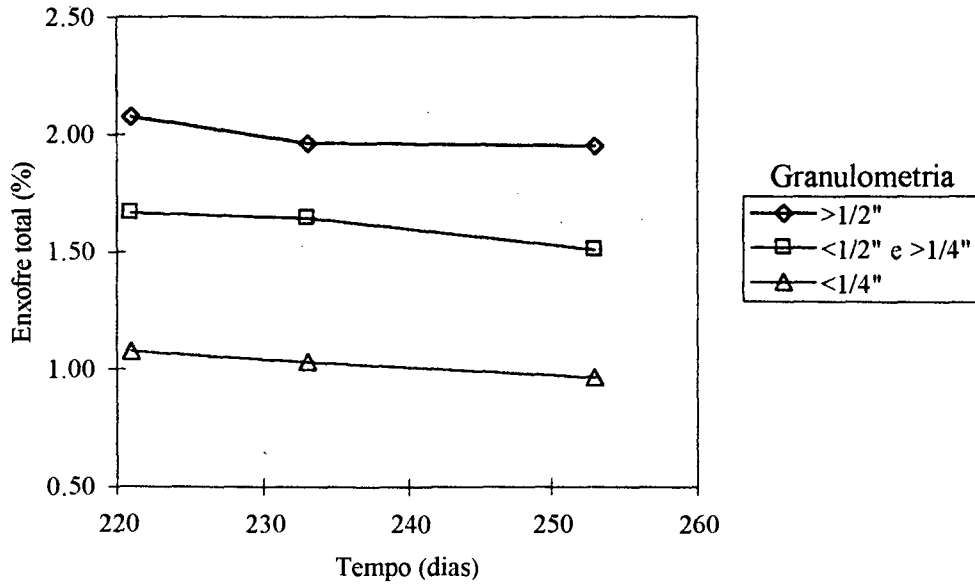


Figura 31 Variação dos teores de enxofre total do carvão de ensaio do módulo Nº 3 analisado com amostras em diferentes faixas granulométricas.

4.2.6 Comparação dos resultados da remoção do enxofre ocorrida nos três módulos

Para comparar os resultados obtidos no processo de lixiviação microbiológica entre as três pilhas de carvão componentes da planta piloto, foi utilizado o enxofre total como parâmetro. De modo a tornar possível esta comparação, fez-se necessário a obtenção de uma taxa de reação, em relação ao tempo, para cada uma das pilhas testadas. Várias tentativas de adaptação dos dados relativos as remoções de enxofre total e pirítico a modelos matemáticos foram realizadas (Swayer, 1994). Com base nos experimentos anteriormente realizados e na bibliografia consultada, uma boa estimativa pode ser conseguida por meio da utilização de um modelo aproximado de cinética de primeira ordem, relacionando as concentrações de enxofre total e pirítico remanescente no rejeito com o tempo (Cybis 1986; De Luca 1992; Mater & Corseuil, 1995). Em reações de primeira ordem, a taxa de decomposição é diretamente proporcional a quantidade de enxofre não removido e pode ser expressada matematicamente como:

$$-\frac{dC}{dt} = kC \quad (14)$$

onde o sinal de menos indica a perda de material com o tempo, C é sua concentração em um determinado tempo, e k é a constante da taxa para a reação e possui unidades recíprocas de tempo.

Se a concentração inicial, num tempo $t = 0$, é C_0 , e se em um tempo seguinte t a concentração caiu para C , a integração da Equação (14) resulta em:

$$-\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = k \int_{t_0}^t dt$$

$$\ln \frac{C}{C_0} = -kt \quad (15)$$

e

$$C = C_0 e^{-kt} \quad (16)$$

ou

De acordo com a Equação 15, um gráfico traçado com os valores de $\ln(C/C_0)$ versus t resultará em uma linha reta, como pode ser verificado nas Figura 32 a 34, plotadas sobre os valores de enxofre total e pirítico do carvão tratado nos módulos N° 1, 2 e 3, expressos nas Tabelas III, IV e V do Apêndice C, considerando a partir do início da atividade de decaimento nas concentrações de enxofre, após o período lag de 60 dias. Esta é uma maneira simples de verificar se uma reação é de primeira ordem. A constante da taxa k pode ser determinada a partir da inclinação desta linha ($k = -$ inclinação, de forma que a constante da taxa não deve ser negativa).

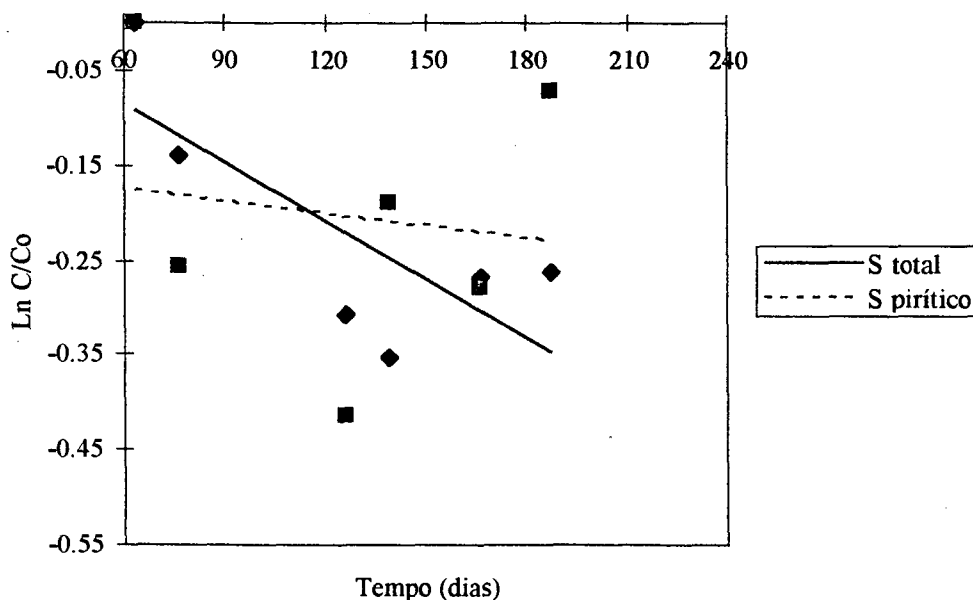


Figura 32 $\ln(C/C_0)$ versus t para enxofre total e pirítico do carvão de ensaio componente da pilha de carvão do módulo N.º 1, no período de redução dos teores de enxofre na planta piloto de dessulfurização microbiológica

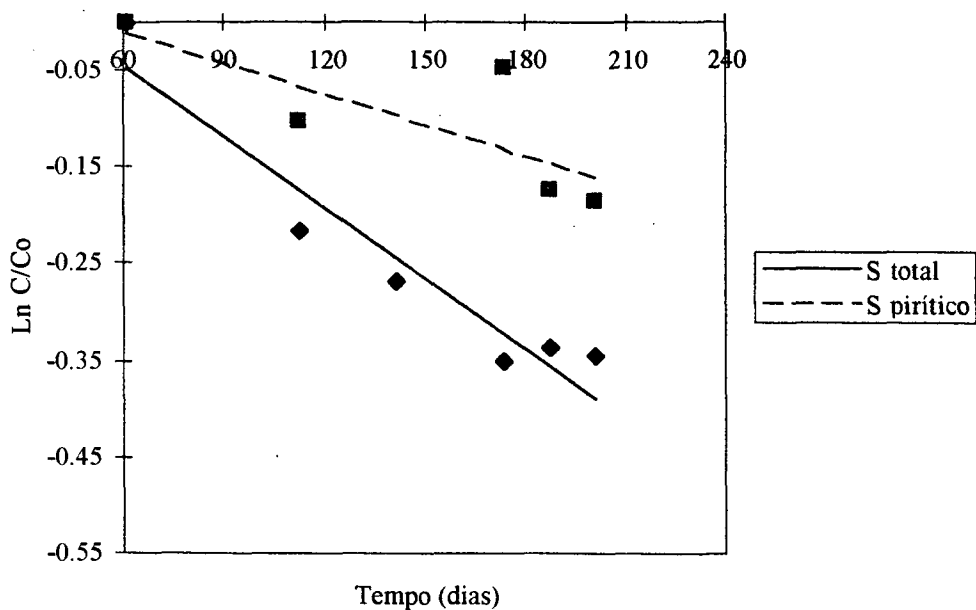


Figura 33 $\ln(C/C_0)$ versus t para enxofre total e pirítico do carvão de ensaio componente da pilha de carvão do módulo N.º 2 no período de redução dos teores de enxofre na planta piloto de dessulfurização microbiológica

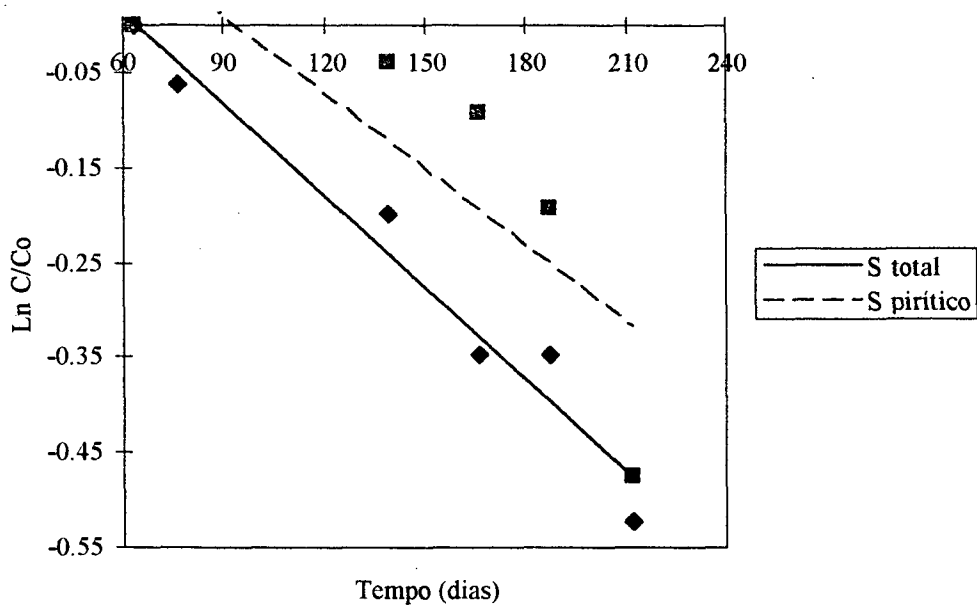


Figura 34 $\ln(C/C_0)$ versus t para enxofre total e pirítico do carvão de ensaio componente da pilha de carvão do módulo N.º 3 no período de redução dos teores de enxofre na planta piloto de dessulfurização microbiológica

Define-se meia-vida como o tempo necessário para que a quantidade de uma substância diminua até metade do seu valor inicial. Para uma reação de primeira ordem, a meia-vida, denotada por $t_{1/2}$, pode ser encontrada a partir da Equação (15). Inserindo a condição de que em $t = t_{1/2}$, a concentração de $C = 1/2C_0$. Isto resultará

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0,693}{k} \quad (17)$$

Na Tabela 4 a seguir, podem ser verificados os dados obtidos quando da aplicação da cinética de primeira ordem sobre os valores de enxofre total durante o tempo de redução dos teores constantes nas Tabelas III, IV e V do Apêndice C.

Tabela 4 Resultados da aplicação da cinética de primeira ordem sobre os valores de enxofre total e pirítico remanescentes dos carvões componentes dos módulos N^{os} 1, 2 e 3 da planta piloto de dessulfurização microbiológica de carvão mineral.

Experimento	Enxofre total			Enxofre pirítico		
	k (dias ⁻¹)	R^2	$t_{1/2}$ (dias)	k (dias ⁻¹)	R^2	$t_{1/2}$ (dias)
Módulo 1	0,0020	0,5848	346	0,0004	0,0189	1732
Módulo 2	0,0024	0,9111	288	0,0011	0,6037	630
Módulo 3	0,0032	0,9616	216	0,0027	0,6393	256

Analisando-se esta tabela pode-se observar que para obter 50% de remoção do enxofre total, constituinte no carvão do módulo N^o 1 com uma constante de taxa de 0,0020 dias⁻¹, são necessários aproximadamente 346 dias sem a aplicação de nenhum tratamento. Já para o mesmo carvão tratado com drenagem ácida de mina no módulo N^o 2, a remoção ocorre numa constante de taxa de 0,0024 dias⁻¹ e a meia-vida fica em 288 dias. Para o módulo N^o 3 inoculado com bactérias, obteve-se uma constante de taxa de remoção de 0,0032 dias⁻¹ ficando a meia-vida em 216 dias. Quanto ao enxofre pirítico, a constante da taxa de redução do enxofre para o módulo N^o 1 foi de 0,0004 dias⁻¹ com meia-vida de 1732 dias; para o módulo N^o 2 a constante da taxa de redução do enxofre pirítico foi de 0,0011 dias⁻¹ com meia-vida de 630 dias, e para o módulo N^o 3 a constante da taxa de redução do enxofre pirítico foi de 0,0027 dias⁻¹ com meia-vida de 256 dias. Comparando-se estes dados de constantes de taxas de remoção e tempos de meia-vida obtidos pela aplicação da cinética de primeira ordem sobre os enxofre total e pirítico remanescentes ao longo do tratamento em cada módulo de lixiviação, pode-se verificar que, entre a lixiviação por intemperismo natural com água de drenagem ácida e com adição de bactérias, houve um pequeno aumento nas taxas de remoção, sendo que para o módulo N^o 3, os valores de constante de taxa e meia-vida assemelham-se aos encontrados por Cybis (1987), em experimento com carvão de características semelhantes, utilizando como

solução água potável, revelando acrescentar pouca diferença a aplicação da solução concentrada de microorganismos nas condições aqui descritas.

Uma outra maneira de fazer uma comparação entre a eficiência obtida pela aplicação das três formas de biolixiviação foi pela utilização dos métodos estatístico ANOVA e TESTE-T de Student. Nas Tabelas XV e XVI do Apêndice C estão transcritos os dados obtidos pela aplicação destes modelos sobre os valores de enxofre total remanescentes nos carvões do módulo N^{os} 1, 2 e 3. O emprego do modelo ANOVA-fator único possibilita comparar estatisticamente as médias obtidas com os resultados de remoção ocorrida no enxofre total das três pilhas. Neste modelo, os dados para cada tratamento foram computados e um valor para F foi determinado, o qual, uma vez comparado com o seu similar na tabela de Fisher, indica com que grau de probabilidade os tratamentos diferenciam-se entre si. O Teste-T, por sua vez, é uma ferramenta que permite afrontar dois tratamentos específicos, possibilitando a comparação das remoções de enxofre entre as pilhas 1 e 2; 1 e 3; e 2 e 3. No modelo ANOVA, para que a diferença entre as remoção ocorrida devido a cada tipo de tratamento seja significativa, o valor encontrado para F deve ser maior que o encontrado para o F-crítico. Já no TESTE-T para que as diferenças entre as remoções proporcionadas sejam significativas, os valores encontrados para T devem ser maiores que os encontrados para T-crítico em cada caso (Rothman & Ericson, 1987). Estes valores extraídos das Tabelas XVII e XVIII estão relacionados abaixo na Tabela 5.

Tabela 5 Valores encontrados por meio da aplicação do modelo ANOVA e do TESTE-T sobre o enxofre total remanescente nos carvões componentes das pilhas 1, 2 e 3.

Modelo	ANOVA - Comparação entre módulos N ^{os} 1, 2 e 3	TESTE-T, Comparação entre módulos N ^{os}		
		1 e 2;	1 e 3;	2 e 3
F	0,210			
F-crítico	3,259			
T		-1.350	0.563	1.702
T-crítico		1.782	1.356	1.782

Comparando-se os dados apresentados nesta tabela, pode-se verificar que a análise por comparação entre as formas de lixiviação empregadas para os três módulos apresentou o valor de F menor que F-crítico. Entre os módulos N^{os} 1 e 2; e 1 e 3, os valores de T foram menores que os de T-crítico, enquanto que entre os módulos N^{os} 2 e 3, foram aproximados, revelando não houve diferença significativa na redução do enxofre promovida pelo tratamento aplicado em cada módulo de lixiviação, tanto para a comparação geral entre os três módulos como entre cada pilha individualmente.

CAPÍTULO V

5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Os experimentos realizados em laboratório para cultivo e concentração de bactérias da espécie *Thiobacillus ferrooxidans* permitem concluir que:

Para o crescimento dos *T. ferrooxidans* em fermentador de 3,0 Litros de capacidade, utilizando-se meio de cultura 9K modificado a 30 °C com pH inicial 2,5, pode-se obter em quinze dias uma biomassa de $5,00 \times 10^{10}$ bactérias/mL. O crescimento no número de microrganismos foi acompanhado pela diminuição gradativa nos valores de pH de 2,5 até 1,4, provocado pela acidificação do meio resultante da atividade bacteriana de solubilização da pirita contida no substrato utilizado. Como base neste dados pode-se deduzir que a melhor época de retirada dos microrganismo do fermentador para a inoculação do sistema de tanques contendo 300 Litros deveria ser e por volta do décimo dia.

Para o crescimento dos *T. ferrooxidans* em fermentador de 300 Litros de capacidade, utilizando-se meio de cultura 9K modificado a 30 °C com pH inicial 2,5, a biomassa atingiu seu maior valor, contendo $1,1 \times 10^{10}$ bactérias/mL no décimo quinto dia, iniciando o decaimento da população partir deste ponto. Dessa forma, a melhor época de retirada e filtração dos microrganismo dos tanques e sua concentração por filtração deveria ser no décimo quinto dia. Neste sistema também ocorreu um abaixamento nos valores de pH durante o tempo de operação, o pH inicial de 2,5 foi diminuindo gradativamente no decorrer do experimento até atingir um mínimo de 1,5. Utilizando-se o processo de ultrafiltração tangencial com películas de 0,45 μm sobre a cultura contendo $1,1 \times 10^{10}$ bactérias/mL retirada até o 15º dia no sistema com 300 L, foi poss'vel obter uma solução concentrada de até $1,6 \times 10^{12}$ bactérias/mL.

Os experimentos em escala piloto com pilhas de carvão de 30 toneladas, sob tratamentos por diferentes formas de biolixiviação, permitem concluir que:

No módulo N^o 1, onde foi aplicado a lixiviação por intemperismo natural, não ocorreu diminuição dos teores de enxofre total e pirítico até o 60º dia. A partir desta data ocorreram reduções até o 126º dia e deste ponto em diante os valores permaneceram praticamente sem alteração até o final do experimento. As remoções apresentadas foram de 26 % para o enxofre total e 31 % para o enxofre pirítico, com constantes de taxa de primeira ordem de 0,0020 dias⁻¹ e 0,0004 dias⁻¹, respectivamente, correspondendo a tempos de meia-vida de 346 dias e 1732 dias. O enxofre orgânico apresentou diminuição de 17%.

No módulo N^o 2, onde foi aplicado a lixiviação com drenagem ácida de mina, a redução dos teores de enxofre também iniciaram-se somente após o 60^o dia, prosseguindo a partir desta data com diminuições de 29 % do enxofre total e 30 % do enxofre pirítico com constantes taxas de 0,0024 dias⁻¹ e 0,0011 dias⁻¹, respectivamente, correspondendo a tempos de meia-vida de 301 dias e 866 dias. O enxofre orgânico também apresentou diminuição de 26 %.

No módulo N^o 3, onde foi avaliado a lixiviação com inoculação de microrganismos obtidas nos experimentos, ocorreram diminuições de 41 % do enxofre total e 52 % do enxofre pirítico com constantes taxas de 0,0032 dias⁻¹ e 0,0027 dias⁻¹, respectivamente, correspondendo a tempos de meia-vida de 216 dias e 256 dias. O enxofre orgânico também apresentou diminuição de 21 %.

A diminuição dos teores de enxofre orgânico apresentadas pelas três formas lixiviação empregadas não é uma característica típica da ação dos *T. ferrooxidans*, podendo estar relacionada a atividade de outros microrganismos heterotróficos presentes no sistema e a autooxidação dos compostos orgânicos constituintes do carvão.

A modelo de cinética de primeira ordem pode ser utilizado de forma a ter-se uma estimativa das taxas de remoção obtidas por meio dos tratamentos aplicados, porém o comportamento das curvas de decaimento dos conteúdos de enxofre, nestes experimentos, é bastante semelhante as curvas de degradação apresentadas por cinéticas de Monod com crescimento, onde fica evidente a presença de um intervalo de tempo inicial de aproximadamente dois meses, durante o qual não ocorreu nenhuma diminuição aparente nos conteúdos de enxofre. Esta fase lag caracteriza a necessidade de períodos para desenvolvimento de uma população crítica suficiente para dar início ao processo de degradação como relatado por Corseuil (1994).

Comparando-se o desempenho dos três tratamentos em relação aos conteúdos de enxofre remanescente por meio de análises utilizando os métodos estatísticos ANOVA - fator único e TESTE-T, constatou-se que não se obteve diferenças significativas entre as três formas de tratamento aplicadas nestas condições. Mesmo com a aplicação, a cada quinze dias, de uma suspensão bacteriana concentrada capaz de proporcionar à solução lixiviante do módulo N^o 3 biomassa de até 10⁹ bactérias/mL, os resultados de remoções ficaram aquém das expectativas.

Análises realizadas com amostras em diferentes faixas granulométricas demonstraram que os menores teores de enxofre encontravam-se na faixa abaixo de 6,35 mm, onde ocorreu a maior remoção, comprovando que, em carvões com granulometria menor, aumenta a eficiência de remoção do enxofre no tratamento por biolixiviação.

Os resultados obtidos, de uma maneira geral, indicam que as três formas de lixiviação microbiológica provocam reduções nos conteúdos de enxofre do carvão testado. Porém, nas

pilhas tratadas por intemperismo natural e lixiviação com drenagem ácida de mina, a diminuição pára de ocorrer após um certo tempo de tratamento, enquanto que, na pilha inoculada com bactérias oxidantes do ferro e enxofre, as concentrações de enxofre continuam sendo reduzidas. Apesar disto, a maior remoção apresentada pela inoculação bacteriana ainda não justifica a implementação desta técnica para a dessulfurização do carvão mineral de Santa Catarina na forma que este vem sendo extraído, beneficiado e comercializado. Para que a inoculação microbiana justifique-se como tecnologia de biodessulfurização do carvão produzido atualmente, o período máximo de permanência das pilhas durante o tratamento não pode ser superior a duas semanas.

Como recomendações para trabalhos futuros citaríamos:

- Estudos localizados em escala piloto com granulometria menores que a estabelecida comercialmente, para avaliar em quanto que se pode aumentar a taxa de remoção em relação aos tamanhos convencionais.
- Estudos de lixiviação com carvões possuindo concentrações de enxofre acima de 3 %.
- Estudos localizados com aplicação de maior biomassa no intuito de reduzir ou eliminar o período de desenvolvimento da população microbiana.
- Estudos para avaliação da inoculação de bactérias oxidantes do ferro e enxofre nos depósitos de carvão da Usina Termelétrica Jorge Lacerda.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, S. F. Recursos minerais do Brasil. São Paulo, Edgard Blucher, 2v. 1973.
- AHONEN, L. & TUOVIEN, O.H. Temperature effects on bacterial leaching of sulfide minerals in shake flask experiments. Appl. Environ. Microbiol, 57:138-145, 1991.
- AHONEN, L. & TUOVINEN, O.H. Bacterial oxidation of sulfide minerals in column leaching experiments at suboptimal temperatures. Appl. Environ. Microbiol, 58:600-606, 1992.
- ALBRECHTSEN, H. & CHRISTENSEN, T. H. Evidence for microbial iron reduction in a landfill leached-polluted aquifer. Appl. Environ. Microbiol, 60:3920-25, 1994.
- ALVAREZ, F. C. Impacto da mineração do carvão sobre os recursos hídricos da Bacia Carbonífera de Santa Catarina. Porto Alegre, Instituto de Pesquisas Hidráulicas da UFRGS, 2v., 1978.
- ALVAREZ, S. & JEREZ, C. A. Molecular aspects of the stress response in *Thiobacillus ferroxidans* and other biomining microorganisms, pp. 439-449. In J Shelley, R. G. L. Mc-Cready, and P. L. Wichlacz ed., Biohydrometallurgy, Canada Centre of Mineral and Energy Technology, Ottawa, Ontario, 1990.
- AMDUR, M. O.; SAFORIM, A. F.; NEVILLE, M.; QUANN, R. J.; MCCARTHY, J. F.; ELLIOT, J. F.; LAM, H. F.; ROGERS, A. E.; CONNER, M. W. Coal combustion aerosols and SO²: An interdisciplinary analysis. Environ. Sci. Technol., 20:138-145, 1986.
- ANDRADE, T. R. & FRANÇA, F. P. Lixiviação bacteriana de cobre de baixo teor em escala de bancada. DNPM, Brasília, 1984.
- ANDREWS, G.; DARROCH, M.; HANSSON, T. Bacterial removal of pyrite from concentrated coal slurries. Biotec. Bioeng, 32:813-20, 1988.
- ANDREWS, G. F. The selective adsorption of Thiobacilli to dislocation sites on pyrite surfaces. Biotechnol. Bioeng, 31:378-381, 1988.

- ARMENTIA, H.; WEBB, C. Ferrous sulphate oxidation using *Thiobacillus ferrooxidans* cells immobilised in polyurethane foam support particles. Appl. Microbiol. Biotechnol., 36:697-700, 1992.
- ARNOLD, R. G.; DICHRISTINA T. J.; HOFFMANN, M. R. Reductive dissolution of Fe(III) oxides by pseudomonas sp. 200. Biotec. Bioeng., 32:1081-96, 1988.
- ARREDONDO, R.; GARCIA, A.; JERES, C. A. Partial removal of lipopolysaccharide from *Thiobacillus ferrooxidans* affects it's adhesion to solids. Appl. Environ. Microbiol., 60:2846-51, 1994.
- ATLAS, R. M. & BARTHA, R. Microbial ecology: fundamentals and applications. 3 ed. The Benjamin/Cummings Pub. Co. Inc., Redwood City, 1993.
- ATTIA, Y. A. & ELZEKI, M. A. Coal dessulfurization using bacteria adaptation and bacterial modification of pirite surfaces. United States Patent, N° 4,775,627, 1988.
- BAGDIGIAN, R. M. & MYERSON, A. S. The adsorption of *Thiobacillus ferrooxidans* on coal surfaces. Biotechnol. Bioeng., 28,:467-79, 1986.
- BAILEY, A. D. & HANSFORD, G. S. Factors affecting bio-oxidation of sulfide minerals at high concentrations os solids: A rewiw. Biotechnol. Bioeng., 42:1164-74, 1993.
- BALDI, F.; OLSON, G. J. Effects of cinnabar on pyrites oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans* and cinnabar mobilization by a mercury-resistant strain, Appl. Environ. Microbiol., 53:772-76, 1987.
- BALDI, F.; CLARK, T.; POLLACK, S. S; OLSON, G. J. Leaching of pyrites of various reactivities by *Thiobacillus ferrooxidans*, Appl. Environ. Microbiol., 58:1853-56, 1992.
- BARROS, M. E. C.; RAWLINGS, D. E.; WOODS, D. R. Mixotrophic growth of a *Thiobacillus ferrooxidans* strain, Appl. Environ. Microbiol., 47:593-5, 1984.
- BELKIN, S.; WIRSEN, C. D.; JANASCH, H. W. Biological and abiological sulfur reduction at high temperatures, Appl. Environ. Microbiol., 49:1057-61, 1985.
- BELL, P. E.; MILLS, A. L.; HERMAN, J. S. Biogeochemical conditions favoring magnetite formation during anaerobic iron reduction. Appl. Environ. Microbiol., 53-2610-16, 1987.

- BELLY, R. T. & BROCK, T. D. Ecology of iron-oxidizing bacteria in pyritic materials associated with coal. J. Bacteriol., 117:726-32, 1974.
- BENJAMIN, M. M. Adsorption and surface precipitation of metals on amorphous iron oxyhydroxide. Environ. Sci. Technol., 17:686-92, 1983.
- BENNET, J. C. & TRIBUTSCH, H. Bacterial leaching patterns on pyrite crystal surfaces. J. Bacteriol., 34:310-17, 1986.
- BERRY, V. K. & MURR, L. E. Direct observation of bacteria and quantitative studies of their catalytic role in the leaching of low-grade copper-bearing waste. In: Murr, L. E.; Torma, A. E.; Brierley, C. A. ed. Metallurgical Application of Bacterial Leaching and Related Microbial Phenomena, San Francisco, 1978.
- BLAKE II, R. C.; SHUTE E. A.; HOWARD, G. T. Solubilization of mineral by bacteria: electrophoretic mobility of *Thiobacillus ferrooxidans* in presence of Iron, pyrite, and sulfur. Appl. Environ. Microbiol., 60:3349-57, 1994.
- BRADDOCK, J. F.; LUONG, H. V.; BROWN, E. J. Growth kinetics of *Thiobacillus ferrooxidans* isolated from mine drainage. Appl. Environ. Microbiol., 48:48-55, 1984.
- BRICKER, O. P. & RICE, K. C. Acidic deposition to streams. Environ. Sci. Technol., 23:379-385, 1989.
- BRIERLY, C. L. Bacterial leaching. CRC Crit. Rev. Microbiol., 6:207-62, 1978.
- BRIERLY, C.L. Microbial mining. Scient. Amer., 247:42-51, 1982.
- BRITO, O. Carvão: Termoeletricidade abre boas perspectivas. Bras. Min., 147:12-14, 1997.
- BROCK, T. D.; MADINGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. Biology of Microorganisms. 7 ed., Englewood Cliffs, Prentice-Hall, 1994.
- BUISMAN, C. J. N.; STAMS A. J. M.; MEIJER, H.; LETINGA, G. Sulfur and sulfate reduction with acetate and propionate in an anaerobic process for sulphide removal. Appl. Microbiol. Biotechnol., 32:363-70, 1989.

- CACCAVO JR, F.; LONERGAN, D. J.; LOVLEY, D. R.; STOLZ, J. F.; MCINERNEY, M. J. *Geobacter sulfurreducens* sp. nov., a hydrogen - and acetate - Oxidizing dissimilatory metal - reducing microorganism. Appl. Environ. Microbiol., 60:3752-59, 1994.
- CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. *Thiobacillus* - Determinação do número mais provável pela técnica dos tubos múltiplos - Norma L5.217. São paulo, 1991.
- CLARK, T. R.; BALDI, F.; OLSON, G. J. Coal depyritization by the thermophilic archaeon *Metallosphaera sedula*. Appl. Environ. Microbiol., 59:2375-2379, 1993.
- COBLEY, J. G. & COX, J. C. Energy conservation in acidophilic bacteria. Microbiol. Rev., 47:579-95, 1983.
- COLMER, A. R.; TEMPLE, K. L.; HINKLE, M. E. The hole of microorganisms in acid mine drainage: A preliminary report. Science, 106:253-56, 1947.
- COLMER, A. R.; TEMPLE, K. L.; HINKLE, M. E. An iron oxidizing bacterium from the drainage of some bituminous coal mines. J. Bacteriol., 59:310-28, 1949.
- CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente. Padrões Nacionais de Qualidade do Ar. Resolução nº 3 de 28/06/90, 1990.
- CORSEUIL, H. X. Carvão ativado, uma nova tecnologia no tratamento da drenagem ácida de minas de carvão. Dissertação de Mestrado, UFRGS, Porto Alegre, 129p, 1984.
- CORSEUIL, H. X. Limitações da biomassa autóctone na degradação de compostos tóxicos em solos. Revista Bio, 2:46-56, 1994.
- CURUTCHET, G.; TEDESCO, P.; DONATI, E. Combined degradation of covellite by *Thiobacillus thiooxidans* and *Thiobacillus ferrooxidans*. Biotechnol. Lett., 18(12):1471-76, 1996.
- CWALINA, B.; WEGLARZ, L.; DZIERZEWICZ, Z.; WILCZOK, T. Dependence of effectiveness of leaching of metallic sulphides on enzymes involved in inorganic sulphur metabolism in *Thiobacillus ferrooxidans*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 28:100-102, 1988.
- CYBIS, L.F. Dessulfurização microbiana de carvões e regeitos. Diss. Mestrado, IPH/UFRGS. 1987.

- DE LUCA, S. J. Biolixiviação de carvão antracitoso. Relatório de Pesquisa-CNPQ, 1992.
- DEVASIA, P.; NATARAJAN, K. A.; SATHYANARAYANA, D. N.; RAMANDA RAO, G. Surface chemistry of *Thiobacillus ferrooxidans* relevant to adhesion on mineral surfaces. Appl. Environ. Microbiol., 59:4051-55, 1993.
- DISPIRITO, A. A.; DUGAN, P. R.; TUOVINEM, O. H. Inhibitory effects of particulate materials in growing cultures of *Thiobacillus ferrooxidans*. Biotechnol. Bioeng., 23:2761-69, 1981.
- DNPM - Departamento Nacional de Produção Mineral. Projeto informativo anual da indústria carbonífera, ano base 1987. Brasília, Ministério das Minas e Energia, 252 p., 1988.
- DNPM - Departamento Nacional de Produção Mineral. Anuário mineral brasileiro. Brasília, Ministério das Minas e Energia, 1997.
- DONATI, E.; POGLIANI, C.; BOIARDI, J. L. Anaerobic leaching of covellite by *Thiobacillus ferrooxidans*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 47:636-9, 1997.
- DUGAN, P. R.; MACMILLAN, C. B.; PTISTER, R.M. Aerobic heterotrophic bacteria indigenous to pH 2,8 acid mine water: predominant slime-producing bacteria in acid streamers. J.Bacteriol., 101:982-88, 1970.
- DUGAN, P. R. & APEL, W. A. Bacteria and acidic drainage from coal refuse: inhibition by sodium lauryl sulfate and sodium benzoate. Appl. Environ. Microbiol., 46:279-82, 1983.
- DUGAN, P. R. & APEL, W. A. Microbial desulfurization of coal. United State Patent, Nº 4,456,688, 1984.
- DUGAN, P. R. Prevention of formation of acid drainage from high-sulfur coal refuse by inhibition of iron and sulfur oxidizing microorganisms. I. Preliminary experiments in controlled shake flasks. Environ. Sci. Technol., 29:41-48, 1987a.
- DUGAN, P. R. Prevention of formation of acid drainage from high-sulfur coal refuse by inhibition of iron and sulfur oxidizing microorganisms. II. Inhibition in run of mine refuse under simulated field conditions. Environ. Sci. Technol., 29:49-54, 1987b.
- DUTRIZAC, J. E. & MACDONALD, R. J. C. Ferric ion as a leaching medium. Min. Sci. Eng., 6(2):59-100, 1974.

- EHRENREICH, A. & WIDDEL, F. Anaerobic oxidation of ferrous Iron by purple bacteria, a new type of phototrophic metabolism, Appl. Environ. Microbiol., 60:4517-526, 1994.
- EHRlich, H. L. Geomicrobiology. 2nd ed., Marcel Dekker Inc. New York., 1990.
- EHRlich, H. L. & BRIERLEY, C. L. Microbial mineral recovery. McGraw-Hill Pub. Co, New York, 1990.
- ELIOT, R. C., Ed. Coal desulfurization prior combustion. Noyes Data Corp., N. J. pp. V-VI, 33-42, 141-153, 1978.
- ESPEJO, R. T. & RUIZ, P. Growth of free and attached *Thiobacillus ferrooxidans* in ore suspension, Biotechnol. Bioeng., 30:582-92. 1987.
- EVANGELOU, V. P. & ZHANG, Y. L. A review: pyrite oxidation and acid mine drainage prevention, Crit. Rev. Environ. Sci. Technol., 25(2):141-199, 1995.
- FENDINGER, N. J.; RADWAY, J. C.; TUTTLE, J. H.; MEANS, J. C. Characterization of organic material leached from coal by simulated rainfall. Environ. Sci. Technol., 23:170-177, 1989.
- FLETT, D. S. The role of hydrometallurgy in extractive metallurgy. Chem. Ind., 5:431-37, 1981.
- FRANCIS, A.J.; DODGE, C.J. Aerobic and anaerobic microbial dissolution of toxic metals from coal wastes: mechanism of action. Environ. Sci. Technol., 23:435-41, 1989.
- FRIDMAN, S. V. Microrganismos, agente alternativo à recuperação de metais. Min. Metal., Rio de Janeiro, p. 29-36, 1983.
- GALE, N. L.; BECK J. W. Evidence for the calvin cycle and hexose monophosphatase pathway in *Thiobacillus ferrooxidans*. J. Bacteriol., 94:1052-59, 1967.
- GARCIA JR., O. Interação entre metais e microorganismos. Anais do Workshop sobre biorremediação, Campinas, São Paulo, pp.55-73, 1996.
- GOETHE, C. A. V. Avaliação dos impactos ambientais da indústria carbonífera nos recursos hídricos da região sul de Santa Catarina. Dissertação de Mestrado, UFSC, 129p., 1993.

- GOLDSTEIN, R.M.; MALLORY, L.M.; ALEXANDER, M. Reasons for possible failure of inoculation to enhance biodegradation. Appl. Environ. Microbiol., 50:977-83, 1985.
- GOODMAN, A. E.; BABIT, T.; RITCHIE A. I. M. Leaching of a sulphide ore by *Thiobacillus ferrooxidans* under anaerobic conditions. In: Rossi G.; Torma A. E. ed. Progress in biohydrometallurgy, Associazione Mineraria Sarda, Iglesias, 1983.
- GOTTSCHLICH, D. E.; GREENFIELD, P. F.; BELL, P. R. F. Treatment requirements for acid drainage from coal storage heaps. J. Environ. Engin., 113:260-77, 1987.
- GRISHIN, S. I.; BIGHAM, B. M.; TUOVINEN, O. H.. Characterization of jarosite formed upon bacterial oxidation of ferrous sulfate in a packed-bed reactor. Appl. Environ. Microbiol., 54:3101-106, 1988.
- GUAY, R. & SILVER, M. Uranium biohydrometallurgy, Proc. Biochem., 15:8-11, 1980.
- HALLBERG, K. B. & LINDSTROM, E. B. Multiple serotype of the moderate thermophil *Thiobacillus caldus*, a limitation of immunological assays for biomining microorganisms. Appl. Environ. Microbiol., 62:4243-246, 1996.
- HARRISON, A. P., JR. Microbial succession and mineral leaching in an artificial coal spoil. Appl. Environ. Microbiol., 36:861-69, 1978.
- HENNIES, W. T.; FUJIMURA, F.; SOARES, L. Carvão, panorama brasileiro mostra estagnação. Minérios/Minerales, 209:36-40, 1997.
- HOFFMANN, M. R.; FAUST, B. C.; PANDA, F. A.; KOO, H. H.; TSUCHIYA, H. M. Kinetics of the removal of iron pyrite from coal by microbial catalysis. Appl. Environ. Microbiol., 42:259-63, 1982.
- HUTCHINSON, M.; JOHNSTONE, K. I.; WHITE, D. Taxonomy of the genus *Thiobacillus*: the outcome of numerical taxonomy applied to the group as a whole. J. Gem. Microbiol., 57:37-410, 1969.
- INGLEDEW, W. J. *Thiobacillus ferrooxidans*: the bioenergetics of an acidophilic chemolithotroph. Biochim. Biophys., 683:89-117, 1982.
- JOHNSON, D. B. & MCGINNESS, S. Ferric iron reduction by acidophilic heterotrophic bacteria. Appl. Environ. Microbiol., 57:207-11, 1991.

- KARGI, F; ROBINSON, M. Biological removal of pyritic sulfur from coal by the thermophilic organism *Sulfolobus acidocaldarius*. Biotechnol. Bioengin., 27:41-49, 1985.
- KARGI, F. Mathematical model for microbial oxidation of pure lead sulfide by *Thiobacillus ferrooxidans*. Biotechnol. Bioengin., 34:487-95, 1989.
- KAUFFMAN, J. W.; LAUGHLIN, W. C.; BALDWIN, R. A. Microbial treatment of uranium mine waters. Environ. Sci. Technol., 20:243-48, 1986.
- KARAMANEV, D.G.; NIKOLOV, L.N. Influence of some physicochemical parameters on bacterial activity of biofilm: Ferrous iron oxidation by thiobacillus ferrooxidans, Biotechnol. Bioeng., 31:295-99, 1988.
- KELLY, D. P. Biochemistry of the chemolithotrophic oxidation of inorganic sulphur. Philos. Trans. Soc Lond. B., 1982, 298: 499-528.
- KILGROE, J. D. & STRAUSS, J. Coal cleaning options for SO₂ emission reduction. U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC., Air and Energy Engineering Research Laboratory, 1985.
- KINGMA, J. G.; SILVER, M., "Growth of iron-oxidizing Thiobacilli in the presence of chalcopyrite and galena, Appl. Environ. Microbiol., 39:635-41, 1980.
- KWONG, V. & MEISSNER III, R. E. Rounding up sulfur-As tightens on plant emissions, demand increases for better removal and recovery processes. Chem. Eng., Feb:74-83, 1995.
- LANCIA, A.; MUSMARRA, D.; PEPE, F.; VOLPICELLI, G. SO₂ absorption in a bubbling reactor using limestone suspensions, Chem. Eng. Sci., 24a:4532-3, 1994.
- LAREZ, A.L. Kinetics of Pyrite Oxidation. Ohio State University, 1970.
- LARSSON, L.; OLSSON, G., HOLST; O., KARLSSON, H.T. Pyrite oxidation by thermophilic archaeobacteria. Appl. Environ. Microbiol., 56:697-701, 1990.
- LAZAROFF, N.; SIGAL, W.; WASSERMAN, A. Iron oxidation and precipitation of ferric hydroxysulfates by resting *Thiobacillus ferrooxidans* cells. Appl. Environ. Microbiol., 43:924-983, 1982.

- LE ROUX, N. W.; NORTH, A. A.; WILSON, J. C. Bacterial oxidation of pyrite". Proc. 10th Internat. Min. Proc. Congr. 1973, Inst. Min. Met., London, 1974.
- LINDSTRON, E. B.; GUNNERIUSSON, E.; TUOVINEN, O. H. Bacterial oxidation of refractory sulfides ores for gold recovery. Crit. Rev. Biotechnol., 12:133-155, 1992.
- LITTLE, A.D. Study of process costs and economics of pyrite-coal utilization: A report to process control. Engineering Program, Consumer Protection and Environmental Health Service, U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, 1968.
- LIU, M.S.; BRANION, R.M.R.; DUNCAN D.W. The effects of ferrous Iron, dissolved oxygen, and inert solids concentrations on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. The Can. J. Chem. Eng., 66:445-51, 1988.
- LIZAMA, H.M.; SUZUKI, I. Bacterial leaching of sulfide ore by *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus Thiooxidans*. I Shake flask studies. Biotechnol. Bioengin., 32:110-16, 1988.
- LIZAMA, H.M.; SUZUKI, I. Rate equations and kinetics parameters of the reactions involved in pyrite oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*. Appl. Environ. Microbiol., 55:2918-923, 1988.
- LUNDGREN, D. G. & SILVER, M. Ore leaching by bacteria. Annu. Rev. Microbiol., 34:263-83, 1980
- MACHADO, J. L. F. Mineração de carvão; contaminação e vulnerabilidade dos mananciais. Anais do 2º Simposio Sulbrasileiro de Geologia, Florianópolis, p.S39-52, 1985.
- MANDL, M.; MATLOVÁ, P.; DOCEKALOVÁ, H. Migration of arsenic(III) during bacterial oxidation of arsenopyrite in chalcopyrite concentrate by *Thiobacillus ferrooxidans*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 38:429-31, 1992.
- MARQUES, D. M. L. M. & DE LUCA S. J. Avaliação preliminar da biolixiviação de carvão e rejeitos, Anais do 13º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2:142-55, 1991.
- MATER, A & CORSEUIL, H. X. Determinação dos coeficientes biocinéticos da biolixiviação do carvão mineral através da termodinâmica de reação. Anais do 16º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1995.

- MEIRA FILHO, L. G. & MIGUEZ, J. D. G. Proposta brasileira para Kyoto. Economia e Energia, Ministério das Minas e Energia, 3:1-8, 1997
- MCDONALD, M.E. Acid deposition and drinking water. Environ. Sci. Technol., 19:772-76, 1985.
- MONTEGGIA, L. O. Estudo de qualidade das águas e principais atividades poluidoras na bacia do Alto Rio Mãe Luzia em Santa Catarina. IPH-UFRGS. Porto Alegre, 28p., 1981
- MONTENEGRO, D. A. F. Industrialização dos regeitos do carvão. Bras Min., 4(28):15-8, 1986.
- MUSTIN, C.; BERTHELIN, J.; MARION, P.; DE DONATO, P. Corrosion and eletrochemical oxidation of a pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. Appl. Environ. Microbiol., 58:1175-182, 1992.
- MURR L. E. Theory and practice of cooper sulphide leaching in dumps and in-situ. Min. Sci. Eng., 12(3):121-89, 1980.
- MYERSON, A.; KLINE, P. C. Continuous bacterial coal dessulfurization employing *Thiobacillus ferrooxidans*. Biotechnol. Bioengin., 26:092-099, 1984.
- NELSON, C. R.,. Chemistry of coal weathering. Elsevier Sci. Pub. Co. Inc., N. Y., 1989.
- NORRIS, P. R.,. Acidophilic bacteria and their activity in mineral sulfide oxidation, p. 3-27. In. H. L. Ehrlich and C. L. Brierley (ed.) Microbial mineral recovery. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York, 1990.
- OHMURA, N.; KITAMURA; K. SAIKI, H. Selective adesion of *Thiobacillus ferrooxidans* to pyrite. Appl. Environ. Microbiol., 59:4044-50, 1993.
- OKEREKE, A.; STEVENS JR, S. E., Kinetics of iron oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*. Appl. Environ. Microbiol., 57:1052-56, 1991.
- OLSON, G.J. Rate of pyrite bioleaching by *Thiobacillus ferrooxidans*: Results of an interlaboratorial comparison. Appl. Environ. Microbiol., 57:642-48, 1991.
- O'NEILL, P. Environmental Chemistry. 2ª ed., Chapman & Hall, N. Y., 1993.

- ONYSKO, S.J.; KLEINMANN, R.L.P.; ERICKSON, P.M., Ferrous iron oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans* : Inhibition with benzoic acid, sorbic acid, and sodium lauril sulfate. Appl. Environ. Microbiol., 48:229-31, 1984.
- PANKHURST, E .S. Polarographic evidence of the production of polythionates during the bacterial oxidation of thiosulfate. J. Gen. Microbiol., 34:427-39, 1964.
- PATUSCO, J. A. M. Setor energético - Destaques em 1996 e oportunidades de negócios, Economia e Energia, Ministério das Minas e Energia, 3:1-8, 1997.
- PRONK, J.T.; MEIJER, W.M.; HAZEU, W., VAN DIJKEN; BOS, P.; KUENEN, J.G. Growth of *Thiobacillus ferrooxidans* on formic acid. Appl. Environ. Microbiol., 57:2057-062, 1991.
- PRONK, J.T.; DEBRUYN, J. C.; BOS, P.; KUENEN, J. G. Anaerobic growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. Appl. Environ. Microbiol., 58:2227-230, 1992.
- RADWAY, J. C.; TUTTLE, J. H.; FENDINGER, N. J.; MEANS, J. C. Microbially mediated leaching of low experimental coal columns. Appl. Environ. Microbiol., 53:1056-063, 1987.
- RAWLINGS, D.E.; WOODS, D. R.; MJOLI, N. P.. The cloning and structure of genes from the autotrophic bioining bacterium *Thiobacullus ferrooxidans*, p. 215-237. In P. J. Grenaway (ed.), Advances in gene technology. JAI Press, Ltd., London, 1991.
- ROTHMAN, E. D. & ERICSON, A. W. Statistics methods and applications, 2nd ed., Kendal / Hunt Publishing Co., Iowa, 1987.
- ROSSI, G. Biohydrometallurgy. McGraw-Hill, Hamburg, 1990.
- SAND, W.; ROHDE, K.; SOBOTKE, B.; ZENECK, C. Evaluation of *Leptospirillum ferrooxidans* for leaching, Appl. Environ. Microbiol., 58:85-92, 1992.
- SAND, W.; HALLMAN, R.; ROHDE, K.; SOBOTKE, B.; WENTZIEN, S. Controled microbiological in-situ stope leaching of a sulphidic ore. Appl. Microbiol. Biotechnol., 40:421-26, 1993.
- SHIRAKAWA, M. A. Estudo da biodeterioração do concreto por *Thiobacillus*". Dissertação de Mestrado, IPEN-USP, São Paulo, 1994.

- SHRIHARI; BHAVARAJU S. R.; MODAK; J. M.; KUMAR, R.; GANDHI, K. S.
Dissolution of sulfur particles by *Thiobacillus ferrooxidans*: Substrate for unattached cells.
Biotech. Bioeng., 41:612-16, 1993.
- SILVERMAN, M. P. & LUNDGREN, D. G. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium
Ferrobacillus ferrooxidans, an improved medium and a harvesting procedure for securing
high cells yields. J. Bacteriol., 77:642-47, 1959.
- SILVERMAN, M. P.; EHRLICH, H. L. Microbial formation and degradation of minerals,
Advances in Appl. Microbiol., 6:153-205, 1964.
- SILVERMAN, M. P. Mechanism of bacterial pyrite oxidation. J. Bacteriol., 94:1046-51,
1967.
- STARKEY, R. L. Precipitation of ferric hydrate by iron bacteria, *Science*, 102:532-39, 1945.
- STANDARD METHODS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 18th ed.,
America Public Health Association, Washington, 1995.
- STUMM, W. & MORGAN, J. J. Aquatic chemistry, An introduction emphasizing chemi-
cal equilibria in natural waters, 2nd. Ed., Wiley-Interscience, New York, 1981.
- SUGIO, T.; UEMURA, S.; MAKINO, I.; IWAHORI, K.; TANO, T.; BLAKE II, R. C.
Sensitivity of iron-oxidizing bacteria, *Thiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum*
ferrooxidans, to bisulfite ion. Appl. Environ. Microbiol., 60:722-725, 1992.
- SUZUKI, I.; LIZAMA, H. M.; TACKABERRY, P. D. Competitive inhibition of ferrous iron
oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans* by increasing concentrations of cells. Appl.
Environ. Microbiol., 55:1117-121, 1989.
- SWAYER C. N.; MCCARTY, P. L.; PARKIN, G. F. Chemistry for environmental
engineering. 4th ed. McGraw-Hill, Inc, New York. 1994
- TEMPLE, K. L.; COLMER, A. R. The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium:
Thiobacillus ferrooxidans, J. Bacteriol., 62:605-11, 1951.
- TILLET, D. M.; MYERSON, A. S. The removal of pyritic sulfur from coal employing
Thiobacillus ferrooxidans in a packed column reactor. Biotechnol. Bioengin., 29:146-50,
1987.

- TORMA, A. E. The role of *Thiobacillus ferrooxidans* in hydrometallurgical processes. Adv. Biotech. Eng., 6:1-35, 1977.
- TORMA, A. E.; BOSECKER, K. Bacterial leaching. Prog. Ind. Microbiol., 16:77-118, 1982.
- TORMA, A. E. Biohydrometallurgy as an emerging technology. In H. L. Ehrlich & D. S. Holmes ed. Workshop on biotechnology for mining, metal refining and fossil fuel processing industries, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1986.
- TRUNDINGER, P. A. Microbes, metals and minerals. Miner. Sci. Engin., 3:13-25, 1971.
- TUOVINEN, O. H. Biological fundamentals of mineral leaching processes. In: Ehrlich, H. L.; Brierley C. L. ed. Microbial Mineral Recovery, McGraw-Hill, New York, p.55-77, 1990.
- TUOVINEN, O. H.; BHATTI, T. M.; BIGHAM JR. O; LINDSTROM, E. B. Oxidative dissolution of arsenopyrite by mesophilic and moderately thermophilic acidophiles. Appl. Environ. Microbiol., 60:3268-274, 1994.
- TUTTLE, J. H. AND DUGAN, P. R. Leak-age of cellular Material from *Thiobacillus ferrooxidans* in presence of organic acids. Appl. Environ. Microbiol., 33:459-65, 1977.
- UHL, W., HONE, H. J., BEYER, M., KLEIN, J. Cotinuous microbial dessulfurization of coal - Application of a multistage slurry reactor and analysis of the interactions of microbial and chemical kinetics. Biotech. Bioeng., 34:1341-356, 1989.
- UNZ, R. F & LUNDGIZEN, D. G. A comparative nutritional study of three chemoautotrophic bacteria; *Ferrobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*. J. Bacteriol., 10:302-313, 1961.
- VISHNIAC, W. & SANTER, M. The Thiobacilli. Bacteriol. Rev., 21:195-213, 1957.
- WALSH, F. AND MITCHELL, R. A pH-dependent sucesion of iron bacteria. Environ. Sci. Technol., 6:809-14, 1972.
- WICHLACZ, P.L. & UNZ, R.F. Acidophilic, heterotrophic bacteria of acidic mine waters. Appl. Environ. Microbiol., 41:1254-61, 1981.

WICHLACZ, P.L., UNZ, R.F. Growth kinetics of attached iron-oxidizing bacteria. Appl. Environ. Microbiol., 50:460-67, 1985.

YUNKER, S.B.& RADOVICH, J.M. Enhancement of growth and ferrous iron oxidation states of *Thiobacillus ferrooxidans*. Biotechnol.Bioeng., 28:1867-875, 1986.

ZANCAN FILHO, L. C.; DE LUCA, S. J.; MARQUES, D. M. Aplicação da biolixiviação para a remoção de enxofre de carvões brasileiros no controle da poluição do ar. Anais do 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1997.

APÊNDICE A

Figuras citadas no texto

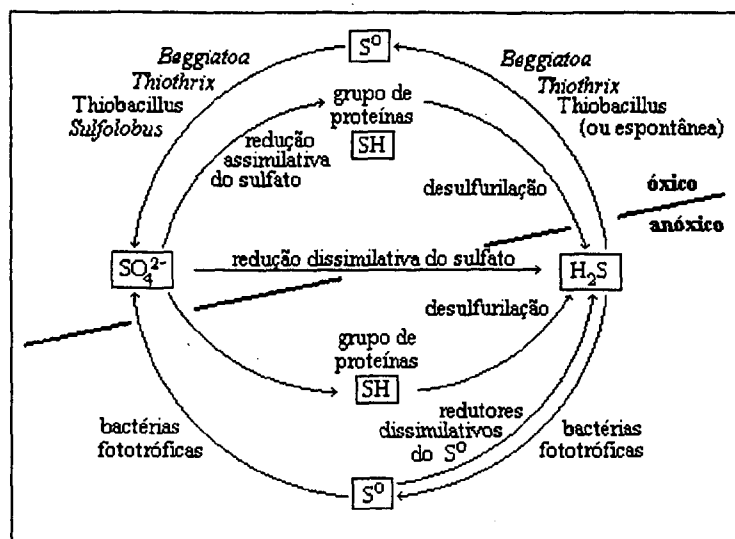


Figura I Transformações envolvendo os microorganismos no ciclo do enxofre (Brock et al., 1994).

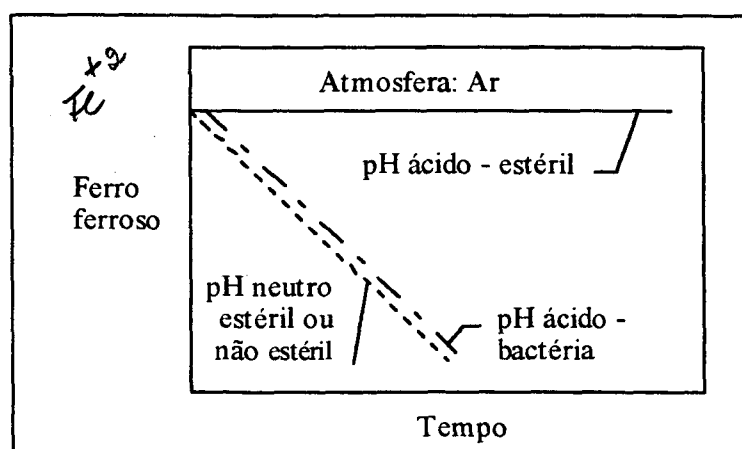


Figura II Oxidação do ferro ferroso em função do pH e da presença da bactéria *Thiobacillus ferrooxidans* (Brock et al., 1994).

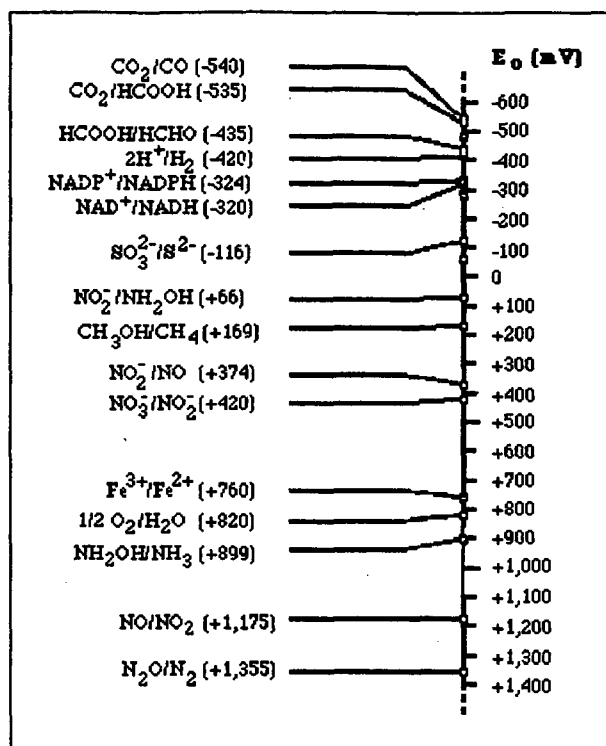


Figura III Torre de potencial Redox onde os pares redox estão arranjados de cima para baixo a partir dos redutores mais fortes (Brock et al. 1994).

Tabela I Tolerância do *Thiobacillus* a metais.

Metal	Concentração de Inibição (mg/L)
Almínio	10.000
Zinco	10.000 - 120.000
Cobalto	10.000 - 30.000
Níquel	10.000 - 72.000
Manganês	9.900
Cobre	10.000 - 55.000
Ferro	40.000 - 160.000
Prata	1 - 972
Arsênio	15 - 674
Mercúrio	0,01



Figura IV Lago reservatório de drenagem ácida bombeada do interior da Mina CCU - São Geraldo.

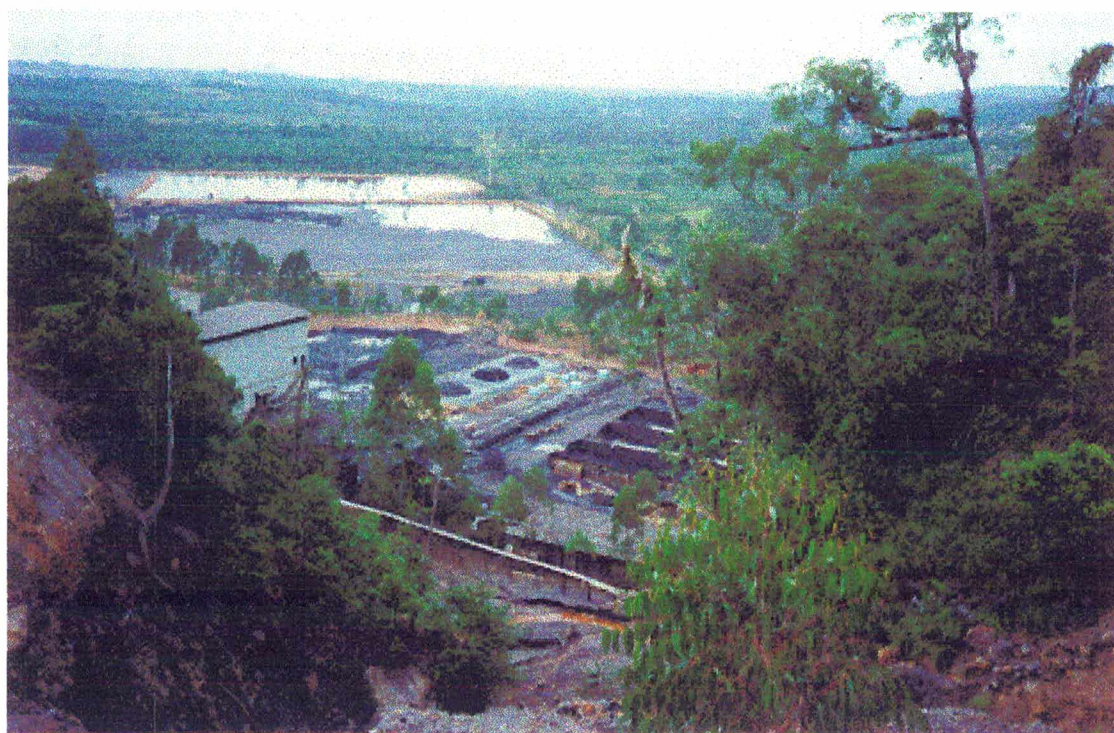


Figura V Local de implantação da planta piloto de lixiviação microbiológica de carvão mineral no pátio de beneficiamento de carvão da CCU - Mina São Geraldo.

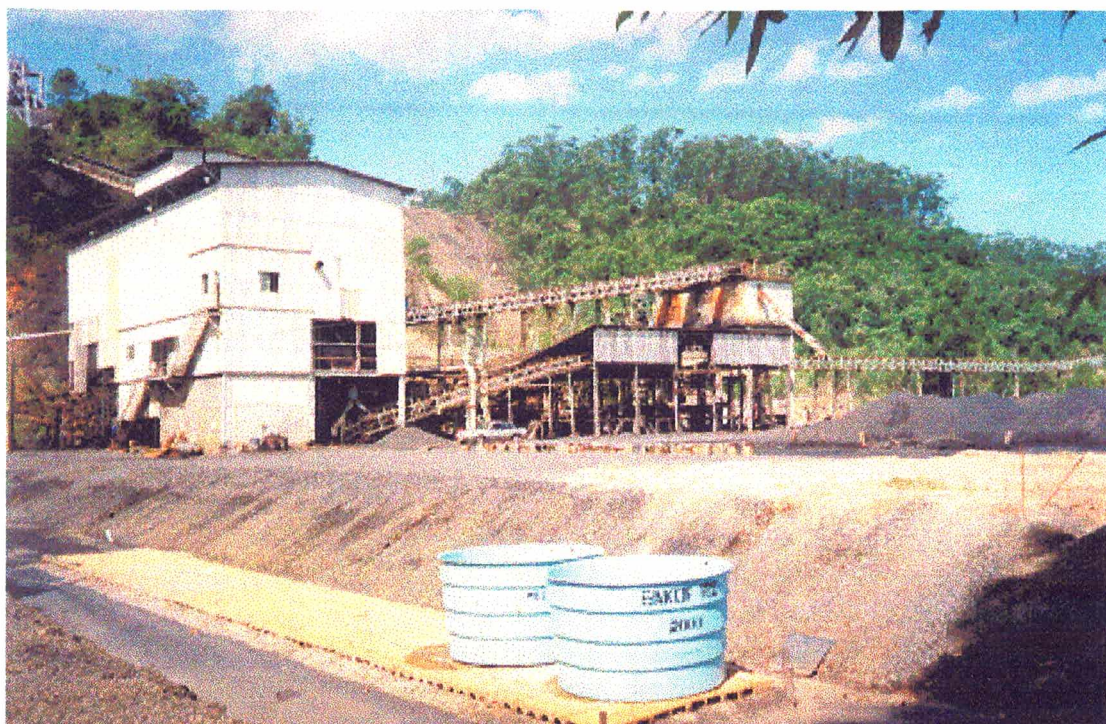


Figura VI Preparação do terreno para instalação da planta piloto de lixiviação microbiológica de carvão mineral, próximo ao lavador de carvão da Mina São Geraldo.



Figura VII Preparação do terreno para instalação da planta piloto de lixiviação microbiológica de carvão mineral, próximo ao lavador de carvão da Mina São Geraldo.



Figura VIII Planta piloto de lixiviação microbiológica de carvão mineral, instalada próximo ao lavador de carvão da Mina São Geraldo.



Figura IX Planta piloto de lixiviação microbiológica de carvão mineral, instalada próximo ao lavador de carvão da Mina São Geraldo.



Figura X Vista dos tanques N.ºs 1 e 2 e sistema de bombeio da planta piloto de lixiviação microbiológica de carvão mineral.



Figura XI Pilha de carvão sendo tratada na planta piloto de lixiviação microbiológica de carvão mineral.

APÊNDICE B

Técnicas de análises

DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL PELA TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLOS para *Thiobacillus ferrooxidans*.

CETESB, N. T L5.217, 1991.

Na aplicação desta norma é necessário consultar:

M1.001 - Lavagem, preparo e esterilização de materiais em laboratório de microbiologia.

L5.216 - Controle da qualidade de meios de cultura

Guia de Coleta e Preservação de Amostras de Água, da CETESB.

Execução do ensaio

Princípio do método

A determinação do NMP de *Thiobacillus* em uma dada amostra é efetuada a partir da aplicação da técnica de tubos múltiplos. Essa técnica é baseada no princípio de que as bactérias presentes em uma amostra podem ser separadas umas das outras por agitação, resultando em uma suspensão de células bacterianas individuais, uniformemente distribuídas na amostra original e consiste na inoculação de volumes decrescentes da amostra em meio de cultura adequado ao crescimento dos microrganismos pesquisados, sendo cada volume inoculado em uma série de tubos. Através de diluições sucessivas da amostra, são obtidos inóculos, cuja semeadura fornece resultados negativos em pelo menos um tubo da última série em que os mesmos foram inoculados e a combinação de resultados positivos e negativos permite a obtenção de uma estimativa da densidade original das bactérias pesquisadoras (NMP), através da aplicação de cálculo de probabilidade. Para análises de águas, tem sido utilizado preferencialmente o fator 10 de diluição, sendo inoculados múltiplos e submúltiplos de 1 ml da amostra, usando-se séries de 5 tubos para cada volume a ser inoculado.

Reagentes

Para a preparação dos meios de cultura e soluções utilizadas nesse ensaio são os seguintes os reagentes necessários:

- Ácido Bórico (H_3BO_3) p.a.; ✓
- Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) p.a.;
- Cloreto de Cálcio ($CaCl_2$) p.a.;
- Cloreto de Cobalto ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) p.a.; ✓
- Cloreto de Magnésio ($MgCl_2 \cdot 4H_2O$) p.a.; -

- Cloreto de potássio (KCl) p.a.; ~~W~~
- Fosfato de Potássio Dibásico (K_2HPO_4) p.a.; ~~W~~
- Fosfato de Potássio Monobásico (KH_2PO_4) p.a.; ~~W~~
- Hidróxido de Sódio (NaOH) p.a.;
- Molibdato de Amônio [$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$] p.a.;
- Nitrato de Cálcio [$Ca(NO_3)_2$] p.a.; /
- Sulfato de Amônio [$(NH_4)_2SO_4$] p.a.;
- Sulfato de Cobre ($CuSO_4 \cdot 7H_2O$) p.a.; /
- Sulfato Ferroso ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) p.a.; /
- Sulfato de Magnésio ($MgO_4 \cdot 7H_2O$) p.a.;
- Sulfato de Zinco ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) p.a.; /

Meio de cultura

Meio 9K modificado em concentração simples para *Thiobacillus ferrooxidans*

Fórmula:

- | | |
|--------------------------------|--------|
| - Solução 1 (sais de base) | 700 mL |
| - Solução 2 (fonte de energia) | 300 mL |

Este meio deve ser preparado como segue:

- Preparar a solução 1 (sais de base) com a seguinte composição:

- | | |
|---|---------|
| - Sulfato de Amônio [$(NH_4)_2SO_4$] | 3,00 g |
| - Cloreto de Potássio (KCl) | 0,10 g |
| - Fosfato de Potássio Dibásico (K_2HPO_4) | 0,50 g |
| - Sulfato de Magnésio ($MgO_4 \cdot 7H_2O$) | 0,50 g |
| - Nitrato de Cálcio [$Ca(NO_3)_2$] | 0,01 g |
| - Ácido Sulfúrico (H_2SO_4 - 10 N) | 1,00 mL |
| - Água Destilada | 700 mL |

pH final após esterilização: 2,8 a 3,0

Para o preparo dessa solução, pesar os reagentes e acrescentar 700ml de água destilada fria. Ajustar o pH para 2,8 a 3,0. Esterilizar por aquecimento, agitando freqüentemente até a ebulição. Evitar aquecimento excessivo. Após a esterilização por calor, colocar em banho-maria a 55 °C para estabilização da temperatura do meio de cultura.

- Preparar a solução 2 (fonte de energia) com a seguinte composição:

- Sulfato Ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	44,22 g
- Água destilada	300,0 mL

Para esse preparo, pesar 44,22 g de sulfato ferroso, colocar em um balão volumétrico de 300 ml e completar o volume com água destilada. Homogeneizar até completa dissolução do sulfato ferroso e esterilizar por filtração em membrana com porosidade de $0,20 \mu\text{m}$.

- Juntar 1 e 2 e, com todos os cuidados de assepsia, distribuir volume de 10 ml em tubos de ensaio estéreis tamponados de $16 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$.

- Os tubos de ensaio, contendo o meio 9K modificado, concentração simples, podem ser armazenados sob refrigeração, durante o período máximo de 2 semanas.

Água de diluição

Fórmula:

- Solução-estoque A	1,25 mL
- Solução-estoque B	5,00 mL
- Água destilada	1000,0 mL

pH final após esterilização: $7,2 \pm 0,1$

A água destilada deve ser preparada como segue:

- Preparar a solução estoque A com a seguinte composição:

- Fosfato de Potássio Monobásico (KH_2PO_4)	34,0 g
- Ácido Bórico (H_3BO_3)	2,90 g
- Cloreto de Magnésio ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	1,80 g
- Sulfato de Zinco ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,20 g
- Molibdato de Amônio [$(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{20} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]	0,03 g
- Cloreto de Cobalto ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,08 g
- Sulfato Ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1,90 g
- Sulfato de Cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,10 g
- Água destilada	1000,0 mL

Preparo:

Pesar os reagentes e acrescentar 1 000 mL de água destilada. Homogeneizar. Aquecer lentamente até completa dissolução, tomando cuidado para que não seja atingida a temperatura de ebulição. Esterilizar por filtração, em membrana com porosidade de 0,204 μ m. Armazenar em frasco escuro, bem vedado e sob refrigeração.

- Água de diluição

Fórmula

- Solução-estoque A	1,25 mL
- Solução-estoque B	5,00 mL
- Água destilada	1000,0 mL

pH final após esterilização: $7,2 \pm 0,1$.

Preparo:

A água de diluição deve ser preparada como segue:

- Preparar a solução-estoque A com a seguinte composição:

- Fosfato de Potássio Monobásico (KH_2PO_4)	34,0 g
- Água destilada q.s.p	1.000 mL

Dissolver o Fosfato de Potássio Monobásico com 500 mL de água destilada, ajustar o pH para $7,2 \pm 0,1$ com solução de hidróxido de sódio 1 N e completar o volume para um litro com água destilada. Distribuir volumes que sejam adequados à necessidade de uso do laboratório, em frascos com tampa de rosca. Esterilizar em autoclave a 110 °C, durante 15 minutos. Armazenar em geladeira.

- Preparar a solução-estoque B com a seguinte composição:

Cloreto de Magnésio ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	81,1 g
Água destilada q.s.p	1.000 mL

- Dissolver o cloreto de magnésio em 500 mL de água destilada e completar o volume para um litro com água destilada. Distribuir volumes que sejam adequados à necessidade de uso do laboratório, em frascos com tampa de rosca. rotular e armazenar em geladeira.
- adicionar 1,25 mL da solução-estoque A e 5 mL da solução-estoque B e completar o volume para um litro com água destilada.
- Distribuir, em frascos de diluição, quantidades adequadas que assegurem, após autoclavagem a 121 °C durante 15 minutos, volumes de 90 ± 2 mL.

Nota: Antes da utilização da solução-estoque A, deve-se verificar se não há quaisquer evidências de contaminação microbiana (turbidez, presença de material em suspensão). Em caso afirmativo, essa solução deve ser descartada.

- Solução normal de hidróxido de sódio (NaOH - 1 N)

Fórmula:

Hidróxido de Sódio (NaOH)	40,0 g
Água destilada q. s. p.	1000,0 mL

Preparo:

- Pesar 40 g de hidróxido de sódio, colocar em um balão volumétrico de 1 000 mL e completar o volume com água destilada. Homogeneizar até a completa dissolução do hidróxido de sódio. Armazenar em frasco bem vedado.

Reações

Meio 9K modificado

O meio 9K modificado é o meio de enriquecimento seletivo para *Thiobacillus ferrooxidans*. Neste meio de cultura o sulfato ferroso é a única fonte de energia presente e o crescimento bacteriano a partir de sua utilização é evidenciado por um precipitado vermelho - acastanhado e um decréscimo de pH.

Amostragem

Deve ser efetuada segundo as especificações apresentadas no Coleta e Preservação de Amostras de Água, da CETESB, 1988.

A amostra deve ser bem identificada e todas as informações mesma devem ser completas (mL da amostra, data., local. pH. temperatura e outras informações necessárias para que os resultados ser interpretados corretamente).

Após a coleta, a amostra deverá ser enviada ao laboratório o mais rápido possível. O tempo máximo entre a amostragem e o início do exame é de 8 horas, sendo que o tempo limite não deve exceder 24 horas. As amostras devem ser transportadas sob refrigeração (4 a 100 °C) e conservadas assim até o início do exame.

Procedimento a partir de amostras diluídas

- Identificar a amostra a ser analisada e definir os da mesma a serem inoculados, em função de sua procedência.

Nota: A técnica de tubos múltiplos requer a inoculação em múltiplos e submúltiplos da amostra, sendo cada volume inoculado em uma serie de 5 tubos. A seleção desses volumes deve ser feita cuidadosamente pelo analista (com base em sua experiência sobre a provável densidade de *Thiobacillus* presentes na amostra ou em dados prévios sobre a mesma), de modo que pelo menos um tubo inoculado na última sessão selecionada forneça resultado negativo. É requerida a inoculação de, no mínimo, três volumes, sendo aconselhável, para amostras desconhecidas, a seleção de um maior número de volumes a serem inoculados.

- Preparar os tubos com os meios requeridos para cada uma das provas como segue:

- Dispo-los em três estantes, uma para cada meio, em fileiras de 5 tubos.

Nota: Usar os respectivos meios em concentração dupla para a inoculação das porções de 10 mL da amostra e, em concentração simples, para os demais volumes.

- Proceder à identificação dos tubos, anotando, no primeiro tubo à direita na primeira fileira, o número da amostra, o volume a ser inoculado e a data. Nos primeiros tubos à direita nas fileiras seguintes, anotar apenas o volume a ser inoculado em cada tubo das mesmas.

- Homogeneizar a amostra no mínimo 25 vezes, inclinando o frasco, formando ângulo de, aproximadamente, 45° entre o braço e antebraço.

- Com uma pipeta esterilizada de 10 mL e obedecendo aos cuidados de assepsia, transferir 10 mL da amostra para um frasco contém do 90 ± 2 mL de água de diluição, antecipadamente identificado. Prepara-se, assim, a diluição decimal (10-1), sendo que 1 mL da mesma corresponde a 0,1 mL da amostra (ver Figura 1).

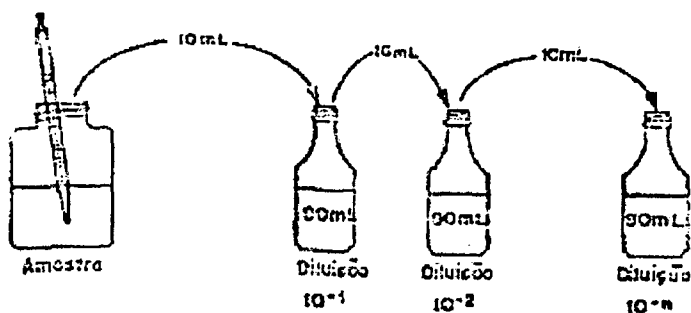


Figura 1 - Preparo das diluições decimais

- Desprezar a pipeta de 10 mL e, com uma pipeta de 5 mL, inocular 1 mL da amostra em cada tubo correspondente essa quantidade de inoculo.
- Homogeneizar o frasco contendo a primeira diluição, com uma nova pipeta esterilizada, transferir 10 mL para um frasco contendo 90 ± 2 mL de água de diluição, conseguindo-se assim a segunda diluição decimal (10^{-2} sendo que 1. mL da. mesma corres ponde a 0,01 mL da amostra.
- Proceder dessa maneira na seqüência das diluições desejadas.
- Ordenar os frascos contendo as diluições mantendo seqüência decrescente das mesmas (da maior para a menor diluição efetuada).
- Agitar vigorosamente, 25 vezes, o frasco com a última diluição efetuada e, com uma pipeta estéril de 5 mL, semear 1 mL da diluição em cada um dos tubos contendo os meios em concentração simples, correspondentes a essa diluição.
- Proceder dessa maneira, semeando de trás para frente, sempre com a mesma pipeta, da maior para a menor diluição.

Nota: A Figura 2 sumariza o procedimento relativo à inoculação dos volumes da amostra e suas diluições decimais.

- Após a inoculação de todos os meios e volumes da amostra e/ou das diluições requeridas para o exame, colocar as estantes contendo os tubos inoculados, em incubadora a $28 \pm 0,5$ °C durante 21 ± 2 dias.
- Após esse período de incubação, retirar as estantes com os tubos da incubadora, para efetuar a leitura dos resultados. Comparar com os tubos-controle.
- Considerar reações positivas para *Thiobacillus ferrooxidans* é indicada por um precipitado vermelho-acastanhado e decréscimo do pH.
- Anotar os resultados e calcular o NMP para *Thiobacillus ferrooxidans*.

Resultados

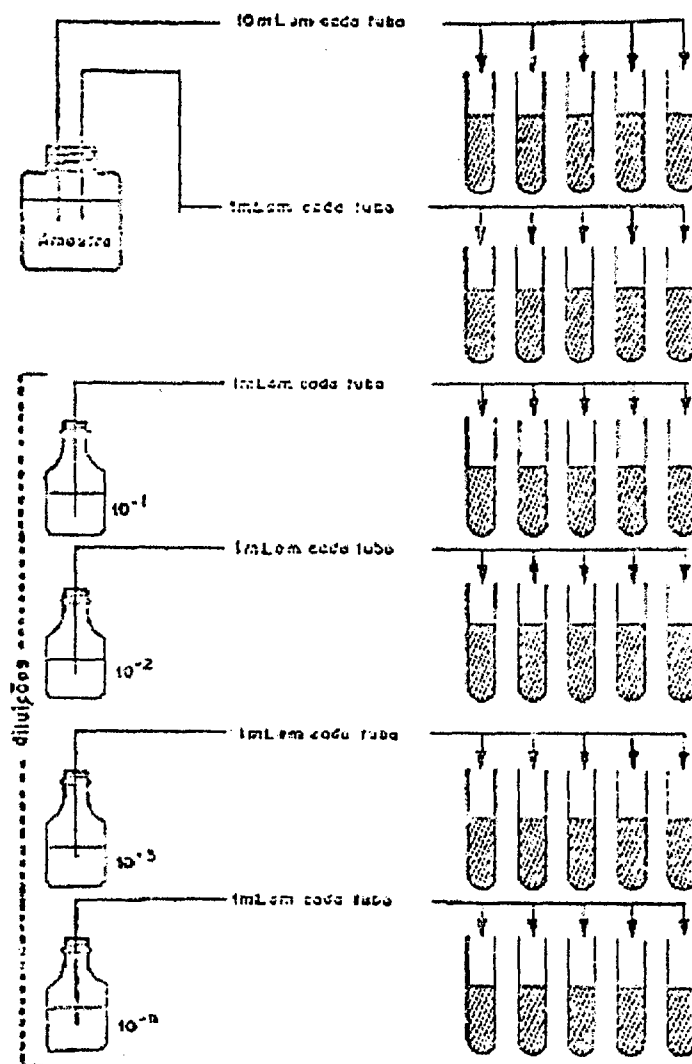


Figura 2 - Inoculação dos volumes da amostra e suas diluições decimais

Cálculo do número mais provável. (NMP/100 mL)

- A densidade de *Thiobacillus* é expressa como NMP de *Thiobacillus* por 100 mL ou 100 g, o qual é obtido através de tabelas, em que são dados os limites de confiança de 95% para cada valor de NMP determinado -

A Tabela. 1 apresenta o NMP para varias combinações de resultados positivos e negativos, quando são inoculadas porções de 10 mL, porções de 1 mL e porções de 0,1 mL da amostra. Embora os volumes indicados se refiram mais especificamente a amostras, pouco poluídas, esta Tabela também pode ser utilizada quando volumes maiores ou menores da amostra são inoculados. Para sua utilização, procuram-se os códigos formados por três algarismos

correspondentes ao número de tubos com resultado positivo em amostras pares consecutivas inoculadas. Para a obtenção do NMP de *Thiobacillus* o código é composto a partir dos tubos com resultado positivo no meio utilizado.

Utilização da tabela

Quando são inoculadas apenas 3 séries de 5 tubos, sendo utilizados os volumes indicados na Tabela (10 mL, 1 mL e 0,1 mL), o NMP é obtido diretamente a partir da Tabela 1. Para isto, procura-se o código formado pelo número de tubos com resultados positivos obtidos nas outras séries consecutivas inoculadas, verificando-se o NMP correspondente. Considerem-se os exemplos que se seguem na Tabela 2, nos quais são apresentados os resultados positivos obtidos em cada série de 5 tubos inoculados.

Quando são inoculadas apenas três séries de 5 tubos, sendo utilizados volumes decimais diferentes daqueles indicados na Tabela 1, procura-se o código formado pelo número de tubos com resultados positivos obtidos nas três séries consecutivas inoculadas, verificando-se o valor do NMP correspondente a ele. O NMP/100-mL será dado através da seguinte fórmula:

NMP correspondente ao código x 10 dividido pelo maior volume inoculado

Consideram-se os seguintes exemplos (vide Tabela 3).

Quando mais de 3 volumes decimais são inoculados, para a composição do código são utilizados apenas os resultados positivos correspondentes a três séries consecutivas inoculadas, sendo que o primeiro algarismo escolhido para compor o código será correspondente à série de menor volume da amostra (maior diluição) em que todos os tubos apresentaram resultados positivos, desde que tenham sido inoculadas diluições subsequentes para totalizar os três algarismos para o código. Encontrando-se o código na Tabela e o NMP a ele correspondente, o valor final do NMP é obtido através da aplicação da seguinte fórmula:

Valor do NMP correspondente ao código x 10 dividido pelo maior volume inoculado selecionado para compor o código (exemplo, vide Tabela 4).

Tabela 1 - Índice de NMP e limites de confiança de 95%, quando são utilizados inóculos de 5 tubos 10 mL, 1 mL e 0,1 mL em séries de 5 tubos

Número de tubos com reação positiva quando são utilizados em séries de 5 tubos inóculos de			Índice de NMP/100 mL	Limite de confiança de 95 %	
10 mL	1 mL	0,1 mL		Inferior	Superior
0	0	0	<2	-	-
0	0	1	2	<1	10
0	1	0	2	<1	10
0	2	0	4	<1	13
1	0	0	2	<1	11
1	0	1	4	1	15
1	1	0	4	1	15
1	1	1	6	2	18
1	2	0	6	2	18
2	0	0	4	1	17
2	0	1	7	2	20
2	1	0	7	2	21
2	1	1	9	3	24
2	2	0	9	3	25
2	3	0	12	5	29
3	0	0	8	3	24
3	0	1	11	4	29
3	1	0	11	4	25
3	1	1	14	6	35
3	2	0	14	6	35
3	2	1	17	7	40
4	0	0	13	5	38
4	0	1	17	7	45
4	1	0	17	7	46
4	1	1	21	9	55
4	1	2	26	12	63
4	2	0	22	9	56
4	2	1	26	12	65
4	3	0	27	12	67
4	3	1	33	15	77
4	4	0	34	16	80
5	0	0	23	9	86
5	0	1	30	10	110
5	0	2	40	20	140
5	1	0	30	10	120
5	1	1	50	20	150
5	1	2	60	30	180
5	2	0	50	20	170
5	2	1	70	30	210
5	2	2	90	40	250
5	3	0	80	30	250
5	3	1	110	40	300
5	3	2	140	60	360
5	3	3	170	80	410
5	4	0	130	50	390
5	4	1	170	70	480
5	4	2	220	100	580
5	4	3	280	120	690
5	4	4	350	160	820
5	6	0	240	100	940
5	6	1	300	100	1300
5	6	2	500	200	2000
5	6	3	900	300	2900
5	6	4	1600	600	5300
5	6	5	>1600	-	-

Casos especiais

- Se menos que três das diluições inoculadas apresentam resultados positivos, para a composição do código são selecionados os três maiores volumes da amostra que incluem as séries com resultados positivos (ver, exemplo da Tabela 5);
- Se diluições maiores que as escolhidas para compor o código apresentarem tubos com resultados positivos, o número correspondente a esses tubos adicionado ao n2 de tubos positivos da diluição mais alta escolhida para compor o código (ver Exemplo 2 da Tabela 5);
- embora não deva haver nenhum resultado negativo nos volumes superiores aqueles selecionados para a formação do código, se isto ocorrer, o código deverá ser formado considerando-se o maior volume da amostra com resultado positivo nos cinco tubos, seguido do nº de tubos positivos correspondentes aos dois volumes decimais seguintes (ver Exemplo 3 da Tabela 5);
- Se todos os tubos correspondentes a todas as diluições inoculadas apresentarem resultados positivos, selecionar para a composição do código as três maiores diluições (ver Exemplo 4 da Tabela 5)
- e) se todos os tubos correspondentes a todas as diluições inoculadas apresentarem resultados negativos, selecionar para a formação do código as três menores diluições (ver Exemplo 5 na Tabela 5).

Expressão dos resultados

Expressar os resultado como NMP/100 mL de *Thiobacillus ferrooxidans*.

Tabela 2 - Exemplos

Exemplos	Numero de tubos com reação positiva quando são utilizados em séries de 5 tubos inóculos de			Código (combinação de tubos positivos e negativos)	Índice de NMP/100 mL
	10 mL	1 mL	0,1 mL		
1	5	2	0	520	50
2	4	2	0	420	22
3	5	5	1	551	300
4	5	5	5	555	≥ 1600

Tabela 3 - Exemplos

Volumes decimais inoculados	Número de tubos com resultados positivos em cada série de 5 tubos inoculados com:							Código	NMP correspondente ao código	Cálculo do NMP	NMP/100 mL
	100 mL	10 mL	1 (10 ⁰) mL	10 ⁻¹ mL	10 ⁻² mL	10 ⁻³ mL	10 ⁻⁴ mL				
100-10 ⁻¹	5	4	0					540	130	130 x $\frac{10}{100}$	13
100-10 ⁻²			5	0	0			500	23	23 x $\frac{10}{1}$	230
10 ⁻¹ -10 ⁻³				4	1	0		410	17	17 x $\frac{10}{0,1}$	1700
10 ⁻² -10 ⁻⁴					3	0	0	300	8	8 x $\frac{10}{0,01}$	8000

Tabela 4 - Exemplos

Volumes decimais inoculados	Número de tubos com resultados positivos em cada série de 5 tubos inoculados com:								Código selecionado	NMP correspondente ao código	Cálculo do NMP	NMP/100 mL
	10 mL	10 ⁰ mL	10 ⁻¹ mL	10 ⁻² mL	10 ⁻³ mL	10 ⁻⁴ mL	10 ⁻⁵ mL	10 ⁻⁶ mL				
10-10 ⁻²	5	<u>5</u>	<u>3</u>	<u>1</u>					531	100	100 x $\frac{10}{100}$	1,1 x 10 ³
10 ⁰ -10 ⁻⁴		5	<u>5</u>	<u>2</u>	<u>1</u>	0			521	70	70 x $\frac{10}{1}$	7,0 x 10 ³
10 ⁻¹ -10 ⁻⁵			5	5	<u>5</u>	<u>2</u>	<u>0</u>		520	50	50 x $\frac{10}{0,1}$	5,0 x 10 ⁵
10 ⁻² -10 ⁻⁶				5	<u>5</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	0	500	23	23 x $\frac{10}{0,01}$	2,3 x 10 ⁵

Obs: Números grifados correspondem ao números de tubos positivos selecionados para compor o código.

Tabela 5 - Exemplos

Exem- plos	Volumen s inoculados	Número de tubos com resultados positivos em cada série de 5 tubos inoculados com:							Código selecio- nado	NMP corres- pondente ao código	Cálculo do NMP	NMP/ 100 mL
		10 mL	10 ⁰ mL	10 ⁻¹ mL	10 ⁻² mL	10 ⁻³ mL	10 ⁻⁴ mL	10 ⁻⁵ mL				
1	10 ⁰ -10 ⁻³		<u>4</u>	<u>1</u>	<u>0</u>	0			410	17	17 x <u>10</u> 1	170
2	10 ⁰ -10 ⁻⁵		<u>5</u>	<u>5</u>	<u>4</u>	1	1	0	542	220	220 x <u>10</u> 0,1	2,2 x 10 ⁴
3	10 ⁻¹ -10 ⁻⁴	4	<u>5</u>	<u>4</u>	<u>0</u>	0	0		540	130	130 x <u>10</u> 1	1,3 x 10 ³
4	10 ⁻¹ -10 ⁻⁵			<u>5</u>	<u>5</u>	<u>5</u>	<u>5</u>	<u>5</u>	555	≥ 1600	≥ 1,6 x <u>10</u> 0,001	≥ 1,6 x 10 ⁷
5	10 ⁻¹ -10 ⁻⁵			<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	0	0	000	< 2	< 2 x <u>10</u> 0,1	< 200

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ENXOFRE TOTAL - APARELHO LECO

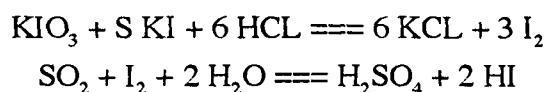
CIRDE - GRUPO EMPRESARIAL CCU, N.I. 024/000

Na aplicação desta norma é necessário consultar:

N.I. 034 - Preparação de amostra de carvão para análise e ensaio.

N.I. 016 - Determinação de umidade total e higroscópia

O método baseia-se na combustão iodométrica. A análise se processa de acordo com a seguinte equação:



Uma solução de HCl fraca é colocada dentro do recipiente titulador. KI e solução de amido são adicionados. Em seguida quando uma pequeníssima porção de solução padrão de KIO_3 é adicionado, I_2 livre é liberado sendo isto indicado pela mudança de coloração da solução de amido para azul.

Uma bureta automática contendo solução de KIO_3 é então reenchida até zero ou ponto de partida. A amostra teste é imediatamente queimada em oxigênio onde o enxofre presente torna-se SO_2 e ou SO_3 dependendo das condições de combustão, embora somente SO_2 seja titulado pelo método iodométrico.

O SO_2 da amostra queimada é conduzido ao recipiente titulador onde reage com o iodo livre, formando-se o composto HI. Uma vez que o amido torna-se azul na presença de iodo livre e não quando o iodo esta sob forma de um composto, a solução de amido torna-se incolor. Mais KIO_3 é adicionado para formar mais iodo livre e levar a solução anterior a sua cor original. Este processo é repetido de modo contínuo até que todo SO_2 seja retirado da amostra e tenha sido titulado. A porção de KIO_3 é então lida na bureta.

Equipamentos/Reagentes

Os equipamentos necessários ao ensaio são:

- Titulador 532-000
- Forno BF 521
- Cadinho 528-016 com tampa porosa 528-042
- Fluxo de gás 1,5 L/min. de oxigênio filtrado.
- Espátula para pesagem.
- Balança analítica com sensibilidade de 0,0001 g.

- Pó de Ferro (Iron Chip)
 - Lecocel a 20/30 malhas.
 - Pentóxido de Vanádium
 - Iodeto de Potássio (IU)
- Solução de amido 1 % (Arrow Root Starch)

Pesar exatamente 1,0000 g de amido, dissolver em 25 mL de água deionizada fria e adicionar 75 ml de água deionizada quente. Levar a ebulição por 3 minutos, após deixar atingir a temperatura ambiente. Adicionar 3,0000 g de Iodeto de Potássio (KI).

- Solução de Iodato de Potássio 0,4444 %

Pesar exatamente 4,4444 g de Iodato de Potássio (KIO_3) e dissolver em água deionizada, após diluir a 1.000 mL em balão volumétrico.

- Solução de Ácido Clorídrico 1,5 %

Diluir 15 ml de ácido clorídrico concentrado (HCl) em água deionizada e avolumar a 1.000 mL em balão volumétrico.

Execução do Ensaio

- Ligar o aparelho \pm 20 minutos antes da realização do ensaio.
- Pesar 0,0500 a 0,1000 g de amostra no cadinho com precisão de 0,0001 g. Adicionar ao cadinho 1,0000 g de Iron Chip, 1,0000 g de Lecocel e 1,2000 g de Pentóxido de Vanádium.
- Tampar o cadinho.
- Regular a vazão do oxigênio no aparelho a 1,5 l/minuto.
- Adicionar \pm 60 mL de solução ácida e 3,5 ml de solução de amido ao copo titulador.
- Colocar o botão titulador na posição End Point e permitir a entrada de solução de KIO_3 para o copo titulador até ser atingida a cor azul padrão.
- Preencher a bureta com a solução de KIO_3 .
- Colocar o cadinho da amostra no pedestal e levá-lo para o campo indutivo do forno.
- Energizar a célula através do relógio, estando garantida a corrente de oxigênio no copo titulador.
- Aguardar o disparo do relógio e medir o consumo de KIO_3 da bureta.

Resultados

- Fator do aparelho F a partir de uma amostra:

$$F = \frac{\text{Teor de S do padrão} \times \text{peso amostra g (b.s.)}}{\text{Leitura da bureta (ml)}}$$

Leitura da bureta (ml)

- Teor de enxofre de uma amostra de ensaio:

$$\% S (\text{b.u.}) = \frac{\text{Leitura da bureta (ml)} \times \text{Fator}}{\text{Peso amostra (g)}}$$

$$\% S (\text{b.s.}) = \frac{\% S. T. \times 100}{100 - \% U.H.}$$

100 - % U.H.

DETERMINAÇÃO DAS FORMAS DE ENXOFRE

CIRDE - GRUPO EMPRESARIAL CCU, N.I. 039/000

Na aplicação desta norma é necessário consultar:

- N.I. 034 - Preparação de amostras de carvão para análises e ensaios.

Equipamentos/Reagentes

- Estufa comum de laboratório.
 - Mufla com capacidade de atingir 850 ± 10 'C.
 - Cadinho de porcelana.
 - Dessecador.
 - Balança analítica com precisão de 0,0001 g.
 - Chapa elétrica.
 - Espátula para pesagem.
 - Suporte universal com garras.
 - Beckeres com capacidades diversas.
 - Pipetas com capacidades diversas.
 - Balão de fundo chato ou redondo de 1.000 mL.
 - Funil de haste longa com suporte.
 - Vidro de relógio.
 - Capela com exaustor.
 - Manta elétrica.
 - Papel filtro faixa branca.
 - Cronômetro.
 - Condensador reto de refluxo e mangueiras.
 - Bureta com suporte.
 - Agitador magnético com barra de mistura magnética.
 - Erlermeyer com capacidade de 500ml.
 - Banho de gelo.
- Solução de Ácido Clorídrico 2:3

Misturar 400 mL de Ácido Clorídrico concentrado (HCl) em 600 mL de água deionizada.

- Solução de Ácido Clorídrico 1:23

Misturar 40 mL de Ácido Clorídrico concentrado (HCl) em 920 mL de água deionizada.

- Solução de Cloreto de Bário 10 %

Dissolver g de Cloreto de Bário ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) em água deionizada e completar volume a 1.000 mL.

- Solução de Nitrato de Prata 0,2 %

Dissolver 0,2000 g de Nitrato de Prata (AgNO_3) em 100 mL de água deionizada, conservar em frasco escuro.

- Solução de Alaranjado de Metila 0,02%

Dissolver 0,0200 g de Alaranjado de Metila ($\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{NaO}_3\text{S}$) em 100 ml de água deionizada quente e filtrar.

- Solução de Ácido Nítrico 1:7

Misturar 120 ml de Ácido Nítrico (HNO_3) em 840 mL de água deionizada

- Solução de Ácido Nítrico 1:2

Misturar 300 mL e Ácido Nítrico (HNO_3) em 600 mL de água deionizada.

- Solução de Cloreto de Mercúrio Saturado

Dissolver 8,0000 g de Cloreto de Mercúrio (HgCl_2) em 100 mL de água deionizada quente deixar esfriar a temperatura ambiente.

- Solução de Cloreto Estanoso 5 %

Dissolver 5,0000 g de Cloreto Estanoso ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) em 10 mL de Ácido Clorídrico Concentrado (HCl) e diluir a 100 mL com água deionizada.

- Mistura Ácida Sulfofosfórica

Adicionar lentamente 150 ml de Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) em 500 ml de água deionizada adicionar 150 mL de Ácido Fosfórico (H_3PO_4). Deixar esfriar e completar o volume a 1.000 mL com água deionizada.

- Água Levemente Amoniacal

Dissolver 10,000 g de Cloreto de Amônio (NH_4Cl) em água deionizada, adicionar 10,000 mL de Hidróxido de Amônio (NH_4OH) e completar o volume a 1.000 mL com água deionizada.

- Solução de Dicromato de Potássio 0,05 N

Dissolver 2,4518 g de Dicromato de Potássio ($K_2Cr_2O_7$) em água deionizada e completar volume a 1.000 mL com água deionizada.

- Difenilamina Sulfonato de Bário 0,2 %

Dissolver 0,2000 g de Difenilamina Sulfonato de Bário ($C_{24}H_{20}BaN_2O_6S_2$) em 100 ml de Ácido Sulfúrico concentrado. Guardar em frasco escuro.

Execução do Ensaio

Determinação do enxofre sulfático

Princípio do Método

Baseia-se na dissolução seletiva do enxofre sulfático existente no carvão e posterior determinação gravimétrica sob a forma de sulfato de bário.

Procedimento:

Pesar a amostra (ma) conforme tabela abaixo:

% Enxofre Total	Massa amostra (g)
< 2	5,0000
2 a 5	2,0000
5 a 9	1,0000
> 9	0,5000

- Transferir a amostra para um balão de fundo chato de 1 000 ml.
- Adicionar 50 mL de ácido clorídrico 2:3 e três pérolas de vidro.
- Adaptar o condensador ao balão colocar na manta e tirar.
- Após o início da ebulição marcar 30 minutos.
- Desligar a manta, suspender o balão e lavar as paredes internas do condensador com aproximadamente 25 ml de ácido clorídrico 1:23, coletando a solução de lavagem no balão.
- Filtrar o conteúdo do balão para um becker de 400 mL usando papel filtro faixa branca.
- Lavar o balão e o papel filtro com aproximadamente 35 mL de ácido clorídrico 1:23.
- Reservar o resíduo para a determinação do enxofre pirítico.
- Adicionar ao filtrado do becker 2 ml de perhidrol concentrado.
- Cobrir o becker com um vidro de relógio, levar a chapa elétrica e deixar em ebulição por 5 minutos.
- Precipitar o ferro adicionando lentamente e com agitação hidróxido de amônio concentrado (NH_4OH), após a precipitação adicionar em excesso 5ml de hidróxido de amônio.
- Filtrar em papel filtro faixa branca e recolher o filtrado em um becker de 600ml
- Lavar o precipitado com aproximadamente 35 ml de água levemente amoniacal quente (descartar o papel).
- Ao filtrado adicionar duas ou três gotas de alaranjado de metila.
- Adicionar ácido clorídrico 2:3 até o filtrado tomar-se rosa, e mais 1 mL em excesso.
- Aquecer a solução até a ebulição e adicionar gota a gota e com agitação 10 ml de cloreto de bário 10 %.
- Deixar em ebulição por mais 15 minutos.
- Colocar em banho maria e deixar a temperatura abaixo do ponto de ebulição por 3 horas.
- Filtrar em papel filtro faixa branca e lavar o papel e o becker com água deionizada quente até que a solução de nitrato de prata 0,2 % não mais precipite com 10 gotas do filtrado.

Nota : Colocar em tubo de ensaio aproximadamente 5 mL de nitrato de prata 0,2% e gotejar do próprio funil 10 gotas do filtrado.

Não haverá mais precipitação quando a solução do tubo de ensaio se apresentar transparente.

- Transferir o papel filtro com o resíduo para um cadinho de porcelana previamente seco e tarado (P1).
- Levar o cadinho com o papel à estufa a temperatura de $10 \pm 10^\circ\text{C}$ por 30 minutos.
- Retirar o cadinho da estufa e levar à mufla a temperatura de $850 \pm 10^\circ\text{C}$ por 45 minutos.
- Retirar da mufla, deixar esfriar em dessecador e repesar (P2).

Determinação do enxofre pirítico

Princípio do Método

Baseia-se na dissolução seletiva do enxofre pirítico existente no resíduo da extração do enxofre sulfático e determinação do teor de enxofre pirítico pela análise de ferro.

Procedimento

- Transferir o papel com o resíduo para o balão de fundo chato de 1 000 ml.
- Pipetar 50 ml de ácido nítrico 1:7, abrir com a ponta da pipeta o papel filtro dentro do balão e lavar as paredes com o próprio ácido nítrico 1 :7.
- Adaptar o condensador ao balão, colocar na manta e ligar.
- Após o início da ebulição, marcar 30 minutos.
- Desligar a manta, suspender o balão de fundo chato e lavar as paredes internas do condensador com aproximadamente 20 ml de ácido nítrico 1:2, recolhendo a solução de lavagem para dentro do balão.
- Filtrar o conteúdo do balão em papel filtro faixa branca para um becker de 400 mL.
- Lavar o balão e o papel filtro com aproximadamente 35 ml de ácido nítrico 1: 7.
- Descartar o papel filtro.
- Adicionar ao filtrado 2 mL de perhidrol e ferver por cinco minutos.
- Diluir a solução no becker até 100 mL com água deionizada e aquecer até o ponto de ebulição .
- Precipitar o ferro com hidróxido de amônio concentrado e adicionar 5ml em excesso
- Cobrir o becker com um vidro de relógio e ferver por 1 minuto.
- Filtrar para um becker de 250 mL em papel filtro faixa branca.
- Lavar o becker e o papel filtro com aproximadamente 35 mL de água levemente amoniacal quente.
- Retirar o becker e descartar o filtrado.
- Colocar embaixo do funil um erlenmeyer.
- Dissolver com 20 mL de ácido clorídrico 2:3 quente, o precipitado do becker e do papel filtro com o auxílio de um bastão.
- Lavar o becker e o papel filtro com água deionizada quente até aproximadamente 100 mL.
- Aquecer a solução até a ebulição e adicionar gota a gota solução de cloreto estano 5 % agitando até que a cor do cloreto férrico desapareça. Adicionar uma ou duas gotas em excesso.
- Lavar o interior do erlenmeyer com água deionizada.
- Colocar em banho de gelo até atingir a temperatura ambiente.
- Adicionar 10 mL de solução saturada de cloreto de mercúrio.
- Agitar e lavar o interior do erlenmeyer.

- Deixar em repouso por 3 minutos.
- Adicionar 20 ml de mistura ácida sulfofosfórica e diluir a 200 mL (no próprio erlenmeyer).
- Titular com dicromato de potássio 0,05 N, usando como indicador duas ou três gotas de difenilamina sulfonato de bário, até a viragem para lilás.

Resultados

Cálculo do enxofre sulfático

$$\%Ss (bu) = \frac{0.13735 \times (P2-P1) \times 100}{ma}$$

$$\%Ss (bs) = \frac{\%Ss (bu) \times 100}{100 - UH}$$

Onde: %Ss (bu) = Percentual de enxofre sulfático em base úmida.

%Ss (bs) = Percentual de enxofre sulfático em base seca.

P1 = Peso do cadinho vazio, em g.

P2 = Peso do cadinho + resíduo após queima, em g.

ma = Massa da amostra, em g

UH = Umidade higroscópica, em %.

Cálculo do enxofre pirítico

$$\%SP (bu) = \frac{0.06412 \times N \times V \times 100}{ma}$$

$$\%SP (bs) = \frac{\%SP (bu) \times 100}{100 - UH}$$

Onde: %SP (bs) = Percentual de enxofre pirítico em base seca. %SP (bu) = Percentual de enxofre pirítico em base úmida.

N = Normalidade do dicromato de potássio.

V = Volume gasto de dicromato de potássio, em mL.

MA = Massa da amostra, em g.

UH = Umidade higroscópica em %.

Cálculo do Enxofre Orgânico

$$\%SO (bs) = ST (bs) - (SS (bs) + SP (bs))$$

Onde: % SO (bs) = Percentual de enxofre orgânico em base seca.

% ST (bs) = Enxofre total em base seca.

% Ss (bs) = Enxofre sulfático em base seca.

% SP (bs) = Enxofre pirítico em base seca.

Cálculo da Pirita (FeS₂)

$$\%FeS_2 = \% SP \times 1,8709$$

Onde: %SP = Percentual de enxofre pirítico.

APÊNDICE C

Tabelas de Resultados

Tabela I Resultados das análises de pH e número mais provável (NMP) para quantificação de *T. ferroxidans* durante o período de cultivo no sistema de fermentador com 3,0 Litros.

Amostra N.º	Data da coleta	Dias entre coletas	NMP bactérias/ml	Valor de pH
1	01/09/97	0	$1,60 \times 10^5$	2,51
2	05/09/97	5	$2,60 \times 10^6$	2,10
3	10/09/97	10	$9,00 \times 10^7$	1,70
4	15/09/97	15	$5,00 \times 10^{10}$	1,50
5	20/09/97	20	$1,30 \times 10^7$	1,40

Tabela II Resultados das análises de pH e número mais provável (NMP) para quantificação de *T. ferroxidans* durante o período de cultivo no sistema de reservatórios com 300 Litros.

Amostra N.º	Data da coleta	Dias entre coletas	NMP bactérias/ml	Valor de pH
1	01/11/97	0	$2,00 \times 10^5$	2,50
2	05/11/97	5	$2,00 \times 10^7$	2,30
3	10/11/97	10	$2,00 \times 10^8$	1,90
4	15/11/97	15	$1,10 \times 10^{10}$	1,80
5	20/11/97	20	$2,00 \times 10^6$	1,50

TABELA III Resultados das análises dos teores de enxofre total, pirítico, sulfático, orgânico, umidade e cinzas presentes no carvão de ensaio do módulo N° 1 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

Nº	Data da coleta	Dias entre coletas	Umidade higrosc. (%)	Cinzas (%)	Enxofre Total (%)	Enxofre Pirítico (%)	Enxofre Sulfático (%)	Enxofre Orgânico (%)
1	24/03/97	0	0,68	44,06	2,17	1,34	0,10	0,72
2	07/04/97	13	1,33	46,49	2,18	1,40	0,10	0,66
3	23/04/97	29	0,91	41,46	2,17	1,47	0,24	0,46
4	30/04/97	36	1,27	40,77	2,18	1,37	0,26	0,54
5	27/05/97	63	0,77	40,79	2,16	1,15	0,27	0,74
6	10/06/97	76	1,49	41,81	1,88	0,89	0,21	0,78
7	30/07/97	126	1,60	42,04	1,59	0,76	0,19	0,64
8	13/08/97	139	0,91	41,80	1,52	0,95	0,15	0,42
9	10/09/97	166	1,28	42,83	1,65	0,87	0,16	0,74
10	17/09/97	173	1,04	40,88	1,52	1,09	0,11	0,19
11	01/10/97	187	1,98	39,36	1,66	1,07	0,11	0,48
12	15/10/97	201	1,71	41,19	1,59	0,89	0,15	0,55
13	26/10/97	212	1,98	40,74	1,60	0,92	0,09	0,60

TABELA IV Resultados das análises dos teores de enxofre total, pirítico, sulfático, orgânico, umidade e cinzas presentes no carvão de ensaio do módulo N° 2 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

N°	Data da coleta	Dias entre coletas	Umidade higrosc. (%)	Cinzas (%)	Enxofre Total (%)	Enxofre Pirítico (%)	Enxofre Sulfático (%)	Enxofre Orgânico (%)
1	24/03/97	0	0,68	44,06	2,17	1,34	0,10	0,72
2	08/04/97	15	1,84	41,34	2,19	1,35	0,14	0,70
3	23/04/97	30	0,56	40,86	2,16	1,36	0,19	0,60
4	30/04/97	36	1,07	38,65	2,16	1,34	0,15	0,67
5	25/05/97	61	0,64	37,95	2,16	1,12	0,15	0,89
6	10/06/97	77	1,77	41,70	2,19	1,13	0,21	0,85
7	15/07/97	112	1,50	41,25	1,74	1,01	0,14	0,59
8	23/07/97	120	1,74	42,05	1,89	0,95	0,09	0,85
9	13/08/97	141	0,90	42,81	1,65	1,16	0,10	0,39
10	17/09/97	173	1,24	40,15	1,52	1,07	0,04	0,41
11	01/10/97	187	2,00	39,40	1,54	0,94	0,06	0,54
12	15/10/97	201	1,55	38,92	1,53	0,93	0,07	0,53

TABELA V Resultados das análises dos teores de enxofre total, pirítico, sulfático, orgânico, umidade e cinzas presentes no carvão de ensaio do módulo N° 3 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

N°	Data da coleta	Dias entre coletas	Umidade higrosc. (%)	Cinzas (%)	Enxofre Total (%)	Enxofre Pirítico (%)	Enxofre Sulfático (%)	Enxofre Orgânico (%)
1	24/03/97	0	0,68	44,06	2,17	1,34	0,10	0,72
2	09/04/97	15	1,18	43,21	2,17	1,55	0,31	0,31
3	23/04/97	29	1,04	41,70	2,17	1,24	0,19	0,74
4	30/04/97	36	1,20	41,78	2,18	1,15	0,29	0,75
5	27/05/97	63	0,70	40,07	2,16	1,03	0,21	0,91
6	10/06/97	76	1,46	40,12	2,03	1,12	0,12	0,80
7	13/08/97	139	0,80	41,26	1,77	0,99	0,15	0,63
8	31/08/97	156	1,03	42,65	1,52	0,90	0,08	0,54
9	10/09/97	166	1,37	39,24	1,53	0,94	0,06	0,64
10	17/09/97	173	0,95	41,65	1,71	1,15	0,07	0,48
11	01/10/97	187	1,55	43,38	1,53	0,85	0,08	0,60
12	15/10/97	201	1,58	42,86	1,34	0,85	0,07	0,42
13	26/10/97	212	2,01	43,43	1,28	0,64	0,07	0,57

TABELA VI Resultados dos análises de granulometria inicial realizadas com amostra coletada no dia 25/03/97, para carvão de ensaio utilizado para construção das pilhas de carvão constituinte dos módulos N^{os} 1, 2 e 3 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

ABNT	Peneira Abertura (mm)	Simples Peso	Acumulado Porcentagem
1 1/2 "	38,10	0,00	0,00
1 "	25,40	0,10	1,67
1/2 "	12,70	1,68	28,09
30 #	0,60	4,08	68,23
Fundo		0,12	2,01
Total		5,98	100,00

TABELA VII Resultados dos análises de granulometria final realizadas com amostras coletadas no dias 09/01/98, para carvão de ensaio constituinte da pilha de carvão do módulos N^o 1 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

ABNT	Peneira Abertura (mm)	Simples Peso	Acumulado Porcentagem
1 1/2 "	38,10	0,00	0,00
1 "	25,40	0,20	2,17
1/2 "	12,70	2,07	22,47
30 #	0,60	6,85	74,37
Fundo		0,09	0,99
Total		9,21	100,00

TABELA VIII Resultados dos análises de granulometria final realizadas com amostras coletadas no dias 09/01/98, para carvão de ensaio constituinte da pilha de carvão do módulos N^o 2 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

ABNT	Peneira Abertura (mm)	Simples Peso	Acumulado Porcentagem
1 1/2 "	38,10	0,00	0,00
1 "	25,40	0,20	2,15
1/2 "	12,70	1,97	21,16
30 #	0,60	7,08	76,05
Fundo		0,06	0,64
Total		9,31	100,00

TABELA IX Resultados dos análises de granulometria final realizadas com amostras coletadas no dias 09/01/98, para carvão de ensaio constituinte da pilha de carvão do módulos N^o 3 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

ABNT	Peneira Abertura (mm)	Simples Peso	Acumulado Porcentagem
1 1/2 "	38,10	0,00	0,00
1 "	25,40	0,16	1,56
1/2 "	12,70	1,85	18,10
30 #	0,60	8,13	79,55
Fundo		0,08	0,72
Total		10,22	100,00

TABELA X Resultados das análises dos teores de enxofre total, pirítico, sulfático e orgânico, umidade e cinzas presentes no carvão de ensaio em diferentes faixas granulométricas no módulo N^o 1 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

Granulometria	Data da coleta	Dias entre coletas	Umidade higrosc. (%)	Cinzas (%)	Enxofre Total (%)	Enxofre Pirítico (%)	Enxofre Sulfático (%)	Enxofre Orgânico (%)
Maior que 1/2"	06/11/97	253	1,44	35,30	1,87	1,18	0,07	0,62
	18/11/97	221	1,29	39,37	1,86	1,16	0,12	0,58
	08/12/97	233	1,57	35,34	1,81	1,16	0,08	0,57
Menor que 1/2" e maior que 1/4"	06/11/97	221	1,39	38,38	1,67	0,90	0,10	0,62
	18/11/97	233	1,39	40,27	1,63	0,85	0,09	0,69
	08/12/97	253	1,13	39,25	1,51	0,80	0,10	0,61
Menor que 1/4"	06/11/97	221	1,62	47,39	1,10	0,42	0,12	0,56
	18/11/97	233	1,06	47,31	1,05	0,51	0,08	0,47
	08/12/97	253	0,97	49,01	1,01	0,60	0,09	0,32

TABELA XI Resultados das análises dos teores de enxofre total, pirítico, sulfático, orgânico, umidade e cinzas presentes no carvão de ensaio em diferentes faixas granulométricas no módulo N^o 2 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

Granulometria	Data da coleta	Dias entre coletas	Umidade higrosc. (%)	Cinzas (%)	Enxofre Total (%)	Enxofre Pirítico (%)	Enxofre Sulfático (%)	Enxofre Orgânico (%)
Maior que 1/2"	06/11/97	221	1,31	31,11	2,42	1,36	0,03	1,02
	18/11/97	233	1,33	33,10	2,32	1,49	0,11	0,72
	08/12/97	253	1,19	35,31	2,10	1,31	0,08	0,71
Menor que 1/2" e maior que 1/4"	06/11/97	221	1,39	39,09	1,71	1,00	0,06	0,65
	18/11/97	233	1,27	37,81	1,53	0,81	0,11	0,61
	08/12/97	253	1,57	42,37	1,40	0,76	0,10	0,54
Menor que 1/4"	06/11/97	221	1,46	45,54	1,18	0,56	0,12	0,50
	18/11/97	233	1,10	52,89	1,14	0,74	0,07	0,33
	08/12/97	253	0,79	45,87	0,93	0,44	0,11	0,38

TABELA XII Resultados das análises dos teores de enxofre total, pirítico, sulfático, orgânico, umidade e cinzas presentes no carvão de ensaio em diferentes faixas granulométricas no módulo N° 3 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

Granulometria	Data da coleta	Dias entre coletas	Umidade higrosc. (%)	Cinzas (%)	Enxofre Total (%)	Enxofre pirítico (%)	Enxofre Sulfático (%)	Enxofre Orgânico (%)
Maior que 1/2"	06/11/97	221	1,87	35,54	2,08	1,09	0,16	0,83
	18/11/97	233	1,30	35,78	1,97	1,26	0,11	0,60
	08/12/97	253	1,96	36,33	1,96	0,95	0,07	0,95
Menor que 1/2" e maior que 1/4"	06/11/97	221	1,47	40,22	1,67	0,84	0,08	0,75
	18/11/97	233	1,83	39,29	1,65	0,87	0,11	0,66
	08/12/97	253	1,14	41,21	1,51	0,81	0,04	0,66
Menor que 1/4"	06/11/97	221	1,37	47,13	1,08	0,41	0,14	0,53
	18/11/97	233	1,02	47,31	1,03	0,55	0,06	0,42
	08/12/97	253	2,04	51,51	0,97	0,74	0,04	0,19

TABELA XIII Resultados das análises de pH, potencial redox, sulfatos, ferro total, acidez e cloretos e na solução lixiviante do módulo N° 2 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

N°	Data da coleta	Dias entre coletas	pH	Potencial redox (mV)	Sulfatos (mg/L)	Ferro Total (mg/L)	Acidez (mg/L)	Cloretos (mg/L)
1	08/04/97	0	2.57	503	1810.00	172.13	1165.00	302.12
2	23/04/97	15	1.89	567	8037.20	1920.52	6595.40	1636.48
3	30/04/97	22	1.80	615	9674.93	2298.79	7841.24	1762.36
4	25/05/97	47	1.82	647	9561.00	2318.05	7600.00	503.23
5	01/06/97	53	1.77	698	12945.00	4534.07	11175.00	1007.06
6	10/06/97	62	1.72	673	13183.00	4220.00	11566.00	1258.83
7	18/06/97	70	1.70	668	11369.00	4100.00	9588.00	377.65
8	25/06/97	77	1.66	648	8172.00	3852.00	7982.00	377.65
9	15/07/97	97	1.93	636	6900.00	1930.00	6240.00	503.53
10	23/07/97	105	1.93	616	6663.00	1728.00	6000.00	503.53
11	30/07/97	111	1.93	650	6213.00	1613.00	6240.00	377.65
12	13/08/97	125	2.12	635	5032.00	1064.00	3780.00	377.65
13	31/08/97	142	2.17	623	4776.00	1353.00	4130.00	377.65
14	10/09/97	152	2.02	641	4068.00	609.00	3163.00	251.77
15	17/09/97	159	2.09	627	3182.00	518.00	2510.00	377.65
16	25/09/97	167	2.12	630	3146.00	660.00	2490.00	377.65
17	01/10/97	173	2.24	626	1775.00	475.00	1546.00	377.65
18	15/10/97	187	2.21	627	1936.00	493.00	1556.00	377.65
19	26/10/97	198	2.05	627	2295.00	989.00	2651.00	251.77

Obs: As análises dos teores de nitrato e fosfato indicaram valores abaixo de 0,5 mg/L.

TABELA XIV Resultados das análises de pH, potencial redox, sulfatos, ferro total, acidez e cloretos e presentes na solução lixiviante do módulo N° 3 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

N°	Data da Coleta	Dias entre coletas	pH	Potencial redox (mV)	Sulfatos (mg/L)	Ferro Total (mg/L)	Acidez (mg/L)	Cloretos (mg/L)
1	13/08/97	0	2.52	536	3472.00	669.00	2630.00	377.65
2	20/08/97	7	2.02	610	6586.00	1508.00	5600.00	377.65
3	31/08/97	17	2.12	623	4050.00	1295.00	3243.00	377.65
4	10/09/97	27	2.05	658	4294.00	875.00	3293.00	251.77
5	17/09/97	34	2.08	632	3573.00	773.00	2640.00	377.65
6	25/09/97	42	2.08	638	3682.00	697.00	2831.00	377.65
7	01/10/97	48	2.21	636	2082.00	633.00	1757.00	377.65
8	15/10/97	62	2.20	628	1984.00	385.00	1646.00	377.65
9	26/10/97	73	2.03	620	2596.00	507.00	2711.00	251.77

Obs: As análises dos teores de nitrato e fosfato indicaram valores abaixo de 0,5 mg/L.

TABELA XV Resultados de análises de número mais provável (NMP) para *T. ferrooxidans* presentes na solução lixiviante durante o período de operação do módulo N° 2 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

N°	Data da coleta	Dias entre coletas	Resultado do NMP (bactérias/mL)
1 ⁽¹⁾	02/04/97	0	4,00 x 10 ²
2	11/04/97	9	1,00 x 10 ²
3	17/04/97	15	2,00 x 10 ²
6	25/05/97	53	4,00 x 10 ⁵
7	05/06/97	63	1,10 x 10 ⁶
8	25/06/97	83	1,70 x 10 ⁵
9	20/08/97	138	5,00 x 10 ⁶
10 ⁽²⁾	31/08/97	148	2,00 x 10 ²
11 ⁽³⁾	03/09/97	151	7,00 x 10 ⁶
12	11/09/97	159	1,60 x 10 ⁶
13	18/09/97	166	1,60 x 10 ⁶
14	23/09/97	171	1,60 x 10 ⁶
15 ⁽⁴⁾	02/10/97	180	2,00 x 10 ³
16 ⁽⁴⁾	15/10/97	193	2,00 x 10 ³
17	26/10/97	204	2,00 x 10 ²

Observações:

- (1) Primeira amostra da drenagem ácida adicionada ao módulo de lixiviação, coletada antes do início do tratamento
- (2) Amostra coletada antes da troca de água no sistema
- (3) Amostra coletada após a troca de água no sistema
- (4) Amostras coletadas após ter chovido no dia anterior

TABELA XVI Resultados de análises de número mais provável (NMP) para *T. ferrooxidans* presentes na solução lixiviante durante o período de operação do módulo N° 3 da planta piloto de lixiviação microbiológica do carvão mineral.

N°	Data da coleta	Dias entre coletas	Resultado do NMP (bactérias/mL)
1 ⁽¹⁾	20/08/97	0	4,00 x 10 ²
2 ⁽²⁾	20/08/97	0	5,00 x 10 ⁸
3	31/08/97	10	2,00 x 10 ⁴
4	03/09/97	13	4,00 x 10 ⁴
5	18/09/97	28	2,00 x 10 ³
6 ⁽¹⁾	23/09/97	33	1,60 x 10 ⁴
7 ⁽²⁾	23/09/97	33	1,60 x 10 ⁷
8	25/09/97	35	1,60 x 10 ⁷
9 ⁽³⁾	02/10/97	42	2,00 x 10 ²
10	15/10/97	55	2,00 x 10 ²
11 ⁽¹⁾	26/10/97	66	2,00 x 10 ²
12 ⁽²⁾	26/10/97	66	2,30 x 10 ⁶

Observações:

- (1) Amostra coletada antes da adição do inóculo.
- (2) Amostra coletada após a adição do inóculo.
- (3) Amostras coletadas após ter chovido no dia anterior

Tabela XVII Análise estatística aplicando o modelo ANOVA - fator único, sobre os valores de enxofre total remanescentes nos carvões componentes das pilhas 1, 2 e 3, comparação da eficiência no tratamento aplicado em cada caso.

Anova: fator único

RESUMO

Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância
Coluna 1	13	23,87	1,836	0,084
Coluna 2	13	24,56	1,889	0,083
Coluna 3	13	23,56	1,812	0,121

ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,040	2	0,020	0,210	0,812	3,259
Dentro dos grupos	3,459	36	0,096			
Total	3,499	38				

Tabela XVIII Análise estatística aplicando o Teste-t: duas amostras em par para médias TESTE-T de Student sobre os valores de enxofre total remanescentes nos carvões componentes das pilhas 1, 2 e 3, comparação da eficiência no tratamento aplicado em cada caso.

Resultados	Comparação entre pilhas Nºs						
	1	e	2	1	e	3	
Média	1.836		1.889	1.836	1.812	1.889	1.812
Variância	0.084		0.083	0.084	0.121	0.083	0.121
Observações	13		13	13	13	13	13
Correlação de Pearson	0.880			0.901		0.885	
gl	12			12		12	
Stat t	-1.350			0.563		1.702	
P(T<=t) uni-caudal	0.101			0.292		0.057	
t crítico uni-caudal	1.782			1.356		1.782	
P(T<=t) bi-caudal	0.202			0.584		0.114	
t crítico bi-caudal	2.179			1.782		2.179	