

**PHABLO BARRETO PINTO**

**ESTIMATIVA DA DRENAGEM ÁCIDA POR OXIDAÇÃO  
QUÍMICA E BIOLÓGICA DE GEOMATERIAS SULFETADOS**

**Tese apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte das  
exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Solos e Nutrição de  
Plantas, para a obtenção do título de  
*"Magister Scientiae"*.**

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2006**

**PHABLO BARRETO PINTO**

**ESTIMATIVA DA DRENAGEM ÁCIDA POR OXIDAÇÃO  
QUÍMICA E BIOLÓGICA DE GEOMATERIAS SULFETADOS**

**Tese apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte das  
exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Solos e Nutrição de  
Plantas, para a obtenção do título de  
*"Magister Scientiae"*.**

APROVADA: 01 de fevereiro de 2006

---

Prof. Antônio Teixeira de Matos

---

Prof. Liovando Marciano da Costa

---

Prof. Luiz Eduardo Dias  
(Conselheiro)

---

Prof. Jaime Wilson Vargas de Mello  
(Conselheiro)

---

Prof. Walter Antônio Pereira Abrahão  
(Orientador)

## **DEDICATÓRIA**

Esta tese é fruto de muito trabalho, esforço e dedicação os quais sem a ajuda de Deus este trabalho não seria realizado.

Aos meus amados pais, Luiz Sergio e Vilma, minha irmã Catherine e sobrinhos (Mirella e Paulo Vítor) pelo incentivo, confiança e apoio em todos os momentos difíceis pelos quais eu passei.

Não posso deixar de citar a minha esposa Cristiane pela paciência e compreensão dos quais eu tirei todas as forças para levar a frente este sonho.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Solos e ao Laboratório de Geoquímica, pela oportunidade oferecida.

A Capes, pelo apoio financeiro concedido.

Ao professor Walter Antônio Pereira Abrahão, pela confiança, orientação, amizade e compreensão.

Ao professor Jaime Wilson Vargas de Mello, pelas sugestões e aconselhamento.

Ao professor José Lino, pela amizade e ajuda prestada na execução deste trabalho.

Aos amigos D'artagnan, César, Otávio e Juscimar pela grande ajuda concedida.

Aos funcionários do Departamento de Solos.

Ao grande amigo Geraldo Robésio, técnico do Laboratório de Geoquímica, pela ajuda prestada na execução de meus trabalhos.

A todos que, de uma forma direta ou indireta, contribuíram na execução deste trabalho.

## BIOGRAFIA

PHABLO BARRETO PINTO, filho de Luiz Sergio Gomes Pinto e Vilma Cabral Barreto Pinto, nasceu no dia 10 de março de 1980, em Campos dos Goytacazes - RJ.

Em março de 1998 iniciou o curso de Agronomia, na Universidade Estadual do Norte Fluminense, diplomando-se em Janeiro de 2003, como Engenheiro Agrônomo.

Desenvolveu trabalho como estudante de iniciação científica de Janeiro de 1998 a dezembro de 2002, tendo como orientadora a Prof<sup>a</sup>. Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues.

Em março de 2003 iniciou o Programa de Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas, na Universidade Federal de Viçosa.

Cumpriu todas as exigências para a obtenção do título de “Magister Scientiae” e defendeu tese em Fevereiro de 2006.

# CONTEÚDO

	Página
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
<b>1.INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1.OBJETIVOS.....	2
1.2.HIPÓTESES.....	2
<b>2.REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1.CARACTERÍSTICAS GERAIS DA DRENAGEM ÁCIDA.....	3
2.1.2.Equilíbrios químicos envolvidos.....	3
2.1.1.1.Reações produtoras de acidez.....	3
2.1.1.2.Reações produtoras de alcalinidade.....	4
2.1.2.Estequiometria das reações.....	5
2.1.3.Cinética das reações.....	6
2.1.4.Fatores que influenciam a drenagem ácida.....	8
2.1.4.1.Fatores relacionados com a mineralogia do substrato.....	8
2.1.4.2.Fatores relacionados com as condições ambientais.....	9
2.1.4.3. Condições de lavra, acondicionamento e grau de moagem do substrato	10
2.1.5. Técnicas preditivas da drenagem ácida.....	11
2.1.5.1. Análise do substrato.....	11
2.1.5.2. Testes de Intemperismo simulado.....	12
2.1.5.3. Avaliação do processo oxidativo pelo método das extrações sucessivas.	12
2.2.CARACTERÍSTICAS GERAIS DA BACTÉRIA <i>Acidithiobacillus</i>	13
<i>ferrooxidans</i> .....	
2.2.1. Usos diferenciados da bactéria <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> .....	13
2.2.2. Fatores que influenciam a atividade bacteriana.....	16
2.2.2.1. pH.....	16
2.2.2.2. Temperatura.....	16
2.2.2.3. Oxigênio.....	17
2.2.2.4. Dióxido de.....	17
2.2.3. <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> : resistência a	17

<b>3. MATERIALE MÉTODOS</b> .....	19
3.1. LOCAIS DE AMOSTRAGEM.....	19
3.2. PREPARO DAS AMOSTRAS.....	19
3.3. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS AMOSTRAS.....	20
3.4. CARACTERIZAÇÃO MINERALÓGICA DAS AMOSTRAS.....	21
3.4.1. Difractometria de raios-x.....	22
3.4.2. Microscopia eletrônica de varredura (mev).....	22
3.5. OBTENÇÃO E CONTAGEM DA CULTURA DE BACTÉRIA.....	26
3.6. EXPERIMENTO DE INTEMPERISMO SIMULADO.....	27
3.7. AVALIAÇÃO DO PROCESSO OXIDATIVO PELO MÉTODO DAS EXTRAÇÕES SUCESSIVAS COM A UTILIZAÇÃO DE UM OXIDANTE QUÍMICO.....	29
3.8. AVALIAÇÃO DO PROCESSO OXIDATIVO PELO MÉTODO DAS EXTRAÇÕES SUCESSIVAS COM OXIDAÇÃO BIOLÓGICA.....	31
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	33
4.1- INTEMPERISMO SIMULADO.....	33
4.1.1 Produção de SO <sub>4</sub> .....	33
4.1.2. Produção de acidez.....	39
4.1.3. Liberação de metais pela ação da bactéria <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> ....	42
4.2- OXIDAÇÃO POR EXTRAÇÃO SUCESSIVA COM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	46
4.2.1. Efeito das doses de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> na produção de sulfato.....	46
4.2.2. Efeito das doses de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> na produção de acidez.....	50
4.3. OXIDAÇÃO BACTERIANA EM EXTRAÇÕES SUCESSIVAS.....	52
4.3.1. Produção de sulfato.....	52
4.4. PREVISÃO DO INTEMPERISMO SIMULADO COM BASE NAS EXTRAÇÕES SUCESSIVAS.....	57
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	65
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	66

## RESUMO

PINTO, Phablo Barreto, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2006. **Estimativa da drenagem ácida por oxidação química e biológica de geomateriais sulfetados.** Orientador: Walter Antônio Pereira Abrahão. Conselheiros: Jaime Wilson Vargas de Mello e Luiz Eduardo Dias.

A drenagem ácida é causada a partir da oxidação de minerais sulfetados. Atualmente pode-se prever os efeitos da drenagem ácida a partir de técnicas analíticas, mas, deve-se levar em consideração as limitações que cada técnica apresenta e a partir daí estudar. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo testar métodos cinéticos de oxidação de sulfetos em diferentes geomateriais tendo em vista a obtenção de uma técnica preditiva capaz de superar as limitações encontradas nas técnicas convencionais. Foram desenvolvidos três experimentos: Experimento 1 – Colunas de lixiviação com e sem a inoculação da bactéria acidófila *Acidithiobacillus ferrooxidans*; Experimento 2 – Extrações sucessivas utilizando um oxidante químico (diferentes doses de  $H_2O_2$ ) e Experimento 3 - Extrações sucessivas utilizando um oxidante biológico (*Acidithiobacillus ferrooxidans*). Com isso também foi possível avaliar a eficiência da oxidação bacteriana sobre os sulfetos. Os resultados obtidos, revelaram um aumento marcante na taxa de oxidação dos sulfetos devido a presença bacteriana, sendo que o tamanho e a forma dos cristais de pirita influenciaram nas taxas de oxidação em todos os experimentos. Com relação obtenção de um método preditivo da drenagem ácida, conclui-se que é possível prever a geração de drenagem ácida a partir da relação entre os resultados obtidos nos experimento desenvolvidos no presente trabalho. Observou-se que o método das extrações sucessivas com oxidação química é mais indicado, devido à facilidade de condução e rapidez em se obter os resultados, comparando-se com o método de oxidação biológica.

## ABSTRACT

PINTO, Phablo Barreto, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February, 2006.  
**Estimate of the acid drainage by chemical and biological oxidation of sulfide geomaterials.** Adviser: Walter Antônio Pereira Abrahão. Committee members: Jaime Wilson Vargas de Mello and Luiz Eduardo Dias.

Acid drainage arises from oxidation of sulfide minerals. Currently it can be foreseen the effects of the acid drainage from analytical techniques, but, it should be taken into account the limitations at such techniques and so studying sustainable alternatives to specific conditions. This way, the present work aimed to test kinetic methods for sulfide oxidation in different geomaterials in order to obtain a predictive technique to overcome the limitations of the conventional techniques. Three experiments were performed: Experiment 1 - Leaching columns with and without of bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*; Experiment 2 - Successive extractions by a chemical oxidizer (different doses of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and Experiment 3 - Successive extractions by a biological oxidizer (*Acidithiobacillus ferrooxidans*). This way, it was possible to evaluate the efficiency of the bacterial oxidation on the sulfides. Results showed a clear increase on the oxidation rate of the sulfides due to bacteria in general, the size and the form of the pyrite influenced oxidation rate. With relationship obtaining of a predictive method of the acid mine drainage, it is ended that is possible to foresee the generation of acid drainage starting from the relationship among the results obtained in the experiment developed in the present work. It was observed that the method of the successive extractions with chemical oxidation is more suitable, due to the transport easiness and speed in obtaining the results, being compared with the method of biological oxidation.

# 1. INTRODUÇÃO

A drenagem ácida constitui um problema ambiental sério, capaz de comprometer a qualidade de recursos hídricos próximos à região onde ocorre. Tal processo se inicia quando minerais sulfetados, principalmente aqueles que contêm ferro, como a pirita ( $\text{FeS}_2$ ), são expostos à superfície e, na presença de oxigênio e água, sofrem oxidação, formando sulfatos hidratados. Como consequência disto, as águas de drenagem tornam-se ácidas e com altas concentrações de sulfato e ferro, pois os produtos da oxidação dos sulfetos são altamente solúveis e apresentam reação fortemente ácida. Devido aos baixos valores de pH, que podem chegar a valores menores que 2,0, outros elementos como o alumínio, manganês, cobre, zinco, chumbo, mercúrio, cádmio, etc., caso presentes no meio, são solubilizados e mobilizados nas águas de drenagem, podendo tornarem-se tóxicos. Ao atingir os mananciais de água como lagos e rios, a drenagem ácida pode comprometer o balanço ecológico dos recursos hídricos, com potencial para incorporar metais tóxicos na cadeia trófica (ABRAHÃO, 2002).

SILVERMAN e LUNDGREN (1959) constataram um aumento significativo da oxidação dos sulfetos devido à presença de bactérias acidófilas, principalmente do gênero *Thiobacillus spp.* (que posteriormente passaram a se chamar *Acidithiobacillus spp.* (KELLY e WOOD (2000))). Para obter energia para seu crescimento e desenvolvimento estas bactérias são capazes de oxidar o ferro e o enxofre presentes nos materiais sulfetados. No entanto, ainda não se sabe ao certo o quanto a presença da bactéria pode acelerar a oxidação dos sulfetos. Neste sentido, são necessários estudos cinéticos da ação bacteriana sobre minerais sulfetados a longo prazo.

Os efeitos da drenagem ácida podem ser avaliados a partir de técnicas analíticas preditivas. Contudo, deve-se levar em conta que cada técnica apresenta limitações, e a partir daí contorná-las para se obter uma técnica que seja ao mesmo tempo de fácil execução e que reproduza de maneira mais fiel a cinética de oxidação dos sulfetos.

## 1.1. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivos:

Avaliar a cinética de oxidação de sulfetos, de diferentes origens e condições de formação, com e sem inoculação de bactérias do gênero *Acidithiobacillus spp.*

Obter uma técnica analítica rápida capaz de prever a produção de drenagem ácida levando em consideração as condições naturais do ambiente.

## 1.2. HIPÓTESES

Em vista dos atuais conhecimentos sobre drenagem ácida, pode-se supor que:

- A oxidação dos sulfetos é acelerada pela presença de bactérias do gênero *Acidithiobacillus spp.* Portanto, o estudo da cinética de oxidação dos sulfetos na presença destas bactérias pode fornecer um valor aproximado sobre o incremento das taxas de oxidação.

- Existe um método preditivo laboratorial que possa ser comparado com o processo natural em campo.

- A ação bacteriana é influenciada entre outros fatores pelas características mineralógicas dos materiais inoculados.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA DRENAGEM ÁCIDA

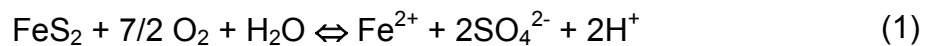
#### 2.1.1. EQUILÍBRIOS QUÍMICOS ENVOLVIDOS

A drenagem ácida é resultante de um processo que envolve o balanço resultante entre reações produtoras de acidez, pela oxidação dos sulfetos, e reações de dissolução de certos minerais, principalmente carbonatos, capazes de produzirem alcalinidade.

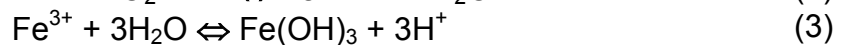
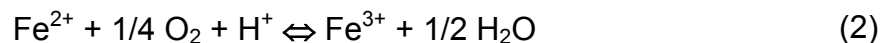
##### 2.1.1.1. REAÇÕES PRODUTORAS DE ACIDEZ

O principal mineral sulfetado capaz de produzir drenagem ácida é a pirita ( $\text{FeS}_2$ ), embora outros sulfetos, de menor ocorrência, possam também contribuir para o processo.

A reação inicial é a oxidação do sulfeto pelo  $\text{O}_2$  atmosférico, produzindo sulfato, Fe ferroso e íons  $\text{H}^+$  (1).



Posteriormente o Fe ferroso é também oxidado a Fe férrico (2), o qual por sua vez sofre hidrólise, produzindo hidróxido férrico e mais acidez (3).

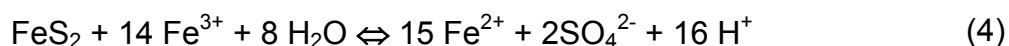


Sob condições naturais, a oxidação da pirita seguida da hidrólise do Fe(III), pode gerar quatro moles de  $\text{H}^+$  por mol de pirita (somando-se as equações 1, 2, e 3), de acordo com o equilíbrio abaixo.



A reação de hidrólise do  $\text{Fe}^{3+}$  geralmente ocorre prontamente nos estádios iniciais de oxidação da pirita, limitando a atividade  $\text{Fe}^{3+}$  livre na solução. No entanto, à medida que há acúmulo de acidez no meio e o pH cai a

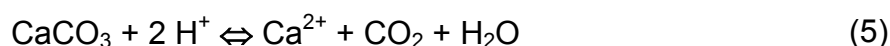
valores abaixo de 3,5, a reação de hidrólise é limitada, aumentando de maneira significativa concentração de Fe férrico na solução. Nessas condições, o  $\text{Fe}^{3+}$  passa a atuar como receptor de elétrons na superfície dos cristais de pirita, tornando-se o principal mecanismo de oxidação dos sulfetos e produção de ácido (4).



Assim, quando o pH do meio é suficientemente ácido, o Fe férrico passa a ser o principal oxidante da pirita, sendo reduzido a Fe ferroso. O  $\text{O}_2$  passa a ter um papel indireto na reoxidação do  $\text{Fe}^{2+}$ , regenerando  $\text{Fe}^{3+}$ , conforme a reação (2). Segundo RITCHIE (1994), sob condições de pH abaixo de 3, a oxidação da pirita pelo  $\text{Fe}^{3+}$  varia amplamente a velocidade, variando cerca de dez a cem vezes mais rápida do que pelo  $\text{O}_2$ . Portanto o processo torna-se autopropagante, constituindo um ciclo contínuo capaz de gerar grandes quantidades de acidez.

#### **2.1.1.2. REAÇÕES PRODUTORAS DE ALCALINIDADE**

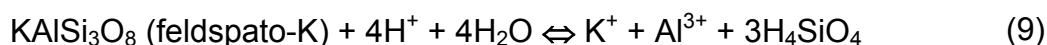
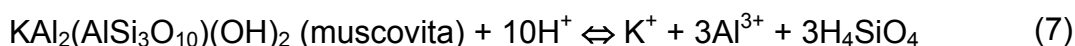
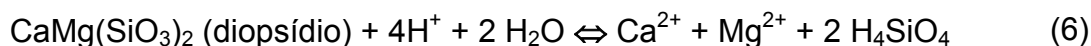
Ao contrario das reações acidificantes, existem minerais cujas reações de dissolução ou hidrólise consomem íons  $\text{H}^+$  ou produzem íons  $\text{OH}^-$  aumentando a alcalinidade nos sistemas aquosos onde se processam. Os principais minerais desse tipo são os carbonatos de Ca e Mg presentes em calcários e mármore, amplamente difundidos na superfície da crosta terrestre (ABRAHÃO, 2002). A reação abaixo mostra a produção de alcalinidade a partir da dissolução de um carbonato de cálcio em água (LINDSAY, 1979):



O consumo de dois prótons ( $\text{H}^+$ ) na reação é que confere aos calcários sua capacidade corretiva de acidez, já que os principais minerais constituintes dessas rochas são calcita ( $\text{CaCO}_3$ ) e dolomita ( $\text{Ca,Mg}(\text{CO}_3)_2$ ), de solubilidade relativamente alta. Não se deve esquecer que esta é uma situação de máxima neutralização em que a reação se processa em elevada acidez e o equilíbrio dos carbonatos é deslocado para  $\text{H}_2\text{CO}_3$ . Já sob condições onde a acidez é

menor (quando o carbonato tampona o pH em torno de 6,5 a 7) o equilíbrio se desloca para  $\text{HCO}_3^-$  e a dissolução de 1 mol de calcita consome apenas 1 mol de próton.

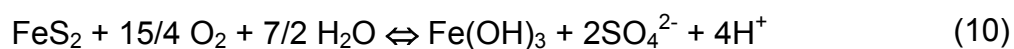
Além da dissolução de carbonatos como a calcita e dolomita, o intemperismo de minerais primários presentes nas rochas, podem contribuir também para a neutralização da acidez por meio de reações de hidrólise. A seguir, serão dados alguns exemplos dessas reações (LINDSAY, 1979).



Deve-se relatar que o intemperismo de minerais silicatados ocorre de forma lenta comparando-se com a dissolução dos carbonatos dos calcários. Portanto, os carbonatos são considerados como os principais corretivos da acidez em curto prazo.

### 2.1.2. ESTEQUIOMETRIA DAS REAÇÕES

A partir da reação abaixo que representa o equilíbrio das reações de oxidação do sulfeto (1) seguida de oxidação de  $\text{Fe}^{2+}$  e hidrólise do  $\text{Fe}^{3+}$  (2), observa-se que a oxidação de um mol de pirita produz 4 moles de  $\text{H}^+$ .

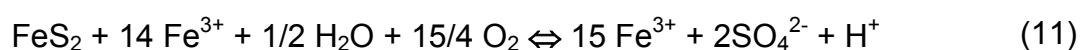


De acordo com a reação (5), a dissolução de 1 mol de  $\text{CaCO}_3$  consome dois moles de  $\text{H}^+$ , resultando assim que para neutralizar a acidez gerada por 1 mol de pirita seriam necessários 2 moles de  $\text{CaCO}_3$ .

Partindo-se dos valores das massas moleculares de pirita (~ 120 g) e do  $\text{CaCO}_3$  (~100 g), a consequência prática dessa estequiometria é que serão necessários aproximadamente 1,67 g de  $\text{CaCO}_3$  para neutralizar cada 1 g de pirita presente no material. Isso significa cerca de 17 kg de calcário (pureza 100% como o  $\text{CaCO}_3$ ) para cada tonelada de material contendo 1% de pirita,

ou 170 toneladas desse calcário para neutralizar, até 1 m de profundidade, 1 ha de material de densidade igual a 1.

Segundo MELLO e ABRAHÃO (1998), estes cálculos fornecem estimativas relativamente realistas, pois, ao se corrigir a acidez com calcário, os valores de pH são relativamente altos, limitando a presença de  $\text{Fe}^{3+}$  no meio em quantidades apreciáveis. Portanto, nestas condições, são pequenas as possibilidades de oxidação de sulfeto tendo o  $\text{Fe}^{3+}$  como receptor de elétrons de acordo com a reação (4). Mas se o meio for muito ácido, há que se considerar o mecanismo de oxidação mediado pelo  $\text{Fe}^{3+}$  que é reduzido a  $\text{Fe}^{2+}$  e reoxidado (equação (2)). Nesse caso, as reações (4) e (2) podem ser representadas conjuntamente pelo seguinte equilíbrio.



Considerando a oxidação do sulfeto pelo  $\text{Fe}^{3+}$ , a geração de acidez será de apenas 1 mol de  $\text{H}^+$  por mol de pirita oxidado, desde que todo Fe reduzido na oxidação do sulfeto seja reoxidado.

Sob condições de acidez moderada, a estequiometria da geração ácida deve ser algo entre os mecanismos representados pela reações (10) e (11).

### 2.1.3. CINÉTICA DAS REAÇÕES

Para se ter uma melhor avaliação dos efeitos causados pela drenagem ácida não se deve deixar de levar em consideração a cinética das reações produtoras de acidez e de alcalinidade. O conhecimento apenas dos equilíbrios químicos envolvidos e da estequiometria das reações não fornece dados suficientes sobre o que realmente vai acontecer com a qualidade das águas de drenagem de um dado substrato sob determinado regime hidrológico. Isso ocorre porque há uma diferença considerável entre a cinética das reações produtoras de acidez e a cinética das reações produtoras de alcalinidade.

Segundo CARUCCIO e GEIDEL (1996), a simples presença de compostos capazes de produzirem acidez e, ou, alcalinidade no substrato, não necessariamente deve-se refletir de modo proporcional na qualidade das águas de drenagem. O substrato que se encontra na fase sólida deve ser convertido

em espécies iônicas na fase aquosa e as velocidades em que tais reações ocorrem devem ser levadas em consideração. Somente o balanço estequiométrico dos componentes produtores de acidez e alcalinidade é insuficiente para prever a qualidade da água de drenagem por não considerar a cinética de transferência da fase sólida para a fase aquosa. Segundo esses mesmos autores, as reações de oxidação da pirita, produtoras de acidez, são, para todos os efeitos, ilimitadas em condições atmosféricas; ao passo que as reações produtoras de alcalinidade estão limitadas pela solubilidade dos carbonatos em materiais calcários.

As reações relacionadas com a drenagem ácida dependem da presença de  $O_2$  e água e, portanto do regime hídrico a que está submetido o substrato em consideração (ABRAHÃO, 2002). Deve-se levar em consideração que as chuvas são periódicas em que há um período onde os produtos do intemperismo são lixiviados seguido por um período em que a água fica retida nos microporos do substrato.

A produção de alcalinidade está limitada pela solubilidade do carbonato que, por sua vez, depende do pH e da pressão de  $CO_2$  no meio. Quando a água retida no substrato atinge a saturação, o maior tempo de contato entre a água e o carbonato não aumenta a alcalinidade total do sistema. Segundo CARUCCIO e GEIDEL (1996), a quantidade total de alcalinidade está limitada pela quantidade total de água retida no substrato.

A geração de acidez depende da dissolução de produtos do intemperismo da pirita que não são limitados por barreiras de solubilidade. Como resultado de sua oxidação, a pirita produz sulfatos de ferro hidratados que possuem solubilidade muito superior à dos carbonatos. Portanto, dependendo da disponibilidade de  $O_2$ , os produtos de oxidação são facilmente solubilizados e se acumulam nas águas que permanecem retidas nos microporos. Segundo ABRAHÃO (2002), o processo de oxidação continua gerando acidez muito além do limite de solubilidade dos carbonatos porventura presentes no substrato, ou seja, as reações produtoras de acidez ocorrem em velocidade mais rápida comparando-se com as reações produtoras de alcalinidade.

Além do intervalo entre chuvas, a porosidade do substrato também deve ser levada em consideração quando se pretende avaliar a cinética das reações envolvidas na geração de drenagem ácida. Portanto, um pequeno

intervalo entre precipitações pluviométricas de baixa intensidade, aliada a uma microporosidade elevada do substrato, deve favorecer as reações produtoras de alcalinidade; ao passo que o maior intervalo entre chuvas e substratos com maior macroporosidade devem favorecer as reações produtoras de acidez.

#### **2.1.4. FATORES QUE INFLUENCIAM A DRENAGEM ÁCIDA**

Os fatores que influenciam a drenagem ácida podem estar diretamente relacionados com: (a) a mineralogia do substrato (tipos, concentração e reatividade dos sulfetos, carbonatos, argilas e outros minerais); (b) condições ambientais (temperatura e regime hídrico da região) e (c) condições de lavra, acondicionamento e moagem do substrato.

##### **2.1.4.1. FATORES RELACIONADOS COM A MINERALOGIA DO SUBSTRATO**

###### **Tipos, concentração e reatividade dos sulfetos**

O potencial de geração de acidez depende da concentração total e dos tipos de sulfetos presentes. Além da pirita (que é o principal sulfeto responsável pela drenagem ácida) outros minerais como calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ), arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ) etc., podem gerar acidez. No entanto, outros sulfetos como esfalerita ( $\text{ZnS}$ ), covelita ( $\text{CuS}$ ) e galena ( $\text{PbS}$ ), por si só, não apresentam oxidação ácida (INGRI, 1996). Mais do que a oxidação do sulfeto é a hidrólise do Fe que gera a acidez, de modo que a presença de Fe (II) é que, em última análise determina o maior ou menor potencial de acidificação de um determinado substrato (ABRAHÃO, 2002).

Com relação à reatividade dos sulfetos, sabe-se que a velocidade de oxidação é tanto maior quanto menor for o tamanho dos cristais dos minerais sulfetados. Resultados em condições de laboratório conseguem ilustrar bem este efeito, para piritas isoladas de minas de carvão do Rio Grande do Sul (SOARES e MELLO, 1997).

## **Tipos, concentração e reatividade dos carbonatos**

A quantidade potencial de alcalinidade de um substrato depende diretamente da concentração total e dos tipos de minerais calcários presentes no meio. Já a reatividade do calcário depende do tipo de carbonatos presentes na rocha, sua pureza e também do tamanho dos cristais de carbonato dispersos no substrato em que quanto menor for o cristal maior será a produção de alcalinidade.

## **Presença de outros minerais, quantidade e tipo de argila**

A decomposição hidrolítica de minerais silicatados presentes no substrato pode contribuir para a neutralização da acidez, contudo, tal decomposição deve ser pouco significativa em curto prazo, em razão da lenta solubilização desses minerais.

Deve-se considerar, também, a presença de metais tóxicos associados a alguns minerais, que quando na presença de drenagem ácida esses elementos podem ser solubilizados e mobilizados, aumentando a toxicidade das águas de drenagem e os impactos sobre os recursos hídricos.

A dissolução e a capacidade de troca de cátions dos argilominerais presentes no substrato também podem afetar a qualidade das águas de drenagem das minas. Os argilominerais também podem adsorver cátions tóxicos, incluindo  $H^+$ , como que filtrando e melhorando a qualidade das águas de drenagem. Existem, ainda, evidências de que determinados minerais de argila como os óxidos, podem adsorver especificamente determinados íons de metais tóxicos da solução.

### **2.1.4.2. FATORES RELACIONADOS COM AS CONDIÇÕES AMBIENTAIS**

Os fatores ambientais que mais influenciam na qualidade das águas de drenagem são: a temperatura e o regime hídrico da região.

A temperatura, de modo geral, interfere na cinética das reações particularmente aquelas catalisadas por microrganismos. Dentro de certos limites, quanto maiores as temperaturas médias, maior é a atividade biológica e

mais rapidamente se processam as reações. O aumento da temperatura favorece a difusão de gases, particularmente a difusão de O<sub>2</sub> atmosférico nos sistemas aquosos e para dentro dos poros dos substratos, portanto o aumento da temperatura deve favorecer mais a cinética das reações produtoras de acidez, que dependem da oxidação dos sulfetos, do que as reações produtoras de alcalinidade.

A intensidade e a distribuição das chuvas podem ter influência determinante sobre a qualidade das águas de drenagem. Portanto, maiores intervalos de chuvas favorecem mais a cinética das reações produtoras de acidez e menores intervalos entre as chuvas favorecem a cinética das reações produtoras de alcalinidade.

#### **2.1.4.3. CONDIÇÕES DE LAVRA, ACONDICIONAMENTO E GRAU DE MOAGEM DO SUBSTRATO**

As condições de lavra, acondicionamento e textura do substrato influenciam na circulação de oxigênio e na retenção de água nos poros do substrato.

As técnicas de lavra e acondicionamento podem expor mais ou menos os materiais sulfetados ao O<sub>2</sub> atmosférico. Portanto, a disposição do substrato de modo a evitar o contato direto de estratos mais ricos em sulfetos com o oxigênio (a maior profundidade, por exemplo), minimiza as reações produtoras de acidez (MELLO e ABRAHÃO, 1998).

Segundo RESENDE et al. (1992), a distribuição de tamanho de partículas de um substrato reflete na macro e microporosidade que, por sua vez, determina a capacidade de retenção de água no material. Sabe-se que uma microporosidade elevada e chuvas freqüentes favorecem as reações produtoras de alcalinidade, mas por outro lado, em substratos com textura grosseira, a transferência de gases dentro dos poros é favorecida e a retenção de água é pequena (KRUMBEIN e MONK, 1942; COSTA e ABRAHÃO, 1996), favorecendo assim as reações produtoras de acidez.

## **2.1.5. TÉCNICAS PREDITIVAS DA DRENAGEM ÁCIDA**

Atualmente, um dos maiores desafios no trabalho de controle da drenagem ácida consiste na predição do potencial gerador de acidez do material. Este potencial é o equilíbrio entre formas produtoras e neutralizantes da acidez. Várias técnicas são utilizadas na predição da drenagem ácida, no entanto todas as técnicas apresentam limitações, e, portanto não conseguem realmente prever o que está ocorrendo em campo.

Existem basicamente dois tipos de técnicas para prever a qualidade das águas de drenagem de determinado substrato. As análises químicas do substrato e os testes de lixiviação ou intemperismo simulado.

### **2.1.5.1. ANÁLISE DO SUBSTRATO**

As análises químicas do substrato permitem calcular o potencial de geração ácida (potencial de acidez) e o potencial de geração de alcalinidade (potencial de neutralização), respectivamente. Com base nos resultados dessas análises e da estequiometria das reações, (em que a dissolução de um mol de  $\text{CaCO}_3$  consome dois moles de  $\text{H}^+$ , e que um mol de  $\text{FeS}_2$  produz quatro moles de  $\text{H}^+$ ) pode-se derivar um balanço ácido-base (SOBEK et al., 1978). Se o potencial de acidez for superior ao potencial de neutralização, o substrato é considerado como possível gerador de drenagem ácida, caso contrário, não se espera drenagem ácida desse substrato.

O potencial de acidez é determinado a partir do teor total de sulfetos presentes na amostra. No entanto, se está presente algum sulfeto cuja oxidação não é capaz de gerar ácido, o potencial de acidez será superestimado. O potencial de neutralização (PN) é determinado pela digestão ácida de amostras. Segundo CARUCCIO e GEIDEL (1996), o maior complicador relacionado com a utilização do balanço ácido-base (BAB) a partir de análises do substrato, como técnica preditiva da qualidade das águas de drenagem, é que este não leva em consideração a cinética das reações, produtoras de acidez e alcalinidade que não são paralelas.

### **2.1.5.2. TESTES DE INTEMPERISMO SIMULADO**

Os testes de lixiviação ou intemperismo simulado conseguem evitar as limitações e erros de interpretação das análises do substrato. São estes testes que, de certa forma, simulam o intemperismo do substrato. Eles consistem em se colocar a amostra dentro de células ou colunas de lixiviação, às quais, periodicamente, adiciona-se água destilada. Na solução lixiviada realizam-se as análises de interesse para o substrato em questão. Geralmente, são determinados a acidez e os teores de sulfato e ferro, porém podem ser realizadas outras análises como o pH e teores de metais tóxicos (ABRAHÃO, 2002). A principal vantagem desta técnica, comparando-se com a análise do substrato, é que são obtidos dados em função do tempo, ou seja, leva em consideração a cinética de oxidação dos sulfetos. A principal desvantagem dessa técnica é o tempo necessário para a obtenção de dados suficientes para se ter uma idéia da cinética.

### **2.1.5.3. AVALIAÇÃO DO PROCESSO OXIDATIVO PELO MÉTODO DAS EXTRAÇÕES SUCESSIVAS**

Uma técnica alternativa de predição da drenagem ácida é a avaliação da oxidação dos sulfetos pelo método das extrações sucessivas. Tal método consiste em realizar várias extrações com a utilização de um extrator (peróxido de hidrogênio) que tem a finalidade de acelerar a oxidação dos sulfetos. Nos extratos poderão ser feitas as seguintes análises: pH, acidez, S, Fe e teores de metais tóxicos. ABRAHÃO (2002) utilizou como extrator peróxido de hidrogênio a uma concentração de 3%, para avaliar a oxidação dos sulfetos de diferentes ambientes de formação, e verificou que as taxas de oxidação variaram bastante entre os sulfetos avaliados. Tal variação se deve ao fato de que a concentração de  $H_2O_2$  utilizada foi efetiva na oxidação de alguns materiais e para outros não. Portanto, as concentrações de peróxido de hidrogênio devem variar de acordo com a formação de cada material no que diz respeito à gênese da pirita. Esta técnica pode ser comparada com os testes de intemperismo simulado, obtendo-se uma relação matemática que indica a correspondência entre o número de extrações e o tempo de lixiviação nas colunas.

## **2.2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA BACTÉRIA *Acidithiobacillus ferrooxidans***

*Thiobacillus ferrooxidans* foi descrita e isolada pela primeira vez em 1948 em um ambiente onde ocorria drenagem ácida (COLMER et al., 1950). Posteriormente TEMPLE e COLMER (1950) deram-lhe o nome de *Thiobacillus ferrooxidans* (que passou a se chamar *Acidithiobacillus ferrooxidans* (KELLY e WOOD (2000)), e a caracterizaram como quimiolitotrófica, pois ela possui um metabolismo capaz de obter energia a partir da oxidação do ferro ( $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ ) e de compostos inorgânicos de enxofre, e obtém todo o carbono presente em suas células a partir da fixação do  $\text{CO}_2$  atmosférico (LEDUC e FERRONI, 1993), devido a sua capacidade de fixar  $\text{CO}_2$  e  $\text{N}_2$ . Outra característica importante é que a parede celular de *At. ferrooxidans* é típica de uma bactéria gram-negativa. Com relação à temperatura ela é classificada como mesófila e normalmente as suas células medem entre 1,2 - 1,7 x 0,5- $\mu\text{m}$  (INGLEDEW, 1981).

Segundo ERLICH (1990), *Acidithiobacillus ferrooxidans* é o microrganismo mais importante em ambientes onde ocorre drenagem ácida pelo simples fato de acelerarem as taxas de algumas reações químicas fundamentais, como por exemplo, a oxidação dos sulfetos e como consequência disto há incremento das taxas de geração de acidez no meio.

### **2.2.1. USOS DIFERENCIADOS DA BACTÉRIA *At. ferrooxidans***

*Acidithiobacillus ferrooxidans* são utilizadas principalmente na indústria da mineração e no beneficiamento do carvão, devido a sua capacidade de promover a biolixiviação dos metais presentes nos minerais.

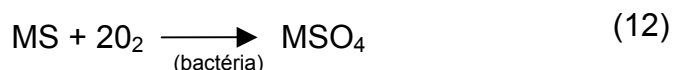
Biolixiviação é um processo em que os metais são extraídos de minerais com a ajuda de microrganismos (HADDADIN et al., 1995), especialmente *Acidithiobacillus*, que têm sido utilizados na metalurgia extrativa desde antes do século 16. Contudo só após de 1947 que o papel de tal bactéria foi completamente elucidado (COLMER et al., 1950). 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).

Embora muitos microrganismos consigam ter um papel importante na biolixiviação, *At. ferrooxidans* domina o processo porque possui a habilidade de oxidar tanto o ferro quanto o enxofre e apresenta normalmente elevada tolerância à alta acidez típica destes ambientes (EHLICH, 1963; TUOVINEN e KELLEY, 1972). De fato, ela foi descrita por LUNDGREN e SILVER (1980) como “o principal microrganismo gerador de acidez associado com a lixiviação mineral”. A importância de *At. ferrooxidans* na biolixiviação é resultado do seu metabolismo.

Metais podem ser liberados de sulfetos a partir de um mecanismo direto ou indireto. Em outras palavras, a bactéria pode solubilizar metais diretamente a partir de um ataque oxidativo ao sulfeto ou indiretamente por uma pela produção de um reagente oxidante que resulta na solubilização de metais. Em condições de campo a oxidação direta e indireta ocorre simultaneamente (LUNDGREN e SILVER ,1980).

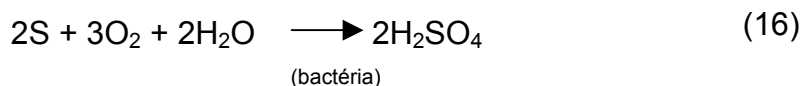
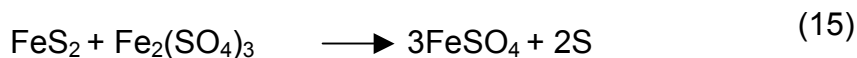
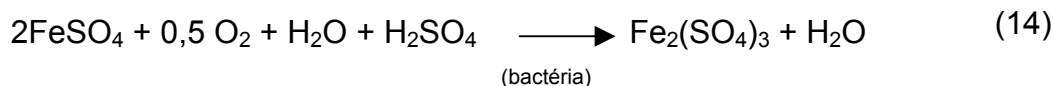
Na ação microbiana direta sobre os sulfetos, a estrutura do mineral é atacada por meio de enzimas bacterianas. O processo de biooxidação pode ser descrito sucintamente de acordo com a seguinte reação:



em que MS é um sulfeto metálico (LUNDGREN e SILVER ,1980).

Este ataque é facilitado pelo contato íntimo entre a bactéria e a superfície do sulfeto.

Na lixiviação indireta *At. ferrooxidans* produz um oxidante que, quimicamente, oxida os sulfetos. Especificamente *At. ferrooxidans* produz e reproduz o oxidante ( $\text{Fe}^{3+}$ ) que carrega os elétrons do mineral para a parede celular da bactéria. Esses elétrons são subsequentemente transportados via cadeia de transporte de elétrons para o oxigênio molecular (ERLICH, 1990). A lixiviação indireta pode ser descrita de acordo com as seguintes equações (LUNDGREN e SILVER ,1980).



Quando a pirita é exposta ao ar e à água, ocorre uma oxidação relativamente lenta que converte a pirita em sulfato ferroso e ácido sulfúrico (Equação 13). Se bactérias semelhantes à *At. ferrooxidans* estão presentes, ocorrerá rápida oxidação do sulfato ferroso a sulfato férrico e água, e o ferro (II) atuará como doador de elétrons para a bactéria (Equação 14). O sulfato férrico atua sobre a pirita e produz mais sulfato ferroso e enxofre elementar (Equação 15). O sulfato ferroso pode ser rapidamente oxidado produzindo novamente os produtos da Equação 14. Finalmente, o enxofre pode ser oxidado, através do mecanismo de ação direta da bactéria, para produzir ácido sulfúrico (Equação 16). Essas reações que estabelecem o ciclo de transformações Fe(II) para Fe(III) ocorrem através da ação de *At. ferrooxidans*.

A utilização de *Acidithiobacillus ferrooxidans* com o objetivo de melhorar a qualidade do carvão para a queima em termelétricas leva em consideração a ação oxidativa da bactéria que obtém energia para o seu crescimento a partir da dissolução e oxidação de sulfetos metálicos insolúveis, transformando-os em sulfato solúvel (SANT'ANA et al., 1995). É possível, desta forma, remover o enxofre total presente no carvão (GARCIA Jr, 1996). No Brasil, trabalhos para aprimorar a aplicação do carvão nacional para a queima em termelétricas têm sido realizados esporadicamente (CYBIS, 1987; MARQUES e DE LUCA, 1991; DE LUCA, 1992; MATER e CORSEUIL, 1995). Segundo SANT'ANA et al. (1999), 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.

## 2.2.2. FATORES QUE INFLUENCIAM A ATIVIDADE BACTERIANA

Para que a atividade bacteriana seja otimizada, não se deve deixar de levar em consideração vários fatores que influenciam a ação bacteriana sobre os sulfetos. Segundo HADDADIN et al. (1995), um completo entendimento de todos os fatores que interferem e que controlam a ação da bactéria são a chave para se otimizar a atividade bacteriana.

Fatores como pH, temperatura, disponibilidade de oxigênio, dióxido de carbono, devem ser considerados.

### 2.2.2.1. pH

A oxidação biológica do ferro e do enxofre presentes nos sulfetos requer a presença de íons hidrogênio ( $H^+$ ) e de elétrons (INGLEDEW, 1982). Para microrganismos quimiolitotróficos obrigatórios e acidófilos o valor ótimo de pH para que ocorra a biolixiviação encontra-se entre 1,5 a 2,5 (TORMA e BANHEGYI, 1984, DISPIRITO et al., 1981, KARAMANEV e NIKOLOV, 1988; AHONEN e TUOVINEN, 1989 e 1990). Tal variação de pH está relacionada com as particularidades de cada estirpe. Esta faixa encontra-se na fase exponencial de crescimento bacteriano em que ocorre rápida bioxidação do substrato. (HADDADIN., et al 1995). Se o pH ultrapassar a neutralidade acarretará na dissolução da membrana plasmática causando assim a morte da célula bacteriana (BROCK et al., 1984).

### 2.2.2.2. Temperatura

A temperatura é fundamental no processo de lixiviação bacteriana (GUAY e SILVER, 1980; BROCK et al., 1984; BRIERLEY e BRIERLEY, 1986; KELLEY e TUOVINEN, 1986; KARAMANEV e NIKOLOV, 1988; AHONEN e TUOVINEN, 1989). *Acidithiobacillus ferrooxidans* é uma bactéria mesófila, apresentando faixa de temperatura ótima para a sua atividade entre 25 a 35°C (GUAY e SILVER, 1980, LUNDGREN e SILVER, 1980). AHONEN e TUOVINEN (1990) observaram que houve crescimento bacteriano na faixa de 4 a 37°C e segundo MODAK et al. (1995) a faixa de temperatura máxima limite para o crescimento de *At. ferrooxidans* é de aproximadamente 40-45°C embora

a atividade deste microrganismo seja inibida em temperaturas acima de 35°C. Entretanto, a ótima temperatura não é definida de forma precisa porque varia entre as diferentes estirpes.

### **2.2.2.3. Oxigênio**

A disponibilidade de oxigênio é um importante fator que controla o processo de lixiviação (GALE e BECK, 1967). *At. ferrooxidans* é uma bactéria aeróbia obrigatória e cresce geralmente sob forte aeração. Entretanto, segundo SILVERMAN e ROGOF (1961), a excessiva e vigorosa aeração pode causar alterações na morfologia das células.

Por outro lado, DAS et al., (1992) e PRONK et al.,(1992) verificaram que o  $Fe^{3+}$  pode ser um importante aceptor de elétrons na oxidação de sulfetos em certos ambientes ácidos, provando assim que a bactéria, sob certas condições, é capaz de crescer em ambiente anaeróbico. Os autores estudaram o crescimento de *At. ferrooxidans* em enxofre elementar usando diferentes fontes de Fe (III).

### **2.2.2.4. Dióxido de carbono**

Como foi dito anteriormente, *Acidithiobacillus ferrooxidans* é uma bactéria autotrófica obrigatória que fixa o dióxido de carbono através do ciclo de Calvin. O processo de fixação do  $CO_2$  é influenciado pela concentração de íons  $Mg^{2+}$  no meio de cultura (MALHOTRA et al., 2002).

A enzima chave do ciclo de Calvin é a ribulose bifosfato carboxilase-oxigenase (RuBp carboxilase) (META, 1983) e sua atividade específica aumenta quatro vezes quando a concentração de  $CO_2$  é dobrada em relação a concentração de  $CO_2$  que é encontrada normalmente no ar.

### **2.2.3. *Acidithiobacillus ferrooxidans*: RESISTÊNCIA A METAIS**

Microrganismos requerem a presença de metais que têm papel semelhante ao de catalisadores bioquímicos, atuando como co-fatores enzimáticos nos processos redox e estabilizando estruturas de proteínas (BRUINS., et al, 2000). Metais podem se acumular em concentrações

superiores àquelas fisiológicas normais por meio de uma ação não específica, ou seja, metais intracelulares podem exercer um efeito tóxico bloqueando grupos funcionais de enzimas, dificultando sistemas de transportes, deslocando metais essenciais de seus locais naturais e rompendo a integridade da membrana celular (NIES, 1999). Por outro lado, tem-se observado que *Acidithiobacillus ferrooxidans* apresenta resistência a altas concentrações de metais. Sabe-se bem que em águas ácidas os microrganismos acidófilos não têm a capacidade de apenas tolerar tais condições, mas sim de crescer e se desenvolver na presença de elevados teores de metais (HALLBERG e JOHNSON, 2001).

Tais microrganismos sobrevivem sob essas condições devido a um processo avançado de mecanismos de resistência aos metais. Existem cinco mecanismos básicos que levam a um aumento da resistência celular a metais: (1) efluxo de metais tóxicos para fora da célula; (2) conversão enzimática; (3) seqüestro intra ou extracelular; (4) exclusão por permeabilidade e (5) redução na susceptibilidade celular (DOPSON. et al, 2003). Já foi observada resistência por parte de *Acidithiobacillus ferrooxidans* aos seguintes metais: As (III e V), Cu, Zn, Cd, Ni, Hg, Ag, U e Th (DOPSON. et al, 2003).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. LOCAIS DE AMOSTRAGEM

Neste trabalho, foram utilizados oito materiais sulfetados de diferentes origens e condições de formação com o intuito de se obter uma maior variabilidade no que diz respeito às características químicas e mineralógicas, tanto dos sulfetos quanto dos minerais a eles associados. Foram coletadas amostras de um solo tiomórfico, e substratos rochosos contendo sulfetos, em localidades dos estados do Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Espírito Santo (Quadro 1). É importante ressaltar que as amostras utilizadas neste trabalho foram as mesmas utilizadas por ABRAHÃO (2002).

Quadro 1 –Descrição, identificação e localização das amostras utilizadas.

Am	Descrição	Identificação	Localização
1	Solo tiomórfico – Horizonte C	Solo Tiomórfico	Aracruz – ES
2	Rejeito do lavador de carvão	Carvão	Butiá – RS
3	Rejeito de mineração de Zn e Pb em dolomito	Dolomito	Vazante – MG
4	Minério de Au do banco B2 em filito	Filito	Paracatu – MG
5	Minério de Au em BIF de xisto/gnaise	Xisto	Sabará – MG
6	Estéril de mineração de U em foiaito/tinguítio	Alcalina	Poços de Caldas – MG
7	Minério de Ni de baixo teor	Ultrabásica	Fortaleza de Minas – MG
8	Pirita padrão (padrão de museu)	Pirita	Chile

Além das amostras citadas acima também foi utilizada uma amostra contendo apenas quartzo que serviu como material de referência (branco).

#### 3.2. PREPARO DAS AMOSTRAS

Após a coleta, todas as amostras foram moídas em almofariz de porcelana, e passadas em peneira de 100 mesh (0,149 mm) e armazenadas a seco em frascos fechados. Com o objetivo de remover sulfatos e outros sais solúveis, após a moagem, as amostras foram lavadas com solução de  $\text{CaCl}_2$  (1 mol  $\text{L}^{-1}$ ), na proporção de 500 mL para 100 g de material, sob agitação durante duas horas. Para a remoção do excesso de  $\text{CaCl}_2$ , as amostras foram lavadas com água destilada até que uma alíquota do sobrenadante não mais apresentasse precipitação de  $\text{AgCl}$  quando da adição de  $\text{AgNO}_3$  5%. Após a

lavagem, as amostras foram drenadas a vácuo, congeladas, liofilizadas e acondicionadas em frascos hermeticamente fechados.

As amostras assim preparadas foram submetidas a intemperismo simulado na presença e ausência de bactérias, conforme relatado mais adiante.

### **3.3. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS AMOSTRAS**

A caracterização química de todas as amostras foi feita anteriormente por ABRAHÃO (2002) e os resultados estão apresentados no Quadro 2. Foram feitas análises de pH, elementos totais (Cd, Cu, Pb, Zn, Na, K, As, Si, Al, Fe, Mn, Ca, Mg, Ti) por procedimento adaptado de JEFERY e HUTCHISON (1983), carbono total por técnica de fusão e dosagem por espectroscopia de infravermelho em LECO-HF, Fe (II) (JEFERY e HUTCHISON, 1983), S-sulfeto (LECO e água-régia) e S-pirítico (procedimento adaptado de O'SHAY et al., 1990). Foi determinado também o Potencial de Acidificação (PA) (O'SHAY et al., 1990) e o Potencial de Neutralização (PN) (EMBRAPA, 1997), obtendo-se o Balanço Ácido Base (BAB) pela diferença entre os valores de Potencial de Acidez (PA) e Potencial de Neutralização (PN) (SOBEK et al. 1978).

Quadro 2. Caracterização química das amostras utilizadas no presente estudo segundo ABRAHÃO (2002)

		Solo	Carvão	Dolomito	Filito	Xisto	Alcalina	Ultrabásica	Pirita
<b>pH</b> <sup>1/</sup>		2,85	2,48	8,20	2,42	7,66	3,72	7,11	nd <sup>5/</sup>
<b>S-píritico</b> <sup>2/</sup>	dag kg <sup>-1</sup>	0,26	2,19	1,27	0,39	3,46	1,13	0,88	50,18
<b>S-sulfeto</b> <sup>3/</sup>	dag kg <sup>-1</sup>	1,55	3,63	1,96	1,30	6,64	1,95	2,11	48,64
<b>S-sulfeto</b> <sup>4/</sup>	dag kg <sup>-1</sup>	1,66	3,74	1,63	0,83	5,66	1,65	2,34	51,72
<b>C</b> <sup>4/</sup>	dag kg <sup>-1</sup>	1,85	7,58	8,44	0,23	2,89	0,06	0,20	nd
<b>Perda por Fusão</b>	dag kg <sup>-1</sup>	11,86	19,51	39,98	4,23	16,35	3,45	10,43	nd
<b>BAB (PA-PN)</b>	mmol kg <sup>-1</sup>	216	2458	-17412	718	-3060	1083	-715	30555
<b>Si</b>	dag kg <sup>-1</sup>	27,03	17,63	4,12	31,30	22,83	26,15	16,17	nd
<b>Al</b>	dag kg <sup>-1</sup>	9,37	7,56	0,15	9,21	2,73	11,69	1,40	nd
<b>Fe (total)</b>	dag kg <sup>-1</sup>	3,65	3,81	4,14	2,50	12,91	2,10	14,38	45,97
<b>Fe(II)</b>	dag kg <sup>-1</sup>	0,88	0,62	2,69	0,16	8,32	0,18	7,90	nd
<b>Fe (III)</b>	dag kg <sup>-1</sup>	2,77	3,19	1,46	2,35	4,59	1,92	6,49	nd
<b>Ca</b>	dag kg <sup>-1</sup>	0,12	0,14	19,07	0,04	4,93	0,03	0,39	nd
<b>Mg</b>	dag kg <sup>-1</sup>	0,23	0,12	10,47	0,42	1,24	0,05	17,66	nd
<b>Na</b>	dag kg <sup>-1</sup>	0,11	0,07	0,01	0,13	0,26	0,10	0,01	nd
<b>K</b>	dag kg <sup>-1</sup>	0,69	0,95	0,07	4,51	1,00	11,40	0,05	nd
<b>Ti</b>	dag kg <sup>-1</sup>	0,52	0,54	0,01	0,65	0,16	0,30	0,23	nd
<b>Mn</b>	dag kg <sup>-1</sup>	0,01	0,00	0,39	0,00	0,32	0,00	0,15	0,00
<b>Cu</b>	µg g <sup>-1</sup>	46,26	36,81	98,97	25,19	131,70	34,68	2506,67	682,11
<b>Zn</b>	µg g <sup>-1</sup>	57,66	22,50	4796,0	43,33	980,00	45,00	208,33	59,89
<b>Ni</b>	µg g <sup>-1</sup>	43,20	39,40	0,66	31,53	121,10	58,77	8676,00	3,38
<b>Pb</b>	µg g <sup>-1</sup>	63,30	55,67	50,00	50,00	50,00	50,00	61,00	44,38
<b>As</b>	µg g <sup>-1</sup>	7,38	24,78	2,67	1757,0	1310,6	19,03	0,93	nd
<b>Cd</b>	µg g <sup>-1</sup>	4,61	5,28	32,00	51,77	40,61	4,99	19,71	22,90
<b>Soma dos elementos</b>	dag kg <sup>-1</sup>	<b>45,27</b>	<b>42,16</b>	<b>49,00</b>	<b>50,02</b>	<b>55,20</b>	<b>53,56</b>	<b>54,13</b>	<b>97,77</b>

1/ pH medido nos substratos moídos dos geomateriais, na relação volumétrica 1:25 (substrato: água)

2/ S inferido pela produção de acidez titulável. Digestão com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (O'SHAY et al., 1990)

3/ S determinado por digestão com água régia concentrada (CORRÊA, 2000)

4/ S e C determinados após fusão a 1000°C – LECO

5/ nd = não determinado

### 3.4. CARACTERIZAÇÃO MINERALÓGICA DAS AMOSTRAS

A caracterização mineralógica das amostras também foi realizada anteriormente por ABRAHÃO (2002), por meio de Difractometria de Raios-X (Quadro 3) e Microscopia Eletrônica de Varredura (Quadro 4).

### **3.4.1. DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X**

Em todas as amostras, verificou-se a pirita como principal sulfeto presente, embora também ocorresse a presença de outros sulfetos como marcassita (presente na amostra de solo, carvão e xisto), pirrotita, pentlandita e esfalerita (presentes somente nas amostras de xisto e ultrabásica).

Com relação aos silicatos, observou-se que o quartzo está presente em todas as amostras excluindo-se a amostra ultrabásica e de pirita (ABRAHÃO, 2002). Verificou-se também a presença de caulinita, muscovita (presentes na amostra de solo, carvão, filito e xisto), clorita (presente na amostra de filito, xisto e ultrabásica), anortoclásio (presente na amostra de filito e alcalina), labradorita (amostra de xisto), microclínio, ortoclásio e nefelina (presentes somente na amostra alcalina).

Entre os carbonatos, destacam-se a calcita (presente na amostra dolomito) e a dolomita (presente na amostra de xisto, dolomito e ultrabásica). Observou-se também a presença de siderita nas amostras de filito e xisto.

### **3.4.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)**

A amostra de solo tiomórfico (Quadro 4) apresenta grânulos framboidais de pirita, com diâmetro médio de 140  $\mu\text{m}$ , com superfície formada por incrustações de pequenos octaedros de cerca de 5  $\mu\text{m}$  de aresta. Segundo EVANGELOU (1995), a forma de pirita framboidal é apontada como sendo a mais reativa devido à grande superfície exposta às reações oxidativas.

Na amostra de carvão foram observados aglomerados de pequenos cubos de pirita, com cerca de 3  $\mu\text{m}$  de aresta (Quadro 4). Sendo este material composto por partículas tão pequenas, a superfície reativa de pirita é alta neste material, embora a forma cúbica apresente menor superfície de exposição do que a octaédrica, como na amostra de solo, guardadas as mesmas proporções de tamanhos de arestas.

Na amostra de dolomito apareceram formas relativamente grandes, com cerca de 50  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de pirita maciça e framboidal (Quadro 4). Na amostra analisada não foi possível detectar a presença de minerais contendo Pb, mas a partir de uma análise mais detalhada, utilizando-se a técnica de

espectroscopia por dispersão de raios-X por comprimento de onda (WDS) detectou-se a presença de Pb disseminado em matriz pirítica maciça.

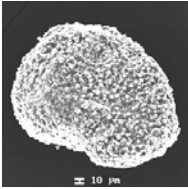
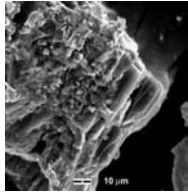
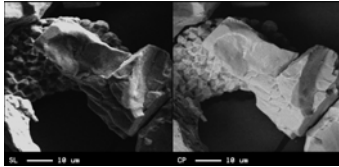
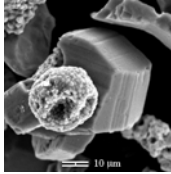
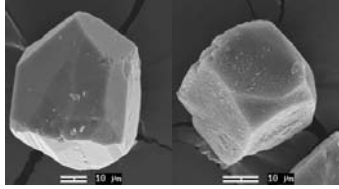
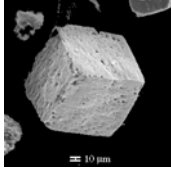
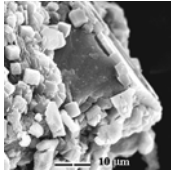
Na amostra de filito foram encontradas todas as formas mais comuns de crescimento dos cristais de pirita: framboidal, piritoedral, maciça e cúbica. O Quadro 4 mostra uma forma framboidal bem arredondada de 25  $\mu\text{m}$  de diâmetro, formada por pequenos octaedros de cerca de 2  $\mu\text{m}$ , e formas também framboidais incrustados em piritas maciças e piritoedros com faces bem formadas de cerca de 40  $\mu\text{m}$ . Observou-se também a presença de formas cúbicas bem formadas de 15  $\mu\text{m}$  de aresta.

Na amostra de xisto (Quadro 4) foram detectadas piritas nas formas piritoédricas e cúbicas bem formadas, com cerca de 30  $\mu\text{m}$  de aresta.

Na amostra de rocha alcalina (Quadro 4) foi observado somente a presença de pirita na forma cúbica de grande tamanho de cerca de 60  $\mu\text{m}$  de aresta.

Por último, a amostra de rocha ultrabásica (Quadro 4) apresenta cubos maiores e agregados, frouxamente justapostos de cristais menores (com cerca de 3  $\mu\text{m}$  de aresta).

Quadro 4. Formas e fotomicrografias da cristalização das piratas presentes nas amostras utilizadas.

Amostra	Formas Predominantes dos cristais de pirita	Diâmetro médio dos cristais de pirita	Fotomicrografia
Solo Tiomórfico	Framboidal	140 $\mu\text{m}$	
Carvão	Cúbica	3 $\mu\text{m}$	
Dolomito	Maciça e framboidal	50 $\mu\text{m}$	
Filito	Framboidal, piritoedral, maciça e cúbica	25 $\mu\text{m}$ e 40 $\mu\text{m}$	
Xisto	Piritoédral e cúbica	30 $\mu\text{m}$	
Alcalina	Cúbica	60 $\mu\text{m}$	
Ultrabásica	Cúbica	3 $\mu\text{m}$	

Fonte: ABRAHÃO (2002)

Mineral	Fórmula	Solo	Carvão	Dolomito	Filito	Xisto	Alcalina	Ultramáfica	Pirita
<b>Silicatos</b>									
Anortoclásio	$(K,Na)AlSi_3O_8$								
Antigorita	$Mg_6Si_4O_{10}(OH)_8$								
Caulinita	$Al_4Si_4O_{10}(OH)_8$								
Clorita	$(Mg,Fe)_3(Si,Al)_4O_{10}(OH)_2(Mg,Fe)_3(OH)_6$								
Clorita-Vermiculita	$Na_{0,5}Al_6(Si,Al)_8O_{20}(OH)_{10} \cdot H_2O$								
Hornblenda	$(Na,K)Ca_2(Fe,Mg)_5(Al,Si)_8O_{22}(OH)_2$								
Labradorita	$(Ca,Na)AlSi_3O_8$								
Microclínio	$KAlSi_3O_8$								
Montmorilonita-Clorita	Alumino-silicato interestratificado								
Muscovita	$KAl_2(Si_3AlO_{10})(OH)_2$								
Nefelina	$NaAlSiO_4$								
Ortooclásio	$KAlSi_3O_8$								
Quartzo	$SiO_2$								
<b>Carbonatos</b>									
Calcita	$CaCO_3$								
Dolomita	$CaMg(CO_3)_2$								
Siderita	$FeCO_3$								
<b>Sulfetos</b>									
Arsenopirita	$FeAsS$								
Calcopirita	$CuFeS_2$								
Esfalerita	$ZnS$								
Marcassita	$FeS_2$								
Pentlandita	$(Co,Ni,Fe)_9S_8$								
Pirita	$FeS_2$								
Pirrotita	$Fe_{(x-1)}S$								
<b>Óxidos</b>									
Ilmenita	$FeTiO_3$								
Rutilo	$TiO_2$								
Magnetita	$Fe_3O_4$								
<b>Sulfatos</b>									
Szomolnoquita	$FeSO_4 \cdot H_2O$								

Fonte: ABRAHÃO (2002)

### 3.5. OBTENÇÃO E CONTAGEM DA CULTURA DE BACTÉRIA

Para se obter a cultura de bactéria, foi feito, primeiramente, um meio de cultura composto das amostras de materiais sulfetados, excluindo-se sulfetos que apresentam Balanço Ácido Base (BAB) negativo; adicionou-se água destilada e manteve-se o recipiente em banho-maria a uma temperatura de aproximadamente 34 °C, sob agitação contínua e fluxo de ar. Posteriormente, o sobrenadante deste meio foi transferido para outro meio de cultura denominado "T & K", constituído de duas soluções (solução A e solução B). Solução A: 0,5 g de MgSO<sub>4</sub>; 0,5 g de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O; 0,5 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 800 mL de água destilada e pH ajustado para 1,8. Solução B: 33,3 g de FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 200 mL de água destilada e pH ajustado para 1,8 e mantido sob as mesmas condições que o primeiro meio.

A contagem das bactérias foi feita em câmara de Neubauer, segundo FERREIRA NETO (1977), em um microscópio de contraste de fase com um aumento de 400 vezes. Obtendo-se uma cultura de  $8 \times 10^8$  células / mL.

Com o objetivo de se reduzir ao máximo a influência da composição química do meio de cultura, foi feita a lavagem deste meio. A lavagem constituiu em concentrar as bactérias em uma membrana milipore de 0,45 µm com a ajuda de uma bomba de vácuo e, logo após lavar esta membrana com água destilada, completando, com água destilada, o volume original antes da filtração.

### 3.6. EXPERIMENTO DE INTEMPERISMO SIMULADO

Com o objetivo de se avaliar o processo oxidativo dos materiais ao longo do tempo, foram montadas, em laboratório, colunas de lixiviação (Figura 10) com e sem a inoculação de bactérias *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Com isso, objetivou-se avaliar a drenagem ácida, sob condições próximas às encontradas em campo (ou seja, levando em consideração a cinética das reações envolvidas) e também verificar a influência da bactéria na cinética da geração de drenagem ácida.

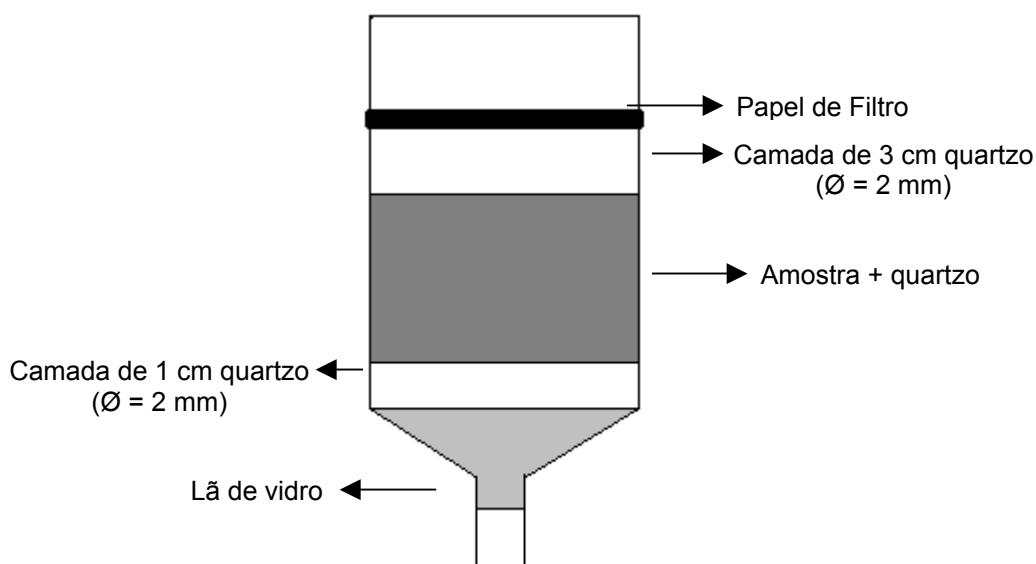


Figura 1. Esquema da coluna de lixiviação utilizada no experimento.

As colunas de lixiviação foram montadas de acordo com o esquema acima (Figura 1). A parte basal foi preenchida com lâ de vidro como elemento filtrante. Logo acima, acrescentou-se uma camada de aproximadamente 1 cm de quartzo moído ( $\varnothing = 2 \text{ mm}$ ) com o objetivo de se evitar o acúmulo de água na lâ de vidro e o contato direto do material com a lâ. Posteriormente, foram adicionados 10 g de cada material sulfetado moído ( $\varnothing = 0,149 \text{ mm}$  -100 mesh) e misturado com 90 g de quartzo com mistura de diferentes granulometrias entre 0,25 e 2 mm. Esta mistura de quartzo foi utilizada com a finalidade de se obter material com boa retenção de umidade, mas que pudesse ser drenado a

vácuo. No caso da pirita padrão, foram utilizados apenas 0,7 g de pirita com granulometria de 0,149 mm misturada com 9,3 g de quartzo de mesma granulometria, compondo assim uma amostra com 7 dag kg<sup>-1</sup> de pirita e posteriormente foram acrescentados outros 90 g de quartzo com diferentes granulometrias como nas demais amostras. Logo acima da amostra, foi acrescentada uma camada de aproximadamente 3 cm de espessura de quartzo moído ( $\varnothing = 2$  mm), como barreira capilar para evitar muita perda de umidade da amostra, e, também, evitar o contato direto da amostra com o papel de filtro. Por último, foi colocado papel de filtro lento para permitir a distribuição uniforme da água adicionada na coluna (Figura 1).

Após a montagem da coluna de lixiviação foram feitas as coletas do lixiviado. Nos tratamentos em que não houve inoculação bacteriana, adicionaram-se 50 mL de água deionizada em cada coluna para posterior coleta do lixiviado. Na outra metade dos tratamentos, juntamente com os 50 mL de água deionizada, foi acrescentado o meio de cultura de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, previamente lavado como descrito anteriormente, na base de 5 mL por unidade experimental, o que corresponde a 10% v/v, conforme inoculação sugerida por JORDAN et al., (1995). Após a adição da água em todas as colunas, foi feita a coleta do lixiviado utilizando-se uma bomba de vácuo previamente adaptada para tal finalidade. As colunas foram mantidas em 50% de sua capacidade de campo, logo após cada coleta de lixiviado. A cada 10 dias foram repetidas as lixiviações com 50 mL de água deionizada.

O experimento foi constituído de 54 unidades dispostas em delineamento inteiramente casualizado. Foram utilizados oito materiais (solo, carvão, dolomito, filito, xisto, alcalina, ultrabásica e pirita) mais uma amostra controle (branco) contendo apenas quartzo, com três repetições para cada amostra, perfazendo um total de 27 unidades experimentais sem inoculação bacteriana e 27 com a inoculação de *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Os lixiviados coletados tiveram seus volumes avaliados por pesagem e foram submetidos à análise de acidez por titulação potenciométrica com NaOH 0,01 mol L<sup>-1</sup>. Determinou-se também o pH e os teores de S, As, Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn por leitura direta dos lixiviados em ICP-OES.

Com o intuito de se verificar a influência da bactéria em cada amostra, utilizou-se o teste "t" a 5% de significância, e para se avaliar a oxidação dos sulfetos entre as amostras utilizou-se o teste Tukey a 5% de significância.

### **3.7. AVALIAÇÃO DO PROCESSO OXIDATIVO PELO MÉTODO DAS EXTRAÇÕES SUCESSIVAS COM UTILIZAÇÃO DE UM OXIDANTE QUÍMICO**

Este método apresenta procedimentos simples e rápidos de serem seguidos em laboratório e foi conduzido de forma semelhante ao utilizado por ABRAHÃO (2002), tendo como objetivo simular o processo oxidativo. Com estes dados, procurou-se obter a correspondência entre o número de extrações e o tempo requerido no experimento de intemperismo simulado, em condições naturais de equilíbrio com a atmosfera.

Foi utilizado como oxidante químico,  $H_2O_2$  em quatro diferentes concentrações, as quais foram variáveis de acordo com a formação de cada material, no que diz respeito à gênese dos sulfetos (Quadro 5). Existem materiais onde se encontram piratas de mais fácil oxidação e outros em que estas são de mais difícil oxidação. Tal dificuldade de oxidação é freqüentemente atribuída à forma e tamanho dos sulfetos e a presença de carbonato nas amostras (ABRAHÃO, 2002).

Procurou-se combinar duas doses mais baixas com duas doses mais altas de  $H_2O_2$  com a finalidade de se observar todos os estágios de oxidação de cada material, do início ao fim. A partir daí, obteve-se uma concentração que representasse melhor os estádios iniciais, exponenciais e de estabilização da oxidação dos sulfetos em cada material.

Quadro 5. Concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> adicionadas nas diferentes amostras

Amostras	Concentração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
	..... mol L <sup>-1</sup> .....
Solo	0,163; 0,3263; 0,4895 e 0,6527
Carvão	0,163; 0,4895; 0,979; e 1,63
Dolomito	0,3263; 0,6527; 1,63; e 2,61
Filito	0,3263; 0,6527; 1,31 e 2,28
Xisto	0,3263; 0,6527; 1,63 e 2,61
Alcalina	0,3263; 0,6527; 1,63 e 2,61
Ultrabásica	0,3263; 0,6527; 1,63 e 2,61
Pirita	0,979; 1,63; 3,26 e 4,89

O presente experimento foi conduzido da seguinte maneira: pesaram-se em triplicata 2,000 g de cada uma das amostras (lavadas e moídas a 0,149 mm) em tubos de centrífuga de 50 mL, no caso da amostra padrão, foi pesado 0,140 g de pirita com 1,86 g de quartzo, compondo assim uma amostra de 7 dag kg<sup>-1</sup> de pirita. Posteriormente, acrescentaram-se 20 mL da solução oxidante nos tubos, os quais foram agitados horizontalmente (25 oscilações por minuto ) por 30 minutos e aquecidos, sem tampa, em banho-maria (75°C) por outros 30 minutos. Em seguida, cada tubo foi centrifugado por 5 minutos a 2500 rpm. O extrato foi coletado em frascos previamente tarados, avaliando-se o volume extraído por pesagem. Estes frascos foram tampados, guardados sob refrigeração, para, ao final de 10 extrações, serem submetidos às análises de acidez, por titulação potenciométrica com NaOH 0,01 mol L<sup>-1</sup>, pH e de S, As, Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn, por determinação direta em ICP-OES.

Com o intuito de se verificar a influência das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na oxidação dos sulfetos em cada amostra, utilizou-se Tukey com 5% de significância.

### 3.8. AVALIAÇÃO DO PROCESSO OXIDATIVO PELO MÉTODO DAS EXTRAÇÕES SUCESSIVAS COM OXIDAÇÃO BIOLÓGICA

Este experimento foi conduzido de forma semelhante ao anterior, a única diferença marcante é que foi utilizada um agente de oxidação biológica, que foi a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Como solução extratora, foi utilizado o meio nutritivo Clark (CLARK,1975), com suas concentrações alteradas, tendo como base as concentrações do meio "T & K", sendo esta solução livre de S e Fe com pH ajustado para 1,8 com HNO<sub>3</sub> (Quadro 6). A utilização deste meio nutritivo objetivou contornar problemas decorrentes de déficit nutricional para o crescimento bacteriano em algum material utilizado. Como fonte de S e Fe, a bactéria utilizou a pirita e outros sulfetos presentes nas amostras. Formulou-se uma solução estoque de 1 L da solução extratora (Quadro 6), do qual retirou-se uma alíquota que foi diluída 20 vezes, constituindo, assim, a solução extratora que foi acrescentada aos tubos.

Este experimento foi conduzido da seguinte forma: pesou-se em triplicata 0,5 g de cada uma das amostras (lavadas e moídas a 0,149 mm) mais 1,5 g de quartzo, de mesma granulometria, em tubos de centrífuga de 50 mL. No caso da amostra padrão, foi pesado 0,035 g de pirita com 1,965 g de quartzo, compondo assim uma amostra de 7 dag kg<sup>-1</sup> de pirita. Posteriormente, acrescentaram-se 20 mL da solução extratora, mais 2 mL do inóculo (previamente limpo) onde se encontravam as bactérias (10% v/v), conforme JORDAN et al. (1995). Os tubos foram mantidos em banho-maria a uma temperatura de 34°C e sob fluxo de ar. Foram feitas extrações de sete em sete dias. Em cada extração os tubos foram centrifugados por 5 minutos a 1000 rpm. Posteriormente, os extratos foram coletados em frascos previamente tarados para se ter um controle do volume extraído por pesagem. Logo após a extração, foi acrescentado, em cada tubo, mais 20 mL de solução nutritiva, para posteriores extrações. Os frascos com o volume extraído foram estocados, tampados e mantidos sob refrigeração, para, ao final de 11 extrações, serem submetidos à análise de acidez, por titulação potenciométrica com NaOH 0,01 mol L<sup>-1</sup>, pH e teores de S, As, Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn por determinação direta em ICP-OES.

Quadro 6. Formulação da solução estoque, a partir da qual se obteve a solução extratora

Nutriente / Fonte	Solução estoque (1 L)	Solução extratora (Diluição 1:20)
<b>Mg</b> / (Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O)	0,125 mol L <sup>-1</sup>	6,25 mmol L <sup>-1</sup>
<b>K</b> / (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	0,075 mol L <sup>-1</sup>	3,75 mmol L <sup>-1</sup>
<b>P</b> / (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	0,075 mol L <sup>-1</sup>	3,75 mmol L <sup>-1</sup>
<b>Ca</b> / (Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O)	0,05 mol L <sup>-1</sup>	2,5 mmol L <sup>-1</sup>
<b>Cl</b> / (MnCl .4H <sub>2</sub> O)	0,00028 mol L <sup>-1</sup>	14 µmol L <sup>-1</sup>
<b>Mn</b> / (MnCl .4H <sub>2</sub> O)	0,00028 mol L <sup>-1</sup>	14 µmol L <sup>-1</sup>
<b>B</b> / (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	0,00076 mol L <sup>-1</sup>	38 µmol L <sup>-1</sup>
<b>Zn</b> / (Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O)	0,0000792 mol L <sup>-1</sup>	3,96 µmol L <sup>-1</sup>
<b>Mo</b> / (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O)	3,44 µmol L <sup>-1</sup>	0,172 µmol L <sup>-1</sup>
<b>Cu</b> / (Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .3H <sub>2</sub> O)	20 µmol L <sup>-1</sup>	1 µmol L <sup>-1</sup>

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. INTEMPERISMO SIMULADO

#### 4.1.1. PRODUÇÃO DE SO<sub>4</sub>

Baseando-se na produção de sulfato acumulado como indicativo da oxidação dos sulfetos (Figura 2), verificou-se um aumento na taxa de oxidação na presença de *At. ferrooxidans* em relação ao tratamento sem bactéria. Isto revela a eficiência da oxidação bacteriana em todas as amostras utilizadas no presente trabalho.

Observou-se que, tanto no tratamento sem inoculação quanto no tratamento com inoculação, as amostras de substrato de carvão, ultrabásica e de solo tiomórfico apresentaram maior produção de sulfato. Isso pode ser explicado devido à presença de piritas de forma framboidal, pois como já foi mencionado (item 3.4.2), a reatividade das formas framboidais é maior devido a uma maior superfície exposta, o que estaria provocando maior oportunidade de interação destes sulfetos com o meio oxidante. Com relação às demais amostras, verificou-se menor taxa de oxidação devido à presença de piritas de forma cúbica, maciça e piritoedral, formas estas que são mais difíceis de serem oxidadas por apresentarem menor superfície exposta à ação do agente oxidante.

De acordo com teste Tukey feito entre as amostras, dentro de cada tratamento (Figura 2), observa-se haver menor variação na produção de sulfato no tratamento sem inoculação, comprovando assim que há especificidade da bactéria com relação às amostras. Tal especificidade é mais evidente para a amostra de filito, cujo valor de S-sulfato foi muito baixo, na ausência da bactéria, em relação às demais amostras. Por outro lado, na presença da bactéria há um incremento substancial na oxidação dos sulfetos.

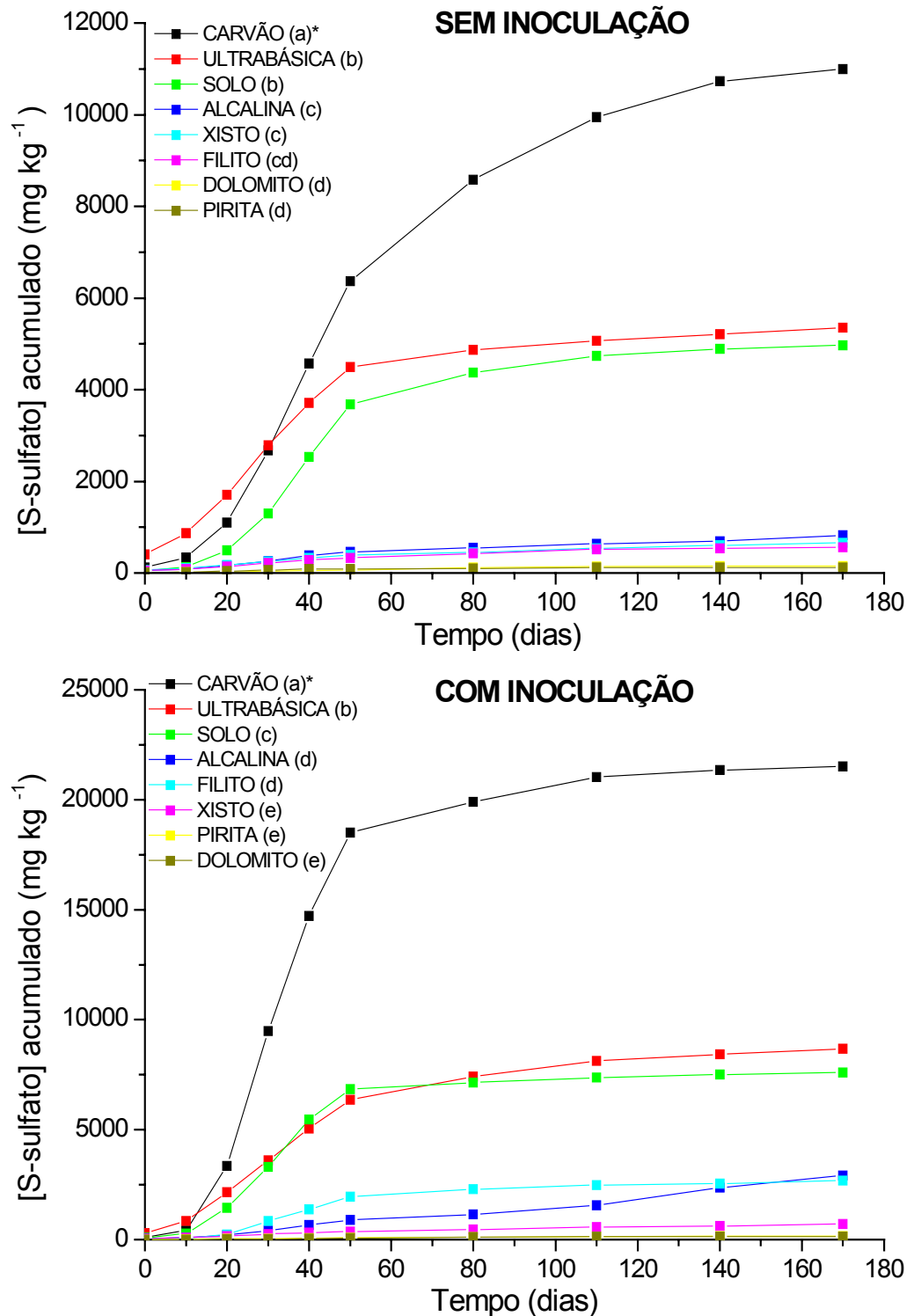


Figura 2 – Teor de S-sulfato produzido na oxidação de oito geomateriais com e sem a presença da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*. \*As médias das amostras seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste Tukey feito entre as médias de valores máximos acumulados de cada amostra.

Na figura 3 mostra-se a porcentagem de S-Sulfeto consumido, e verifica-se que não houve oxidação total dos sulfetos, mesmo na presença das bactérias. Somente as amostras de solo, carvão e ultrabásica apresentaram oxidação considerável na ausência da bactéria. As baixas taxas de oxidação podem ser atribuídas à presença de formas maciças de sulfetos, bem como ao maior tamanho dos cristais. Neste caso, o processo oxidativo deve se prolongar por longo período, porém sob baixa taxa oxidativa.

Nas amostras de dolomito e xisto, a baixa taxa de oxidação ocorreu devido à presença de carbonatos que tamponaram o pH em valores elevados, provavelmente por ter proporcionado a precipitação de óxidos de Fe imediatamente após a liberação do ferro na estrutura do sulfeto (EVANGÉLOU, 1995, ABRAHÃO, 2002 RIBEIRO et al 2004,), promovendo assim o fenômeno de microencapsulação dos sulfetos. No tratamento com bactéria, além do fenômeno da microencapsulação dos sulfetos, os valores elevados de pH vão inibir a atividade bacteriana (TORMA e BANHEGYI, 1977, DISPIRITO et al., 1981, KARAMANEV e NIKOLOV, 1988; AHONEN e TUOVINEN, 1989 e 1990).

A reduzida oxidação da amostra de pirita, que não chegou a 1% do total, pode ser atribuída à forma de cristalização maciça dos sulfetos.

Somente as amostras de solo tiomórfico, carvão, ultrabásica e filito apresentaram uma estabilização em suas taxas de oxidação. Devido a isso, vê-se a necessidade de um maior tempo de permanência dos materiais nas colunas para que se possa observar a estabilização das taxas de oxidação nas demais amostras.

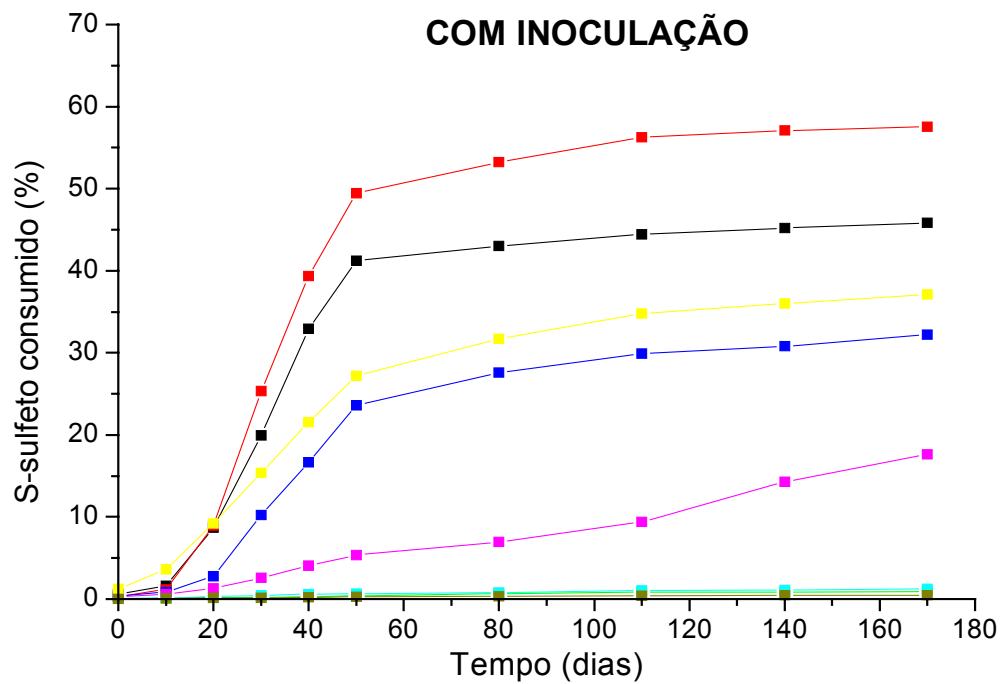
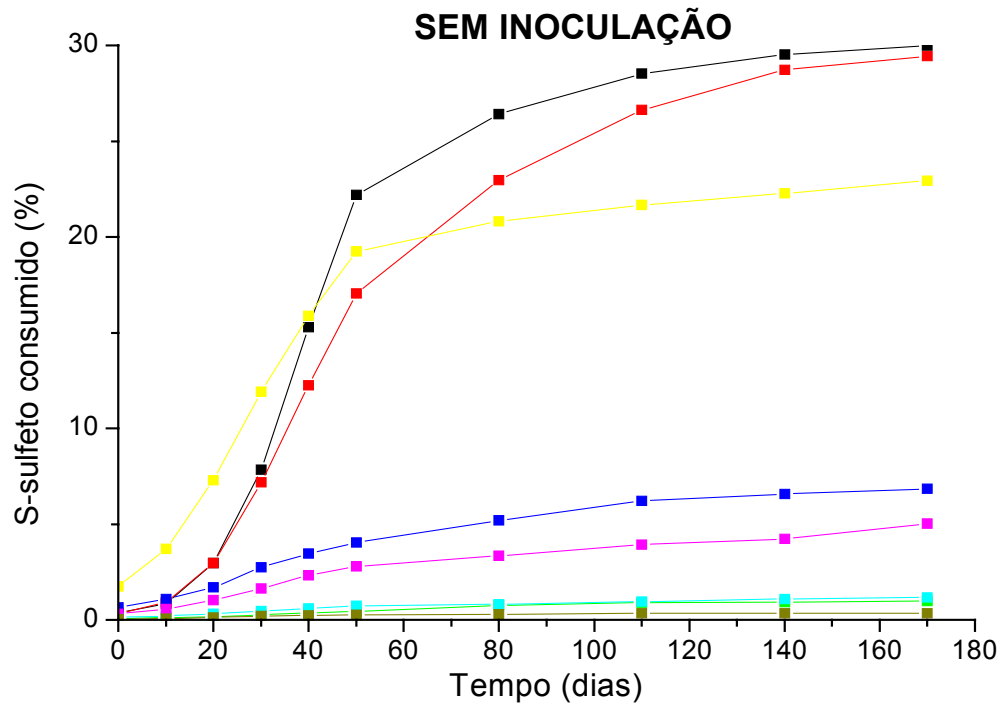


Figura 3 – Porcentagem de S-sulfato consumido na oxidação de oito geomateriais com e sem a presença da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*

A Figura 4 mostra separadamente o efeito da inoculação bacteriana em cada amostra. Observa-se que em todas as amostras há um incremento nos valores de S-sulfato acumulado devido à atividade da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, exceto na amostra de dolomito e xisto.

Um fato que chama a atenção é que na amostra de filito há uma grande diferença entre os tratamentos comparando-se com as demais amostras, tal diferença pode ser atribuída à variabilidade das formas de cristalização (Quadro 4) dos sulfetos presentes na amostra como também a especificidade da bactéria para com este material no que diz respeito as suas características químicas (Figura 4).

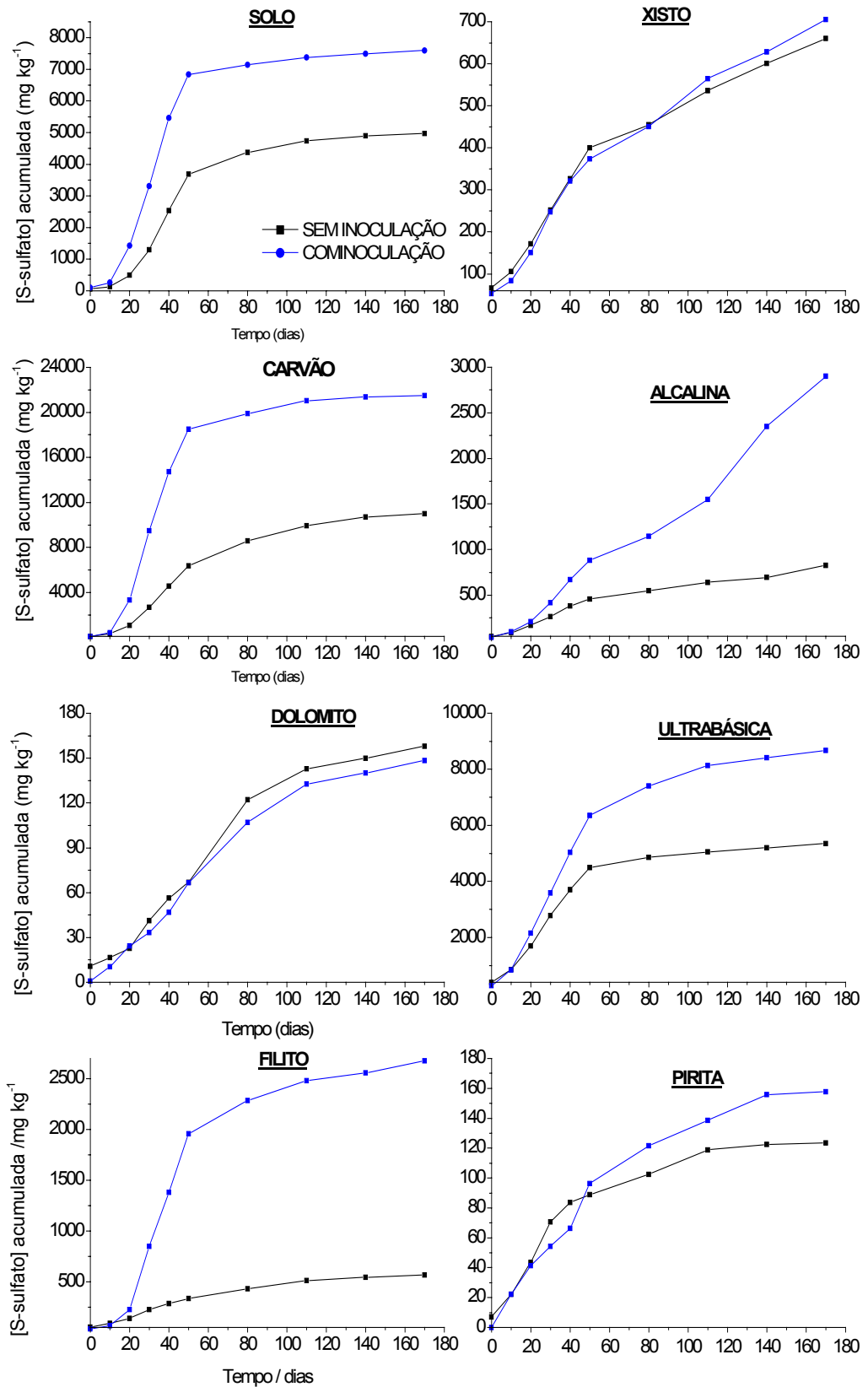


Figura 4 – Teores de S-sulfato produzidos na oxidação de oito geomateriais com e sem a presença da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

#### 4.1.2. PRODUÇÃO DE ACIDEZ

Os valores de acidez acumulada na solução lixiviada observada para os diferentes materiais estão apresentados na Figura 5. As curvas de acidez acumulada apresentam comportamento semelhante às de produção de S-sulfeto (Figura 2) para todas as amostras, com e sem a inoculação da bactéria.

Há maior produção de acidez nas amostras de solo e carvão nos dois tratamentos. No entanto, para a amostra ultrabásica que apresentou produção de sulfato semelhante à do solo tiomórfico (Figura 2), a acidez gerada não foi tão alta, possivelmente devido à presença de dolomita (Quadro 2). Neste caso, a presença de carbonatos deve ter neutralizado parcialmente a acidez gerada. As amostras de dolomito e xisto não apresentaram produção de acidez devido à presença de carbonatos em sua mineralogia, o que é indicado como uma acidez negativa, na Figura 6.

A inoculação bacteriana influenciou bastante na produção de acidez (Figura 6), principalmente nas amostras de filito e alcalina, que não apresentaram geração de acidez na ausência da bactéria. Com a inoculação houve geração, comprovando assim que a atividade bacteriana é significativa tanto na produção de sulfato quanto na produção de acidez (ERLICH, 1990). Não obstante, verificou-se alguma produção de sulfato para estas amostras na ausência da bactéria. Isto sugere que a geração de drenagem não ácida não pode ser atribuída exclusivamente à estabilidade dos sulfetos nas amostras de filito e alcalina. Possivelmente a mineralogia associada a estas rochas (Quadro 2) foi responsável pela neutralização da acidez gerada em consequência da oxidação dos sulfetos. No filito não se pode esperar contribuição do carbonato presente na neutralização da acidez, posto que a siderita não é considerada como neutralizante da acidez sob condições naturais.

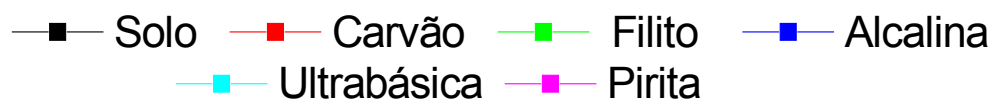
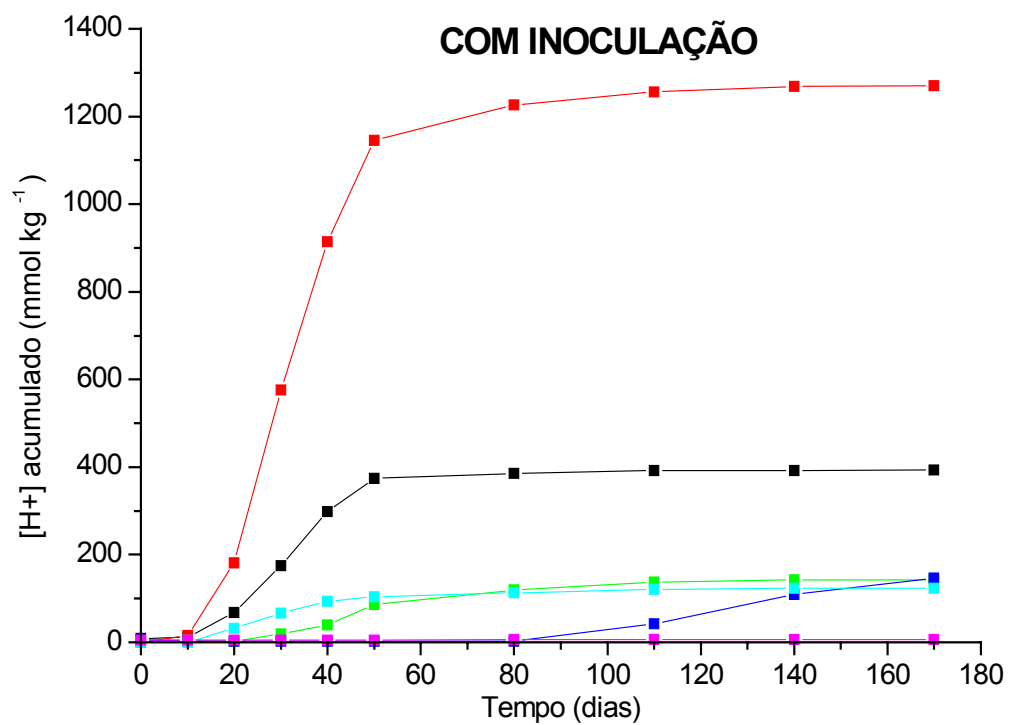
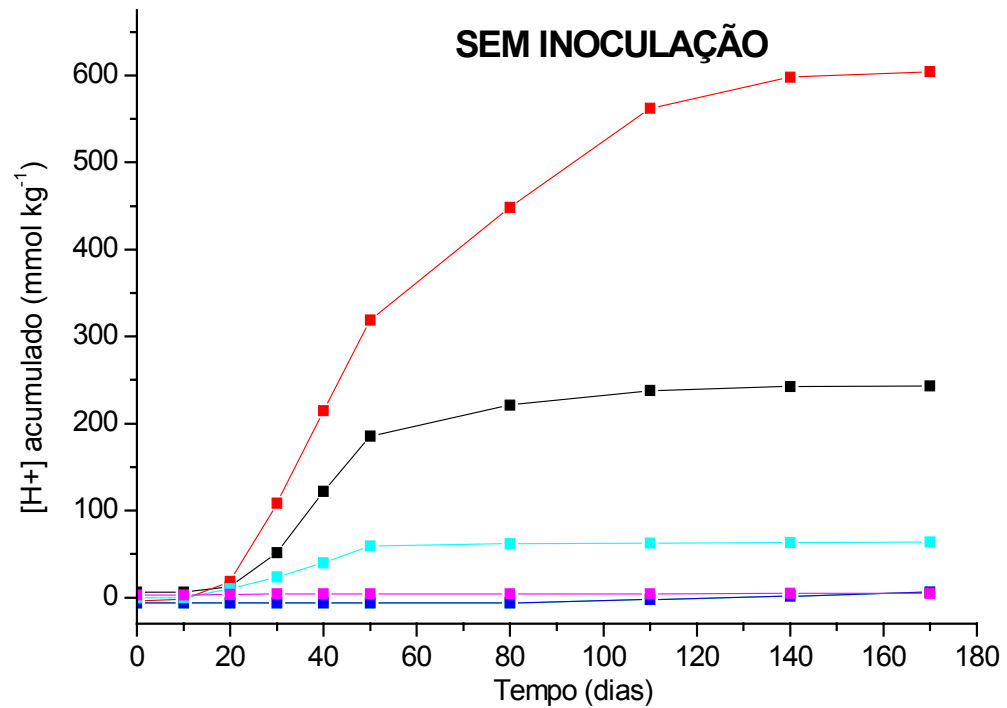


Figura 5 – Efeito dos diferentes materiais, na produção de acidez acumulada por oxidação de sulfetos com e sem a presença da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*

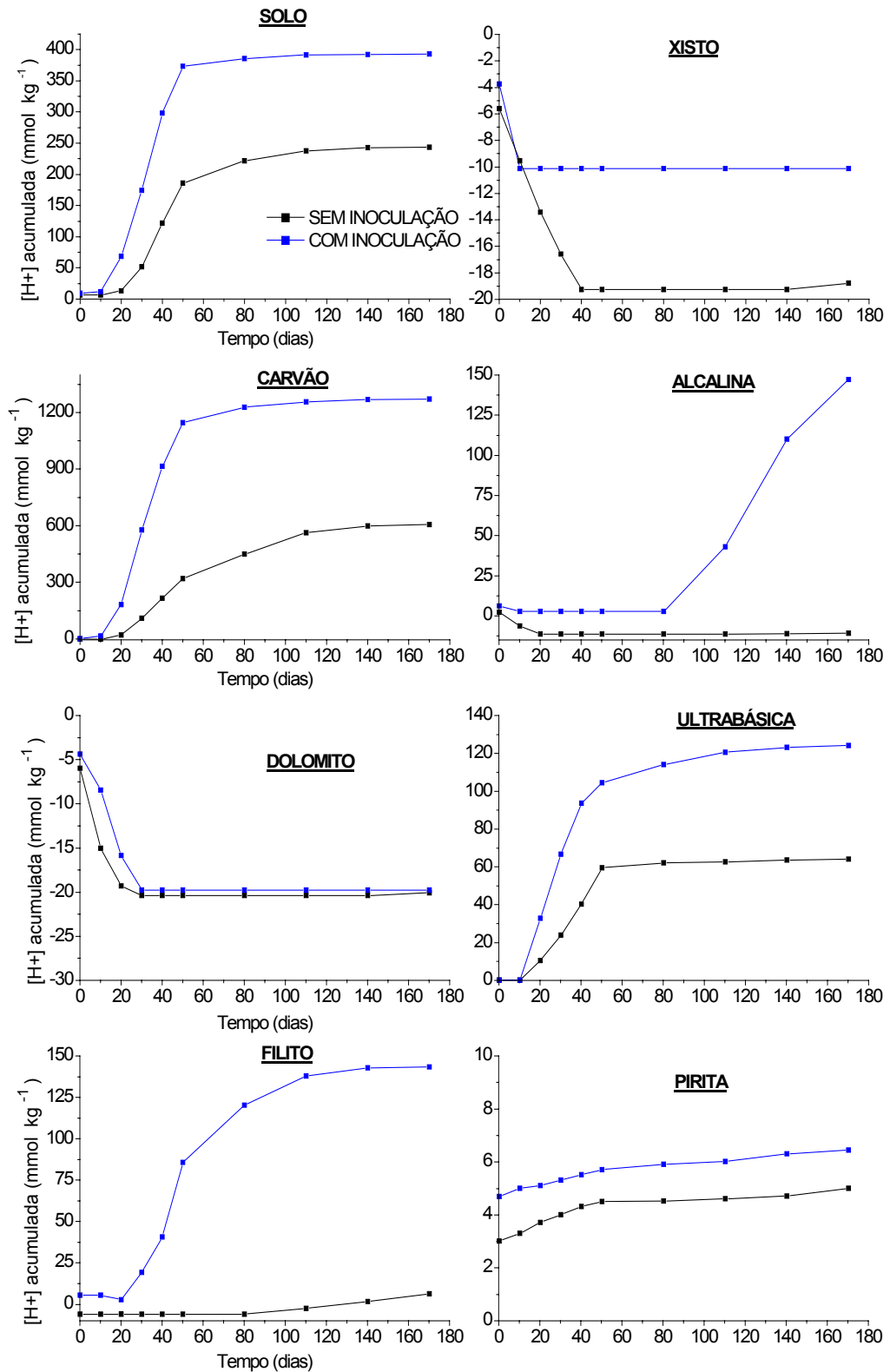


Figura 6 – Acidez acumulada a partir da oxidação de sulfetos com e sem a inoculação com *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Os valores negativos de acidez correspondem à concentração de íons OH<sup>-</sup>.

#### 4.1.3. LIBERAÇÃO DE METAIS PELA AÇÃO DA BACTÉRIA *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Os valores acumulados de todos os metais analisados (Figura 7) refletem o comportamento que foi observado para sulfato e acidez acumulados. Nos tratamentos com inoculação da bactéria os valores encontrados foram maiores, confirmando assim a grande influência da bactéria na oxidação de sulfetos e conseqüente liberação de metais (HADDADIN et al., 1995; HALLBERG e JOHNSON, 2001).

Na amostra de filito os valores encontrados para arsênio foram maiores que nas demais amostras, tanto na presença quanto na ausência da bactéria. Isto se deve à presença de arsenopirita na amostra, embora tal mineral não tenha sido confirmado pelos métodos utilizados na caracterização mineralógica da amostra. A ocorrência de arsenopirita nesta amostra está associada à oclusão de ouro que encontra-se em teores muito baixos, da ordem de  $0,0005 \text{ g kg}^{-1}$  (ZINI, et al., 1988). Foi observada também a presença de arsênio nas amostras de solo, carvão, dolomito, xisto, alcalina e a partir dos valores encontrados verificou-se que todas as amostras ultrapassaram o valor padrão para qualidade da água que é de  $0,033 \text{ mg L}^{-1}$ , nos dois tratamentos, conforme estabelecido pela resolução nº 357 do CONAMA (2005). As ocorrências de arsênio nas amostras de dolomito, xisto e rocha alcalina na ausência da bactéria revelam o efeito do pH na mobilidade deste metalóide, posto que justamente nestas amostras a produção de acidez foi negativa.

O cádmio (Figura 7) só foi detectado na amostra de carvão e sua concentração ultrapassou valor padrão para qualidade da água que é  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  (CONAMA, 2005).

O cobre aparece com teores acima do padrão para qualidade da água nas amostras de solo, carvão e ultrabásica, já com o níquel (Figura 15) as amostras de carvão e rocha ultrabásica apresentam valores acima dos padrões. A amostra ultrabásica apresenta valores muito elevados para estes dois metalóides, acompanhando os teores totais (Quadro 2), e de acordo com a mineralogia da amostra que apresenta calcopirita e pentlandita (Quadro 3).

O manganês (Figura 7) foi encontrado nas amostras de solo, carvão, filito, alcalina e ultrabásica, sendo que tais teores ultrapassaram o valor padrão

para qualidade da água ( $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) nas amostras de carvão e rocha ultrabásica.

Os teores de chumbo e zinco (Figura 7) encontrados ultrapassaram os valores padrões para qualidade da água que é de  $0,033 \text{ mg L}^{-1}$  para o chumbo e de  $5 \text{ mg L}^{-1}$  para o zinco, nas amostras de solo, carvão e ultrabásica para o chumbo e nas amostras de carvão e ultrabásica para o zinco. Vale ressaltar que embora a amostra de dolomito seja proveniente de um rejeito de mineração de chumbo e zinco, não foram encontrados valores acentuados destes metais, devido a se tratar de um rejeito de mineração no qual se destaca a eficiência do processo extrativo. A inibição da oxidação bacteriana dos sulfetos e limitações da mobilidade dos metais devido ao pH elevado do material, também podem ser considerados para explicar as baixas concentrações de metais nos lixiviados da amostra de dolomito.



Figura 7 – Concentração acumulada de As e metais pesados disponibilizados durante o intemperismo simulado com e sem a presença da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* em quatro diferentes geomateriais.

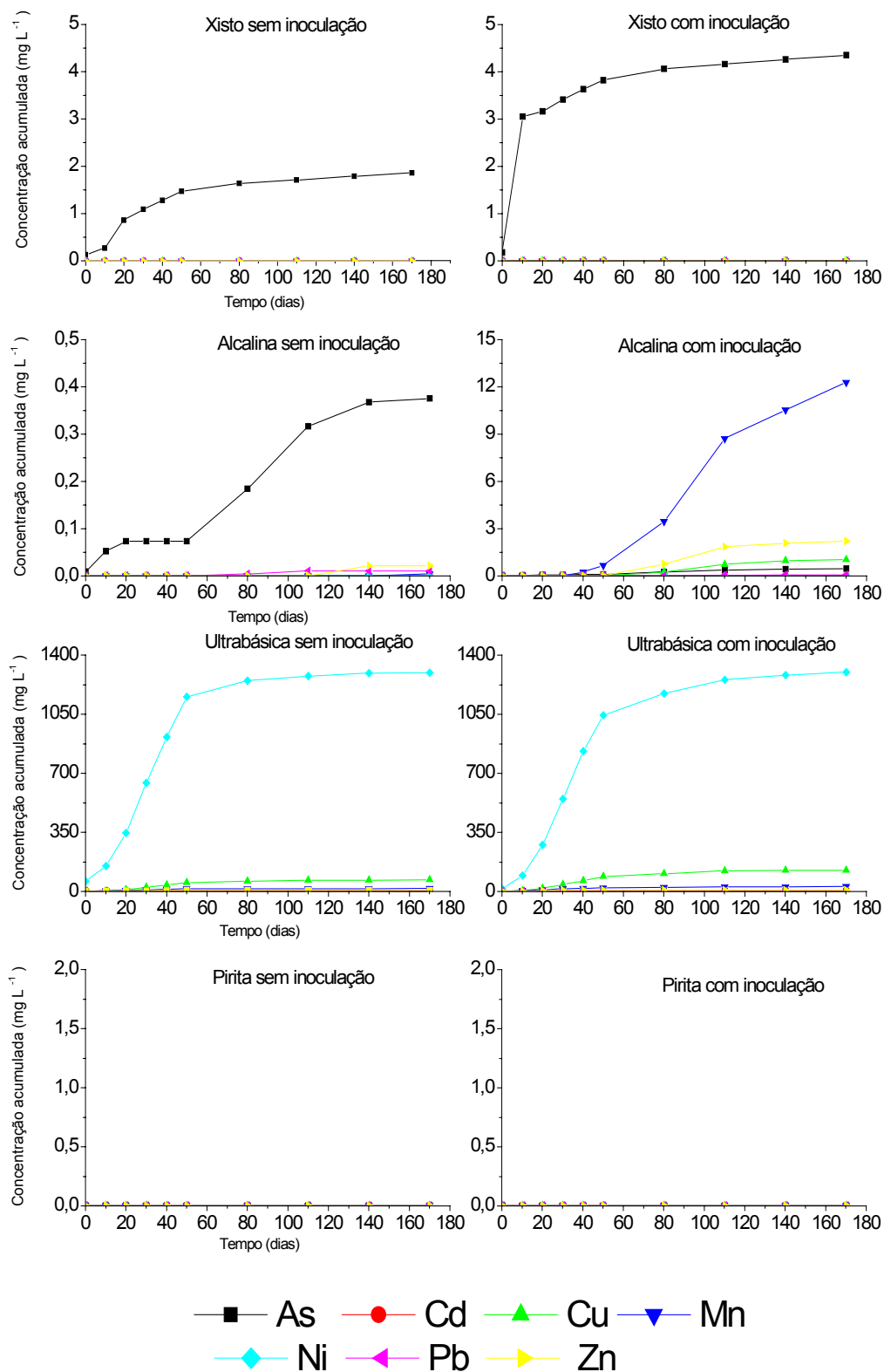


Figura 7 Concentração acumulada de As e metais pesados disponibilizados durante o intemperismo simulado com e sem a presença da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* em quatro diferentes geomateriais.

## 4.2. OXIDAÇÃO POR EXTRAÇÃO SUCESSIVA COM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

### 4.2.1. EFEITO DE DOSES DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> NA PRODUÇÃO DE SULFATO

A produção de S-sulfato aumentou de acordo com as doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para todas as amostras (Figura 8), com maior taxa de oxidação nas doses mais elevadas.

O teste Tukey, usado para comparação entre as médias de valores máximos acumulados de cada amostra, mostra que o efeito das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi significativo ( $p < 5\%$ ) para a maioria das amostras, exceto para as doses mais elevadas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na amostra de dolomito (Figura 8). Tal comportamento é explicado pela presença de carbonatos nesta amostra, fato este também observado no experimento de intemperismo simulado. A diferença não significativa nas doses mais elevadas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sugere a microencapsulação dos sulfetos a partir da precipitação de óxidos de ferro, imediatamente após a rápida liberação do Fe presente na estrutura do sulfeto, em condições de pH elevado. Este fato foi também observado por SETA e EVANGELOU (1996), na presença de um tampão da acidez e fosfato, e também por RIBEIRO JR et al. (2004) na presença de CaCO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Pode-se, portanto presumir que a rápida oxidação dos sulfetos, em presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, aliada a uma rápida precipitação de Fe em pH elevado, proporcionado pela presença de carbonatos, são condições determinantes para a microencapsulação da pirita.

Na outra amostra que apresenta carbonato (amostra de xisto), constatou-se que na dose mais concentrada de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2,61 molL<sup>-1</sup>) a produção de S-sulfato foi consideravelmente mais alta, em relação às demais doses. Supõe-se que esta dose mais elevada consegue diminuir a ação dos carbonatos, pois acelera a oxidação dos sulfetos a tal ponto que a velocidade de dissolução dos carbonatos não consegue acompanhar essa elevada taxa de oxidação. Isto é confirmado pela produção de acidez nesta amostra, conforme será discutido mais adiante.

Baseando-se na porcentagem de S-sulfeto consumido para avaliar o efeito das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na oxidação das amostras (Figura 9), observa-se que nenhuma das amostras foi totalmente oxidada, mesmo para doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mais elevadas. Somente nas amostras de solo, alcalina e pirita a oxidação dos sulfetos foi superior a 80 %. Isto pode ser atribuído às seguintes causas: (i) a

determinação do S-pirítico foi superestimada, (ii) presença de outros compostos oxidáveis que consumiram parte do  $H_2O_2$  (iii) as doses utilizadas não conseguiram oxidar totalmente os sulfetos, principalmente aqueles de forma maciça, havendo assim a necessidade de se aumentar a concentração destas doses para determinações futuras, (iv) parte do S-pirítico foi oxidada a  $S^0$  e não S-sulfato.

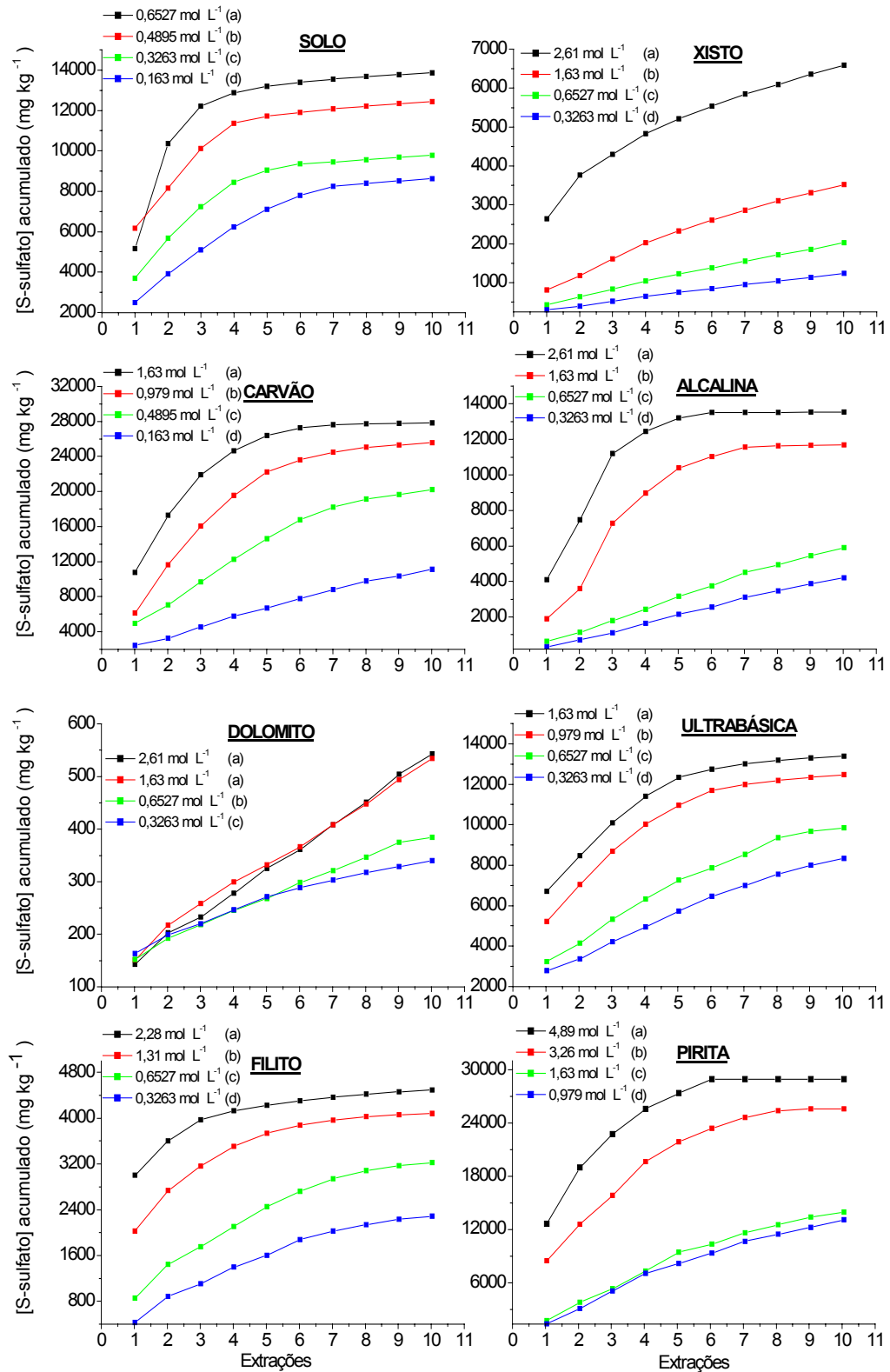


Figura 8 – Efeito das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na produção de S-sulfato em oito diferentes geomateriais. Letras iguais (a,b,c ou d) indicam igualdade estatística pelo teste Tukey a 5% de significância, entre os tratamentos com doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

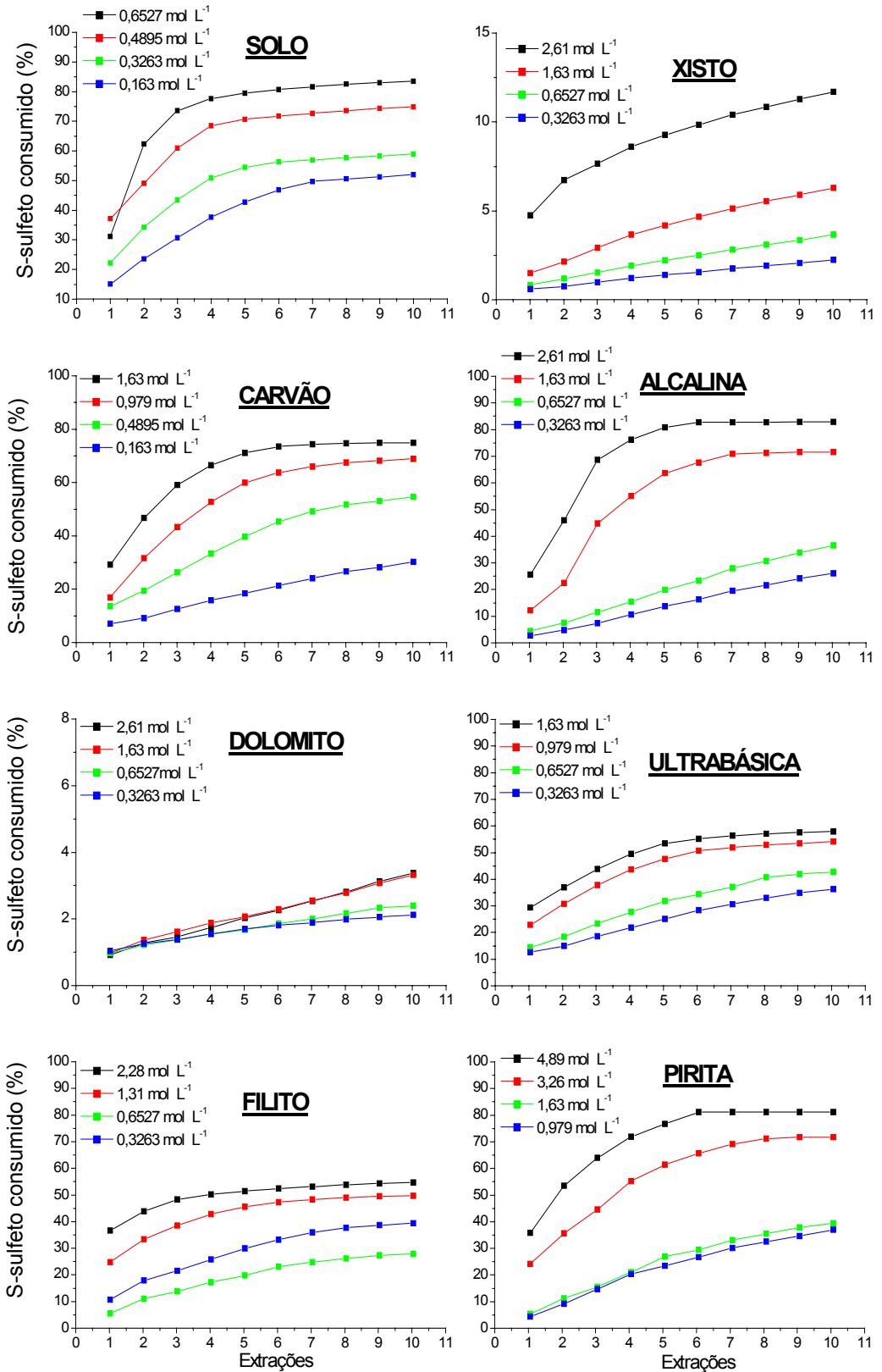


Figura 9 – Efeito das doses de  $H_2O_2$  na porcentagem de S-sulfato consumido em oito diferentes geomateriais.

#### 4.2.2. EFEITO DAS DOSES DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> NA PRODUÇÃO DE ACIDEZ

Os valores de acidez acumulada apresentam comportamento semelhante ao obtido para porcentagem de S-sulfeto consumido. Neste caso, houve maior produção de acidez nas doses mais elevadas H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Figura 10).

Na amostra de xisto verificou-se produção de acidez em todas as doses, embora em valores muito baixos. Isto comprova a eficiência das doses utilizadas, de modo que a cinética da oxidação dos sulfetos supera a ação dos carbonatos presentes com resultado líquido favorável à produção de drenagem ácida nesta amostra. O mesmo não foi observado na amostra de dolomito, pois a ação dos carbonatos em neutralizar a acidez produzida foi bastante efetiva para superar a cinética de oxidação dos sulfetos nas doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> utilizadas. Estes resultados antagônicos decorrem, provavelmente, da maior presença de carbonatos na amostra de dolomito. Tais observações também reforçam a hipótese postulada por MELLO e ABRAHÃO (1998), segundo a qual os valores do balanço ácido-base (BAB) subestimam a geração de drenagem ácida para amostras com baixos valores de PN, em razão da lenta dissolução dos carbonatos face à rápida oxidação dos sulfetos.

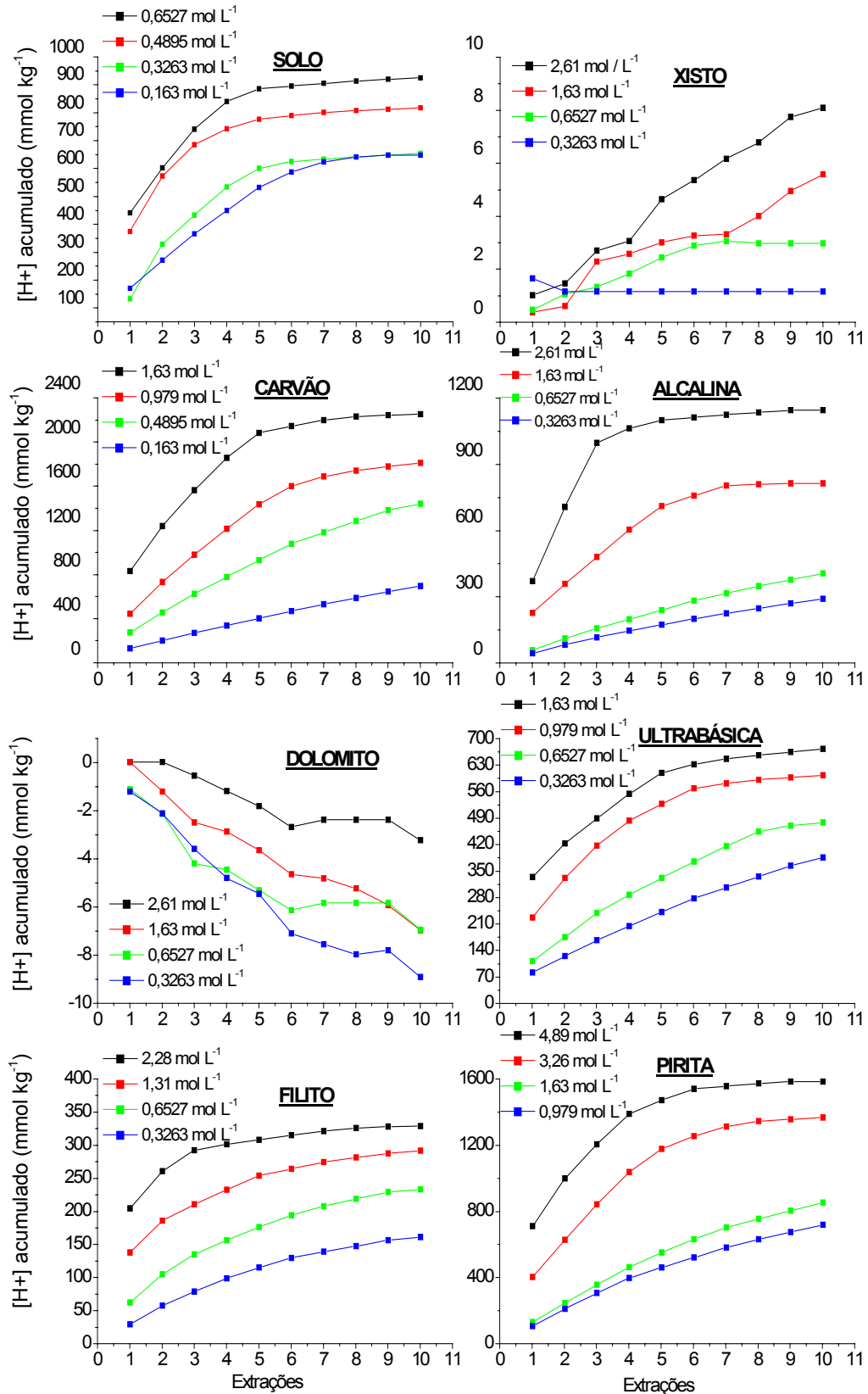


Figura 10 – Efeito das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na produção de acidez em oito diferentes geomateriais.

### 4.3. OXIDAÇÃO BACTERIANA EM EXTRAÇÕES SUCESSIVAS

#### 4.3.1. PRODUÇÃO DE SULFATO

Os teores de S-sulfato produzido por oxidação biológica das diferentes amostras são apresentados na figura 11. De modo geral, o formato das curvas se assemelha àquele de crescimento bacteriano. Isto sugere que foram propiciadas condições favoráveis ao desenvolvimento e reprodução destes microrganismos durante o período experimental de 11 extrações sucessivas por 77 dias.

A figura 12 permite comparar os dois experimentos em que a bactéria *At. ferrooxidans* foi utilizada como agente oxidante (extrações sucessivas e intemperismo simulado). Verifica-se que os valores de S-Sulfato acumulado por extrações sucessivas foram superiores às obtidas no experimento de intemperismo simulado. Este aumento pode ser atribuído ao fato de que nas extrações sucessivas as condições ideais para que a bactéria atue foram reproduzidas, condições tais como: pH, temperatura, aeração constante e fornecimento de vários nutrientes através de uma solução nutritiva. Portanto, constatou-se que há uma influência tanto das características ambientais (temperatura, aeração) quanto das características das amostras (pH e nutrientes) na atividade bacteriana. Um exemplo que comprova bem esta afirmação foi a amostra de pirita, pois esta amostra possui fundamentalmente S e Fe em sua composição (Quadro 2). No experimento de intemperismo simulado menos de 1 % desta amostra foi oxidada, já no experimento de extrações sucessivas, em que houve adição de nutrientes, quase 7 % da amostra foi oxidada em menor tempo (apenas 77 dias) (Figura 13).

Observou-se de forma prática a influência do pH na atividade bacteriana principalmente nas amostras de dolomito e xisto, pois estas amostras apresentam carbonatos (Quadro 3). Em pH básico (experimento de intemperismo simulado), a taxa de oxidação dos sulfetos não chegou a 2 % do S-sulfeto total (Figura 13). No entanto, quando se adiciona um extrator em que seu pH já está na faixa de 1,7, como foi feito no experimento das extrações sucessivas com oxidação biológica, a taxa de oxidação chega a quase 5 % (Figura 13).

Não foi quantificada a produção de acidez devido à presença de acidez no extrator (meio de cultura), portanto os valores de acidez estariam obviamente superestimados.

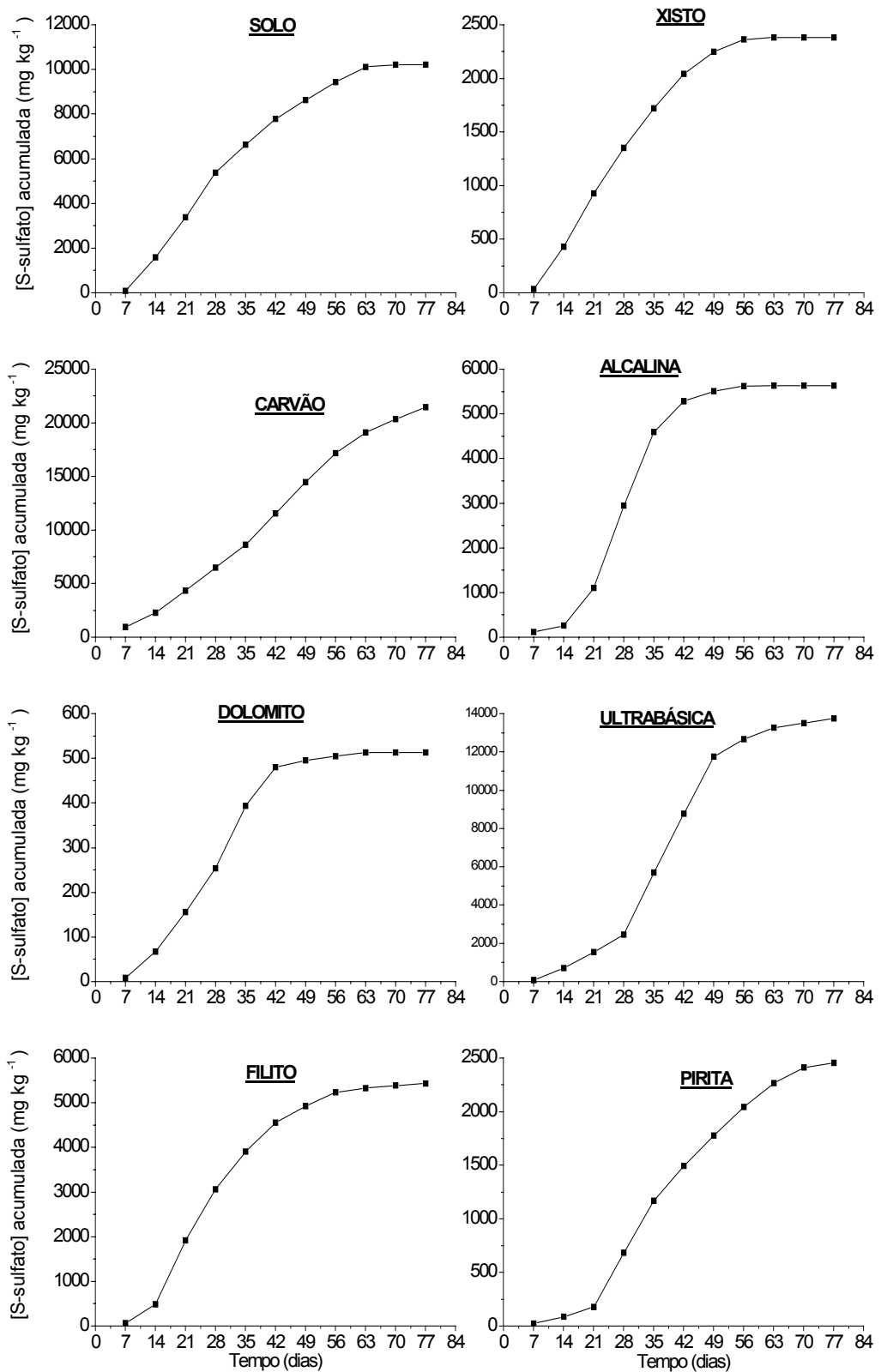


Figura 11 – Produção de S-sulfato em função do tempo de incubação em oito diferentes geomateriais na presença de bactérias *A. ferrooxidans*.

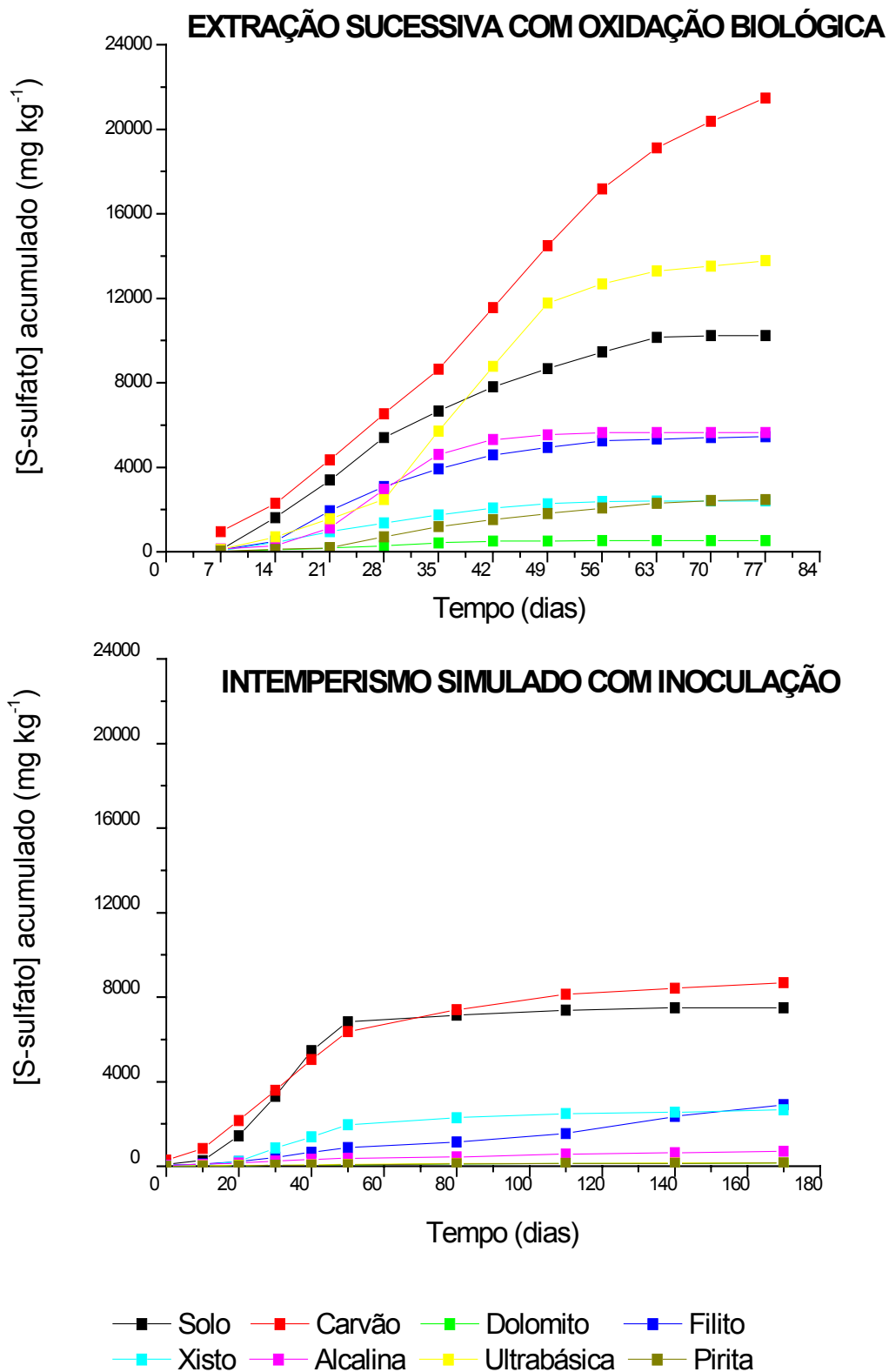


Figura 12 – Concentração de sulfato acumulado nas soluções lixiviadas dos experimentos de extração sucessiva e intemperismo simulado com inoculação de *At. ferrooxidans*

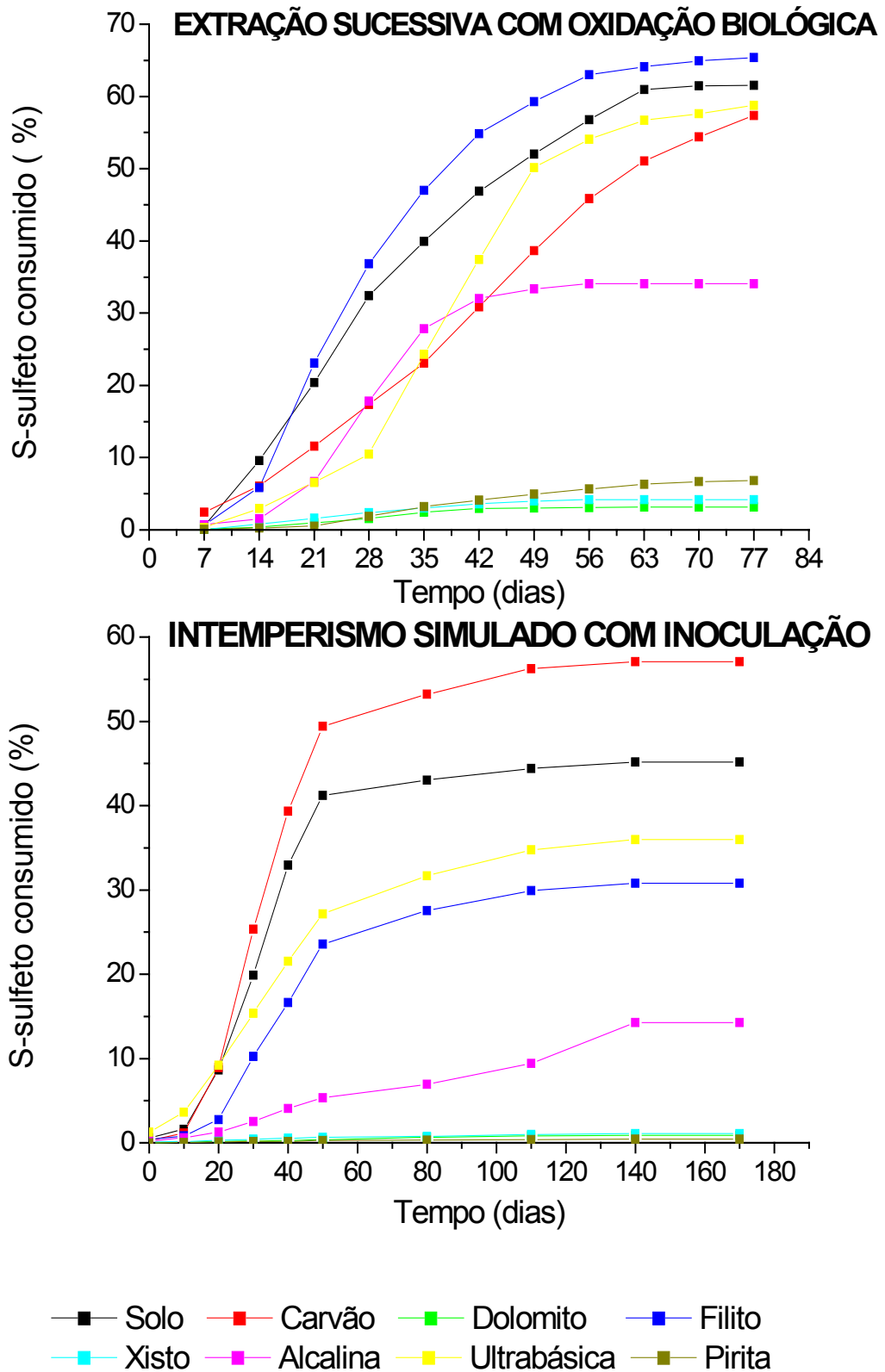


Figura 13 – Porcentagem de sulfato consumido nas soluções lixiviadas dos experimentos de extração sucessiva e intemperismo simulado com inoculação de *At. ferrooxidans*

#### **4.4. PREVISÃO DO INTEMPERISMO SIMULADO COM BASE NAS EXTRAÇÕES SUCESSIVAS.**

A Figura 14 mostra as curvas de regressão dos três ensaios feitos neste trabalho. Procurou-se encontrar a concentração de  $H_2O_2$  que melhor representasse a oxidação dos sulfetos em cada amostra.

Em todos os ensaios o modelo de Boltzmann melhor se ajustou às curvas de regressão para simular a correspondência entre o número de extrações nos ensaios de extrações sucessivas e tempos de oxidação no experimento de intemperismo simulado com inoculação bacteriana.

Observa-se que somente três amostras (solo, carvão e ultrabásica) apresentaram estabilização da produção de sulfato nos testes de intemperismo simulado, sugerindo a conclusão do processo oxidativo. No caso das demais amostras, há a necessidade de se ter um maior tempo para que estas atinjam o mesmo estágio de oxidação.

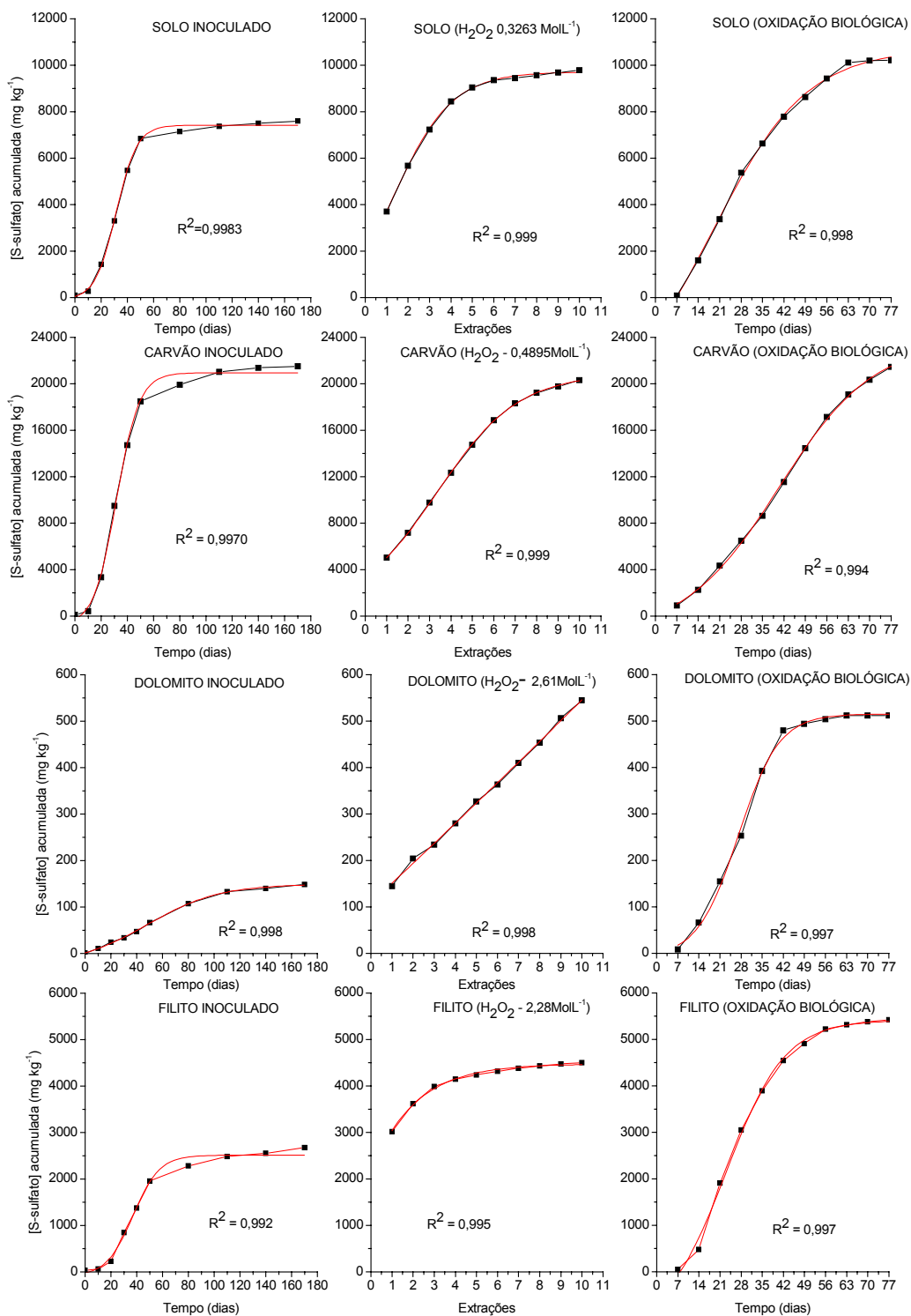


Figura 14 – Concentração de sulfato acumulado e respectivas curvas de regressão para os ensaios de intemperismo simulado, extrações sucessivas com a utilização de um oxidante químico (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e um oxidante biológico (a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*).

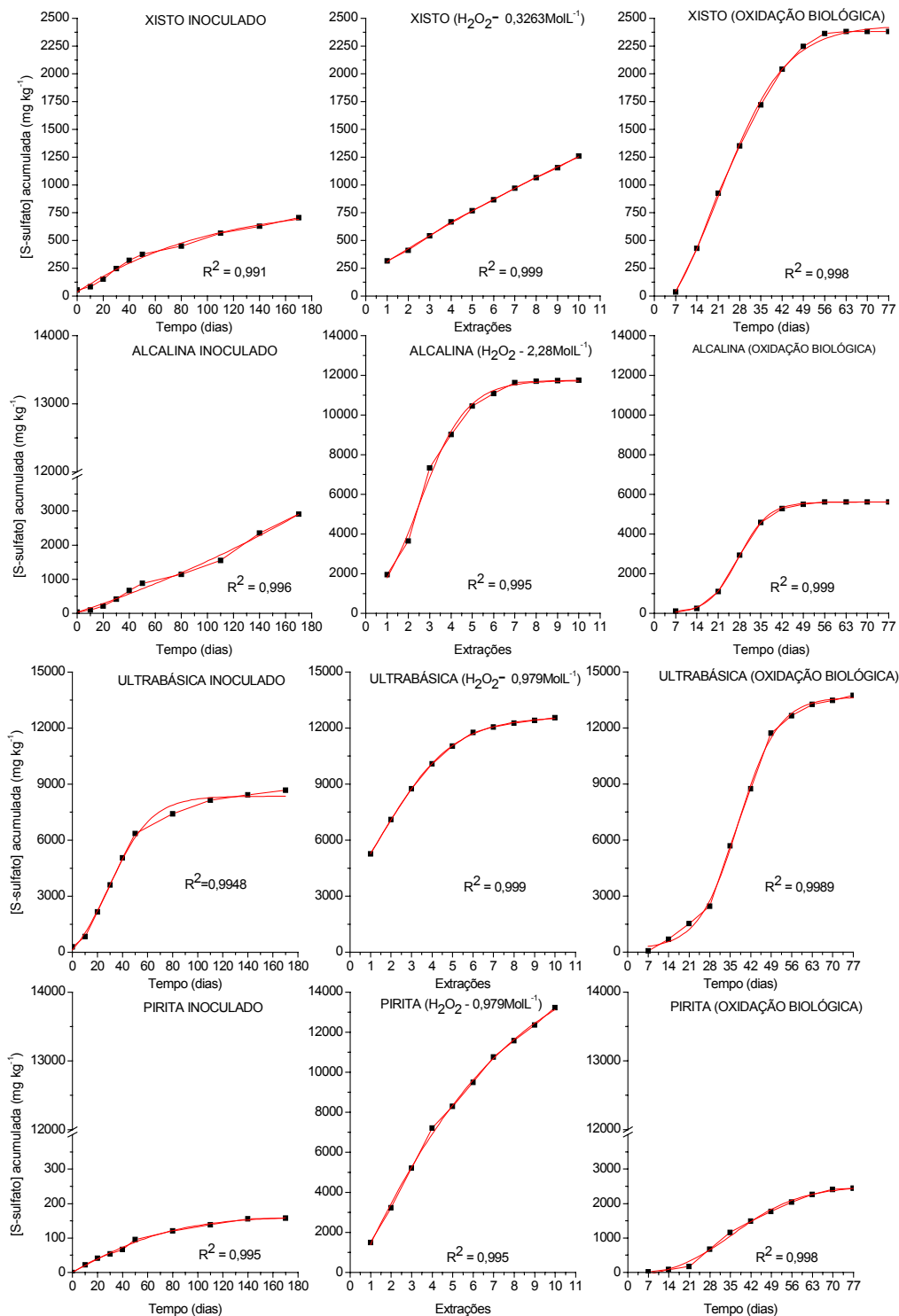


Figura 14 – Concentração de sulfato acumulado e respectivas curvas de regressão para os ensaios de intemperismo simulado, extrações sucessivas com a utilização de um oxidante químico ( $H_2O_2$ ) e um oxidante biológico (a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*).

Quadro 7: Equações de regressão para os ensaios de intemperismo simulado, extrações sucessivas com a utilização de um oxidante químico (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e um oxidante biológico (a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*), para os diferentes geomateriais utilizados neste trabalho

Amostras	Equações de Regressão		
	Inoculação Bacteriana	Oxidação Química com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Oxidação Biológica
Solo	$Y = 7419,49 + (-98,46 - 7419,49) / 1 + e^{(x-31,41)/7,97}$	$Y = 8768,4 + (-1095 - 8768,4) / 1 + e^{(x-2)/1,85}$	$Y = 10699 + (-4873 - 10699) / 1 + e^{(x-18,9)/15,36}$
Carvão	$Y = 20951,93 + (-861,42 - 20951,93) / 1 + e^{(x-31,67)/8,69}$	$Y = 20874,8 + (392,11 - 20874,8) / 1 + e^{(x-3,34)/1,91}$	$Y = 23720,24 + (-1615,81 - 23720,24) / 1 + e^{(x-40,34)/15,57}$
Dolosito	$Y = 149,04 + (-2843,1 - 149,04) / 1 + e^{(x-48,32)/27,72}$	$Y = 6613,9 + (-2843,1 - 6613,9) / 1 + e^{(x-38,06)/48,2}$	$Y = 515,54 + (-24,42 - 515,54) / 1 + e^{(x-27,07)/6,78}$
Filito	$Y = 5418,7 + (-1110,1 - 5418,7) / 1 + e^{(x-23,08)/9,73}$	$Y = 4480,3 + (-37605 - 4480,3) / 1 + e^{(x-5,6)/1,97}$	$Y = 5418,7 + (-1110,1 - 5418,7) / 1 + e^{(x-23,08)/9,73}$
Xisto	$Y = 818,33 + (-4707,4 - 818,33) / 1 + e^{(x-157,63)/87,48}$	$Y = 2923,7 + (-6272 - 2923,7) / 1 + e^{(x-13,251)/15,45}$	$Y = 2435,3 + (-587,09 - 2435,3) / 1 + e^{(x-21,44)/10,85}$
Alcalina	$Y = 34129 + (-3293 - 34129) / 1 + e^{(x-557)/239,2}$	$Y = 11735 + (-672,53 - 11735) / 1 + e^{(x-2,52)/1,09}$	$Y = 5610,3 + (-16,97 - 5610,3) / 1 + e^{(x-27,64)/4,86}$
Ultrabásica	$Y = 8355,14 + (-1369,64 - 8355,14) / 1 + e^{(x-29,15)/17,14}$	$Y = 12615,73 + (-171,78 - 12615,73) / 1 + e^{(x-1,521)/1,75}$	$Y = 13663,7642 + (168,99 - 13663) / 1 + e^{(x-37,81)/6,81}$
Pirita	$Y = 164,22 + (-164,49 - 164,22) / 1 + e^{(x-0,56)/42,16}$	$Y = 16766 + (-43506 - 16766) / 1 + e^{(x-4,76)/5,37}$	$Y = 2512,2 + (-249,93 - 2512,2) / 1 + e^{(x-36,22)/11,43}$

A partir dos dados obtidos desenvolveu-se uma equação preditiva da drenagem ácida. Igualando-se as equações de regressão (Quadro 7) do ensaio de intemperismo simulado (tratamento com inoculação bacteriana) com as equações de regressão dos ensaios de extração sucessiva (oxidação bacteriana e com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e, a partir daí, obteve-se a equação preditiva que relaciona o número de dias de intemperismo simulado (y) com o número de extrações (x).

$$y = \ln e^c + \ln \left[ \frac{-f.e^{x/h} + a.e^{g/h} + a.e^{x/h} - e.e^{g/h}}{b.e^{g/h} + b.e^{x/h} - f.e^{x/h} - e.e^{g/h}} \right] d$$

Os valores dos coeficientes modificam-se de acordo com extrator e a amostra (Quadros 8 e 9).

Quadro 8: Valor dos coeficientes da equação preditiva para o ensaio em que se utilizou H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como agente oxidante

Coeficientes	Solo	Carvão	Dolomito	Filito	Xisto	Alcalina	Ultrabásica	Pirita
<b>a</b>	-1524	392,11	-2843,1	-37605	-6272	-672,53	-171,78	-43506
<b>b</b>	9713,9	20874,79	6613,9	4480,3	2923,7	7401,6	12615,73	16766
<b>c</b>	1,19	3,34	38,06	-5,59	-13,25	4,58	1,520	-4,76
<b>d</b>	1,39	1,91	48,17	1,97	15,45	3,29	1,75	5,37
<b>e</b>	98,46	-861,42	-24,424	-91,109	-4707	-3293	-1369,74	-164,49
<b>f</b>	7419,5	20951,94	149,04	2515,7	818,33	34129	8353,14	164,22
<b>g</b>	31,417	31,672	48,32	37,08	157,63	556,99	29,1455	-0,57
<b>h</b>	7,975	8,6949	27,72	10,28	87,48	239,2	17,1359	42,16

Quadro 9: Valor dos coeficientes da equação preditiva para o ensaio em que se utilizou oxidação biológica

Coeficientes	Solo	Carvão	Dolomito	Filito	Xisto	Alcalina	Ultrabásica	Pirita
<b>a</b>	-4874,64	-1615,81	-8,26	-1110,1	-587,09	-16,96	168,99	-249,93
<b>b</b>	10700	23720,24	515,54	5418,7	2435,3	561,03	13663,76	2512,2
<b>c</b>	18,905	40,341	27,07	23,08	21,45	27,64	37,8099	36,22
<b>d</b>	15,35	15,568	6,78	9,73	10,86	4,86	6,8132	11,44
<b>e</b>	98,46	-861,42	-24,424	-91,109	-4707	-3293	-1369,74	-164,49
<b>f</b>	7419,5	20951,94	149,04	2515,7	818,33	34129	8353,14	164,22
<b>g</b>	31,417	31,672	48,32	37,08	157,63	556,99	29,1455	-0,57
<b>h</b>	7,975	8,6949	27,72	10,28	87,48	239,2	17,1359	42,16

A Figura 15 mostra a correspondência entre o tempo de intemperismo simulado no tratamento com inoculação bacteriana e o número de extrações, com um oxidante químico. Observa-se que as amostras com maior taxa de oxidação no intemperismo simulado requerem maior número de extrações sucessivas para se estimar um menor período de tempo. No caso da amostra de xisto que no intemperismo simulado apresentou baixa taxa de oxidação, a concentração de  $H_2O_2$  utilizada conseguiu oxidar com eficácia os sulfetos presentes.

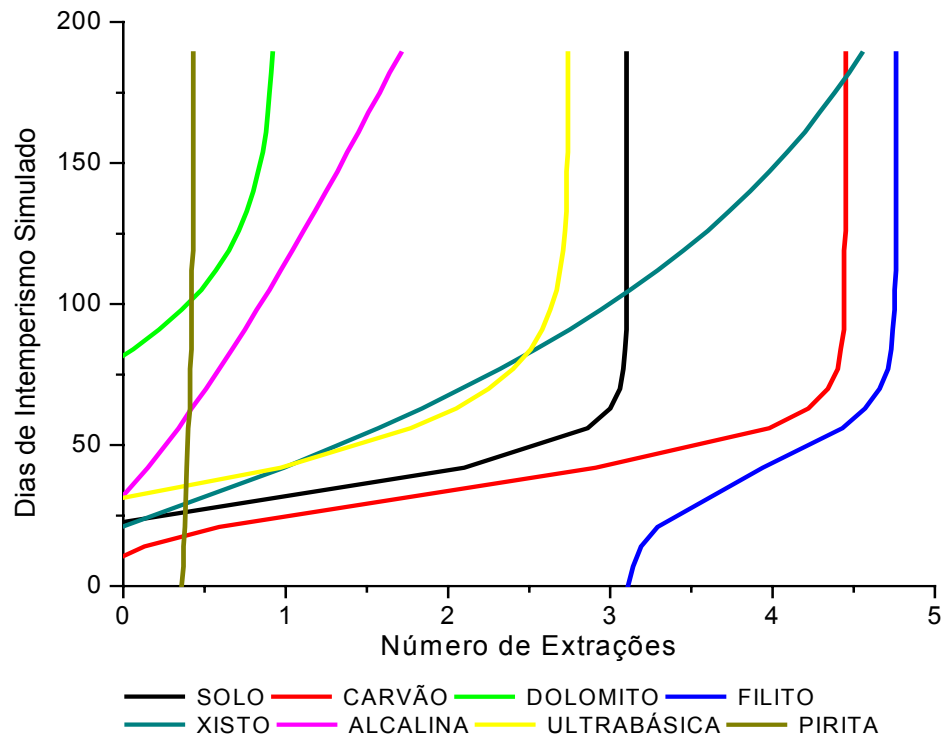


Figura 15 – Dias de intemperismo simulado em função do número de extrações com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para obtenção de mesmo teor de sulfato

A Figura 16 mostra a correspondência entre o tempo de intemperismo simulado e o número de extrações, com a utilização de um oxidante biológico. Verifica-se o mesmo comportamento observado na figura anterior, em que, as amostras com maior taxa de oxidação no intemperismo simulado requerem um maior número de extrações sucessivas para se estimar um período de tempo (excluindo-se a amostra de xisto), fato este também observado por ABRAHÃO, 2002, para estas mesmas amostras.

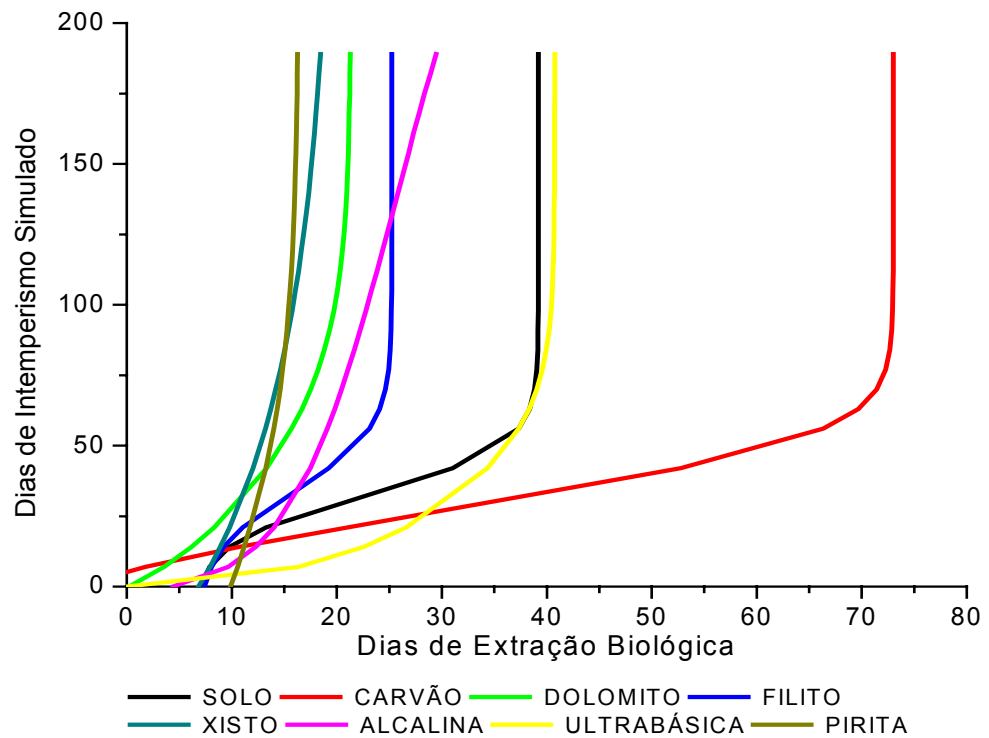


Figura 16 – Dias de intemperismo simulado em função do número de extrações com oxidação biológica para obtenção de mesmo teor de sulfato

Em geral, observa-se que ambos os métodos conseguem prever a drenagem ácida. No entanto, o método de oxidação química é o mais indicado devido à facilidade de condução e rapidez em se obter os resultados, comparando-se com o método de oxidação biológica.

## 5. CONCLUSÕES

A forma e o tamanho dos cristais de pirita influenciaram tanto na oxidação química, com diferentes doses de  $H_2O_2$ , quanto na oxidação biológica promovida pela bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* nos materiais avaliados.

Houve maior taxa de oxidação no experimento de extrações sucessivas por oxidante biológico em que as condições ideais de meio e ambiente para *Acidithiobacillus ferrooxidans* foram reproduzidas.

A atividade bacteriana não foi efetiva nos materiais com Balanço Ácido Base negativo, revelando-se a influência negativa do pH na atividade de *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Foi observado que nas amostras de filito e alcalina, a inoculação bacteriana promoveu uma oxidação considerável comparando-se com as demais amostras.

As doses mais elevadas de  $H_2O_2$  promoveram a geração de drenagem ácida, superando a ação dos carbonatos presentes na amostra de xisto.

Somente as amostras de solo tiomórfico, carvão e ultrabásica apresentaram elevadas taxas de oxidação dos sulfetos para o experimento de intemperismo simulado. Tal fato se deve à presença de piritas de mais fácil oxidação nestas amostras. Nas demais amostras há a necessidade de um maior tempo para atingir a estabilização das taxas de oxidação.

Ambos os métodos de oxidação utilizados no presente trabalho (oxidação química e biológica) conseguem prever a drenagem ácida nas amostras utilizadas neste presente trabalho. Entretanto a oxidação química é indicada devido a sua facilidade de condução e ao pouco tempo necessário para se obter os resultados.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHÃO, W.A.P. Aspectos químicos e mineralógicos relacionados à geração experimental de drenagem ácida em diferentes geomateriais sulfetados. Viçosa, MG: UFV, 2002. 125p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal De Viçosa, 2002.
- AHONEN, L; TUOVINEN, O.H. Temperature effects on the microbiological leaching complex sulfide ore material in percolators containing chalcopyrite, sphalerite, pentlandite, e pyrrhotite as main minerals. *Biotechnol.Lett.*v.11 p. 331-336 1989.
- AHONEN, L; TUOVINEN, O.H. Kinetics of sulfur oxidation at suboptimal temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* v.56, p.560-562, 1990.
- BRIERLEY, J.A; BRIERLEY, C.L. Microbial Mining Using Thermophilic Microorganisms. In: *Thermophiles: General, Molecular, And Applied Microbiology* (Brock, T.D., Ed.). John Wiley & Sons, Inc., New York, p. 279-305, 1986.
- BRUINS, M.R.; KAPIL, S. 7 OEHME, F.W. Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicol Environ Saf* 45, p198-207, 2000.
- BROCK, T.D; SMITH, D.W; MADIGAN, M.T. The microbe in its environment: biology of microorganisms. 4<sup>th</sup> Edition. Prentice-Hall. Englewood Cliffs, Nj, p.239-269, 1984.
- CLARK, R.B. Characterization of phosphates in intact maize roots. *J. Agric. Food Chem.*, 23:458-60, 1975.
- COLMER, A.R.; TEMPLE, K.I ; HINKLE, H.F. An iron-oxidizing bacterium from the acid drainage of some bituminous coal mines. *J. Bacteriol.* 59, p.317-328, 1950.
- CARUCCIO, F.T.; GEIDEL,G. Acid Mine Drainage: The Laboratory And Fields Settings. Knoxville: American Society For Surface Mining And Reclamation, 58p. 1996.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução nº 357 que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e outras providências. Brasília, 23p. 2005.
- CORRÊA, M.L.T. Métodos de análise e cinética de oxidação de sulfetos em amostras de rochas e sedimentos. Viçosa, MG: UFV, 2000. 123p.Tese (Mestrado Em Solos E Nutrição De Plantas) - Universidade Federal De Viçosa, 2000.

- COSTA, L.M DA; ABRAHÃO, W.A.P. Compactação e adensamento de solos relacionados às propriedades químicas, físicas e sedimentológicas. In: Congresso Brasileiro De Ciência Do Solo, 25, 1996, Viçosa. Viçosa: UFV, DPS, SBCS, P. 429-443. 1996.
- CYBIS, L.F. Dessulfurização microbiana de carvões e rejeitos. Dissertação de Mestrado, IPH/UFRGS, 130 p. 1987.
- DAS. A., MISHRA, A.K. AND ROY. P. Anaerobic growth on elemental sulfur using dissimilar iron reduction by autotrophic Thiobacillus ferrooxidans. FEMS Microbiol. Lett. 97. 167-172, 1992.
- DE LUCA, S.J. Biolixiviação De Carvão Antracitoso. Relatório De Pesquisa - cnpq, 1992.
- DISPIRITO, A.A; DUGAN, P.R; TUOVINEN, O.H. Inhibitory effect of particulate materials in growing cultures of Thiobacillus ferrooxidans. Biotechnol. Bioeng. v.23, p.2761-2769. 1981.
- DOPSON, M; BAKER-AUSTIN, P; KOPPINEEDI, R; BOND, P.L. Growth in sulfidic mineral environments: metal resistance mechanisms in acidophilic micro-organisms (Review). Microbiology, v.149, p.1959-1970, 2003.
- EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Análise de Solos: Manual de Métodos de Análise de Solo. 2ed. Rio De Janeiro, 212p. 1997.
- EHRlich, H.I., Bacterial action on orpiment. Econ.Geol. 58. 991-994, 1963.
- EHRlich, I I.L. Geomicrobiology. Marcel Dekker. New York. NY. 350-373, 1990
- EHRlich, H.L. Geomicrobiology, New York: Dekker, 1996. 719p. 1996.
- EVANGELOU, V.P. Pyrite Oxidation And Its Control. New York: CRC, 293p. 1995.
- FERREIRA NETO, J.M.; VIANA, E.S; MAGALHÃES, L.M. Patologia Clínica Veterinária. Belo Horizonte, Brasil, 279p. 1977.
- FRIDMAN, S.V. Microrganismos, agente alternativo à recuperação de metais. Min. Metal., Rio De Janeiro, p.29-36, 1983.
- GALE, N.D; BECK, J.V. Evidence for the calvanic cycle and hexose monophosphate pathway in Thiobacillus ferrooxidans. J. Bacteriol. v.94, p.1052-1059. 1967.
- GUAY, R.; SILVER, M. Uranium Biohidrometallurgy. Proc. Biochem. p.8-11. 1980.
- GARCIA JR., O. Interação metais e microrganismos. In: Workshop Sobre Biodegradação. Anais... Campinas: Embrapa, p.54-73. 1996.
- HADDADIN, J; DAGOT, C; FICK, M. Model of bacterial leaching (Review). Enzyme And Microbial Technology. v.17, p.290-305. 1995.

- HALLBERG, K. B. & JOHNSON, D. B. Biodiversity of acidophilic prokaryotes. *Adv Appl Microbiol* 49, 37–84, 2001.
- JEFFERY, P.G., HUTCHISON, D. Chemical method of rock analysis. 3.Ed., Oxford: Pergamon Press, 379p. 1983.
- INGRI, J. Acid mine drainage and environmental monitoring: A short introduction for mining engineers. Lulea – Sweden: Lulea University Of Technology, 39p. 1996.
- INGLEDEW, W.J AND COBLEY, J.G. A potentiometric and kinetic study on the respiratory chain of ferrous-iron-grown *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biophys Acta* 590, P. 141-158. 1980.
- INGLEDEW, W.J. *Thiobacillus ferrooxidans* – The bioenergetics of an acidophilic chemolithotroph. *Biochim. Biophys. Acta* 683 , 89-117, 1982.
- JORDAN, M.A.; MCGINNESS, S.; PHILLIPS, C.V. Acidophilic bacteria - their potential mining and environmental applications. *Minerals Engineering*, v. 9 N.2 p. 169-181, 1996.
- KARAMANEV, D.G; NIKOLOV, L.N. Influence of some physico-chemical parameters on bacterial activity of biofilm: ferrous iron oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnol. Bioenerg.* v.31, p.295-299. 1988.
- KELLEY, B.C; TUOVINEN, O.H. Microbiological oxidation of minerals in mine tailings. in: chemistry and biology of solid waste: Dredged material and mine tailings (Salomons, W. And Forstner, U., Eds). Springer-Verlag KG, Berlin, p.33-53. 1986.
- KELLY, D.P., WOOD, A.P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 50, 511 – 516 , 2000.
- KRUMBEIN, W.C.; MONK, G.D. Permeability as a function of the size parameters of unconsolidated sands. *Amer. Inst. Mining Metall*, N.1492, p.1-11, 1942.
- LEDUC, L.G AND FERRONI, G.D. The need for *T. ferrooxidans* strain selection in applications of bioleaching. Special Publication SP 94-1, Missisauaga. Canada. P 25-42, 1983.
- LINDSAY, W.L. Chemical Equilibria in Soils. New York: John Wiley & Sons, 439p. 1979.
- LUNDGREN, D.G. AND SILVER, M. Ore leaching bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 34, 262-283, 1980.
- MALHOTRA, S.; TANKHIWALE, A.S.; RAJVAIDYA, A.S.; PANDEY, R.A. Optimal conditions for bio-oxidation of ferrous ion to ferric ions using *Thiobacillus ferrooxidans*. *Bioresource Technology*: P.225-234, 2002.

- MARQUES, D.M.L.M. & DE LUCA S.J. Avaliação preliminar da biolixiviação de carvão e rejeitos, Anais Do 13<sup>o</sup> 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 16<sup>o</sup> Congresso Brasileiro De Engenharia Sanitária E Ambiental, 1995.
- MELLO, J.W.V.; ABRAHÃO, W.A.P. Geoquímica da drenagem ácida. In: Dias, L.E.; MELLO, J.W.V. Recuperação De Áreas Degradadas. Viçosa: Folha De Viçosa, p. 45-57. 1998.
- MODAK, J.M; NATARAJAN, K.A; MUKHOPADHYAY, S. Development of temperature-tolerant strains of *Thiobacillus ferrooxidans* to improve bioleaching kinetics. Hydrometallurgy, v.42, p.51-61, 1996.
- NIES, D.H. Microbial heavy-metal extraction. Appl Microbiol Biotechnol 51, p.730-750, 1999.
- Nordstrom, D.K.; Southam, G. Geomicrobiology of sulfide mineral oxidation. In: Banfield, J.F.; Nealson, K.H. (Eds.) Geomicrobiology: Reviews In Mineralogy. New York: Dekker, v.35, p.361-390, 1997.
- Norris, P.R. Mineral-oxidizing bacteria: Metal-organism interactions. In: Poole, R.K.; Gadd, G.M. (Eds.) Metal Microbe Interactions. Oxford: Oxford University Press, IRL Press, Cap.7, p.99-117, 1989.
- O'SHAY, T.; HOSSNER, L.R. E DIXON, J.B. A modified hydrogen peroxide oxidation method for determination of potential acidity in pyritic overburden. Journal Environmental Quality, v.19, p.778-782, 1990.
- PRONK, J.T., DE BRUYN. J.C. AND KUENEN, J.G. Anaerobic growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. Appl. Environ. Microbiol. 58, 2227-2230, 1992.
- RIBEIRO JR.E. Oxidation rate of pyrite from brazilian coal as affected by CaCO<sub>3</sub>, Oxigenation And Crystalize, V 18. p 289-298, 2004.
- RESENDE, M.; CARVALHO FILHO, A.; LANI, J.L. Características do solo e da paisagem que influenciam a susceptibilidade à erosão. In: Simpósio Sobre Manejo E Conservação Do Solo No Cerrado. 1990, Goiânia. Anais... Campinas: Fundação Cargil, p.32-93, 1992.
- RITCHIE, A.I.M. The waste-rock environment. In: Jambor, J.L.; Blowes, D.W. (Eds.): Short Course Handbook On Environmental Geochemistry Of Sulfide Mine Waste. Nepean: Mineralogical Association Of Canada, v.22, p.133-161, 1994.
- SANT'ANA, NA, F.S.P.; CORSEUIL, H. X; FRELLO, A. Avaliação da biodessulfurização do carvão mineral de Santa Catarina por intemperismo natural, lixiviação com água ácida de mina e inoculação bacteriana. Anais Do 20<sup>o</sup> Congresso Brasileiro De Engenharia Sanitária E Ambiental, 1995.

- SILVERMAN, M.P., Lundgren, D.G. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*: I. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cellular yields. *Journal of Bacteriology* 77, 642– 647, 1959.
- SILVERMAN, M.P; ROGOFF, M.H. *Nature* 191, 1221-1222, 1961.
- SETA, A.K; EVANGELOU, V.P. Pyrite microencapsulation: potential for abatement of acid mine drainage. In: Annual Meeting Of American Society For Surface Mining And Reclamation, Knoxville, 1996. Proceedings...Knoxville, p. 680-694, 1996.
- SOARES, E.R.; MELLO, J.W.V.;. Marcha de oxidação da pirita proveniente de área de mineração de carvão. In: Simpósio Brasileiro De Recuperação De Áreas Degradadas, 3, 1997 Viçosa. Anais... Viçosa: UFV/SOBRADE, p.245-248, 1997.
- SOARES, E.R.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M.; CORRÊA, M.L.T. Mobilidade de metais pesados em materiais provenientes do complexo carbo-energético de Candiota-RS. In: Simpósio Brasileiro De Recuperação De Áreas Degradadas, 2, 1994, Curitiba. Anais... Curitiba: SOBRADE, p.461-472, 1994.
- SOBEK, A. A.; SCHULLER, W. A.; FREEMAN, J. R.; SMITH, R. M. Field And Laboratory Methods applicable to overburdens and minesoils. EPA. Washington, EPA-60012-78-034. 1978.
- TEMPLE, K.I AND COLMER, A.R. The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium: *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Bacteriol.* 62, p. 605-611, 1950.
- TORMA, A.E.;BANHEGYI, G. Biotechnology in hydrometallurgical processes. *Trends Biotechnol.* v.2, p.13-15, 1984.
- TUOVINEN, O.H. AND KELLEY, D.P. *Z. Allg. Mikrobiol.* 12, 311-346, 1972.
- ZINI, A.; FORLIM,R; ANDREAZZAP; SOUZA, A. Depósito de ouro do Morro do Ouro, Paracatu, Minas Gerais. In: Shobbenhaus, C.; Coelho, C.E.S. (Coords.). Principais Depósitos Mineraiis Do Brasil: Metais Básicos Não Ferrosos, Ouro E Alumínio. Brasília: DNPM/CVRD, v.3, p. 479-489. 1988.