

Biolixiviação de Minério Primário de Cobre

Débora Monteiro de Oliveira
Bolsista PCI, Bióloga, M.Sc.

Luis Gonzaga Santos Sobral
Orientador, Eng. Químico, Ph.D.

Resumo

As bactérias *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans* foram testadas quanto à capacidade de promover a biolixiviação dos sulfetos minerais presentes em uma amostra de minério primário de cobre em sistemas contendo tensoativo biológico. Foram realizados experimentos de biolixiviação em frascos agitados, baseados num planejamento fatorial completo 2² com ponto central. Nesses experimentos verificou-se que a concentração de tensoativo e a densidade celular influenciam na extração de cobre pelos micro-organismos estudados. A fim de definir a concentração adequada de tensoativo, foram realizados novos experimentos, em função da tendência definida no planejamento experimental. Nesta etapa, os parâmetros que influenciam no processo de biolixiviação foram monitorados, tais como pH, potencial de oxi-redução e concentração das espécies iônicas de ferro. O maior percentual de extração de cobre, determinado pela quantificação desse metal na fase líquida do sistema reacional, foi de 64,6%, alcançado após 28 dias de processo em meio suplementado com 5 mg/l de tensoativo.

Sessão: Metalurgia Extrativa e Bioprocessos

1. Introdução

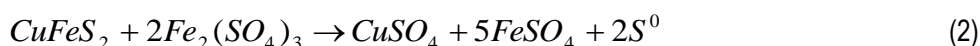
A biolixiviação pode ser definida como um processo de dissolução de sulfetos minerais que resulta da ação de um grupo de micro-organismos (PRADHAN *et al.*, 2008). De um modo geral, os micro-organismos capazes de promover a lixiviação de sulfetos minerais são acidófilos, quimiotróficos (obtem energia a partir da oxidação de compostos inorgânicos), autotróficos (executam a biossíntese de todos os constituintes celulares utilizando o dióxido de carbono (CO₂) como única fonte de carbono) e são classificados de acordo com a temperatura em que se desenvolvem, distinguindo-se em: mesófilos (até ~40°C), termófilos moderados (~40 à ~55° C) e termófilos extremos (~55 a ~80°C) (SHIPPERS, 2007). As bactérias mesófilas mais frequentemente isoladas em ambientes de lixiviação são linhagens das espécies *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans* (ROHWERDER *et al.*, 2003; LAVALLE *et al.*, 2005). Em geral, devido às similaridades fisiológicas e ambientais, essas bactérias coexistem no mesmo sistema reacional, intensificando a solubilização dos metais constituintes dos sulfetos minerais.

A dissolução de sulfetos minerais ocorre, naturalmente, nas áreas de mineração e, durante muito tempo, foi considerada como um fenômeno puramente químico, decorrente de reações químicas oxidantes mediadas por água e oxigênio atmosférico (PRADHAN *et al.*, 2008). As Equações 1, 2, 3 e 4 mostram, através da estequiometria das reações de oxidação, como ocorre a dissolução da calcopirita (CuFeS₂). Nesse processo, os

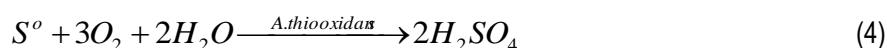
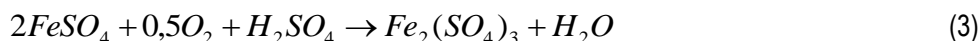
micro-organismos são capazes de extrair os elétrons necessários para atender sua demanda energética diretamente da superfície do mineral.



O sulfato férrico, produzido na Equação 1, também atua na oxidação da calcopirita, como mostra a Equação 2.



Além do cobre, nota-se a formação de sulfato ferroso ($FeSO_4$) e enxofre elementar (S^0), os quais são oxidados à sulfato férrico e ácido sulfúrico, respectivamente (Equações 3 e 4).



Diversos fatores influenciam, diretamente, a biolixiviação de sulfetos minerais, tais como: característica da amostra mineral, disponibilidade de dióxido de carbono (CO_2) e de (O_2), temperatura, nutrientes, concentração celular, tamanho de partícula, pH, potencial de oxi-redução e concentração de elementos químicos solúveis no sistema reacional. Independentemente do tipo de processo e da escala de trabalho (bancada, semi-piloto, piloto ou industrial), esses fatores devem ser cuidadosamente administrados para assegurar a atuação máxima dos micro-organismos empregados no processo.

2. Objetivo

Avaliar a influência de um tensoativo biológico (ramnolípido) comercial na biolixiviação de minério primário de cobre.

3. Materiais e Métodos

3.1. Amostra Mineral

Neste estudo foi utilizado um minério primário de cobre, procedente da Mina Boa Esperança, localizada no Estado do Pará. Utilizou-se, nos experimentos, a fração compreendendo tamanhos de partículas entre 100 e 150 *mesh*. A amostra possui um teor de 3% em cobre, proveniente, majoritariamente, da calcopirita. Além da calcopirita o minério possui outras espécies minerais, a saber: pirita, chamosita, biotita, quartzo, microclíneo, magnetita, labradorita e ortoferrosilita.

3.2. Tensoativo

Foi utilizado o tensoativo comercial JBR210 que possui 10% de ramnolípido produzido por linhagens de *Pseudomonas aeruginosa*.

3.3. Micro-organismos e meio de cultura

Foram utilizadas três linhagens bacterianas: *Acidithiobacillus ferrooxidans*-LR, *Acidithiobacillus thiooxidans*-FG01 e *Leptospirillum ferrooxidans*-ATCC 53992. Para manutenção periódica das linhagens e para o preparo do inóculo empregado nos experimentos de biolixiviação, foi utilizado o meio de cultura 9K modificado, o qual apresenta a seguinte composição: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,0 g/l; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g/l; K_2HPO_4 0,5 g/l ((MALIK, 2001)). O meio foi acrescido de diferentes fontes energéticas: 166,5 g/l de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (para *A. ferrooxidans* e *L. ferrooxidans*); e 10 g/l de enxofre elementar (S^0) (para *A. thiooxidans*). O pH do meio de cultura foi ajustado, com solução 5 M de H_2SO_4 , em 2,8 para o cultivo de *A. thiooxidans* e em 1,8 para o cultivo de *A. ferrooxidans* e *L. ferrooxidans*. Nos experimentos de biolixiviação foi utilizada uma solução de sais básicos com a seguinte composição: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 80,0 mg/l; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 80,0 mg/l; K_2HPO_4 8,0 mg/l (OLSON, 2003). O pH desse meio foi ajustado para 1,8 com solução 5 M de H_2SO_4 .

3.4. Toxicidade do tensoativo

Os micro-organismos foram crescidos no meio de cultura 9K contendo diferentes concentrações do tensoativo, a saber: 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mg/l. Os cultivos foram incubados em temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$, sob agitação de 150 rpm. A escolha para tal faixa de concentração foi baseada em estudos prévios, realizados por Deng *et al.*, (2000) e por Lan, Hu & Qin (2009) para diferentes tensoativos sintéticos.

3.5. Experimentos de Biolixiviação

Os ensaios foram conduzidos em escala de bancada, em frascos *Erlenmeyers* de 500 mL de capacidade, contendo 100 mL do meio de cultura MKM. Após a adição do minério primário, o pH da suspensão foi ajustado para 1,8 e, em seguida, foi feita a adição do tensoativo e do inóculo (consórcio constituído pelas bactérias *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans* e *L. ferrooxidans*). Os recipientes dos ensaios foram incubados em temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$, sob agitação de 150 rpm. Após inoculação, os frascos *Erlenmeyers* foram incubados numa temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$, sob agitação de 150 rpm, por um período de tempo de, no máximo, 28 dias. Durante todo o período de duração dos ensaios, foram realizadas medições de potencial de oxi-redução e de pH, que era ajustado para 1,8, com solução de ácido sulfúrico 5M, sempre que necessário. Os experimentos foram

realizados usando frascos de sacrifício e, a cada dois dias, foi realizado o monitoramento da perda de água por evaporação, sendo estimada pela perda de massa e compensada pela adição de água destilada.

Primeiramente foi realizado um experimento cujo objetivo foi estudar o efeito da concentração de células e concentração de tensoativo na biolixiviação do minério primário de cobre no qual se utilizou um Planejamento Experimental Fatorial Completo do tipo 2^2 , com três réplicas nos Pontos Centrais. Foram estabelecidos para o nível superior, os valores de 10^6 células/ml e 100 mg/l, para concentração celular e concentração de tensoativo, respectivamente; para o nível inferior os valores respectivos foram de 10^2 células/ml e 0 mg/l de tensoativo.

Numa segunda etapa, e considerando que na etapa anterior os resultados obtidos não foram conclusivos e demonstraram uma tendência positiva para a aplicação do tensoativo, uma nova série de ensaios foi realizada, também utilizando frascos de sacrifício e triplicatas dos ensaios com adições de tensoativo nas concentrações de 0, 5, 10 e 20 mg/l. Nesses ensaios foi utilizada a concentração celular de 10^6 céls/ml. Simultaneamente, foi feito o controle abiótico, sendo a descontaminação do minério realizada pela adição de formaldeído na concentração de 4% v/v, conforme Sérvulo (1991).

3.6. Avaliação do comportamento eletroquímico da calcopirita na presença do agente tensoativo.

Foi feita a medição do potencial de uma amostra de calcopirita, que se caracteriza como um eletrodo semicondutor, quando imersa na lixívia supracitada, e ligada a um fio de cobre que foi conectado ao pólo positivo de um multímetro digital. Em seguida, um eletrodo de referência de Calomelano (Hg^0/Hg_2Cl_2) foi inserido na lixívia, através de um capilar de *Luggin*, e conectado ao mesmo multímetro, no pólo negativo. Em primeiro lugar foi aferido o potencial dessa amostra mineral na lixívia sem a adição do tensoativo e, em seguida, foram adicionadas, sequencialmente, alíquotas para obtenção de concentrações crescentes desse composto, a saber: 5, 10, 20, 50 e 100 mg/l.

4. Resultados e Discussão

4.1. Toxicidade do tensoativo

Não houve alteração no crescimento das espécies oxidantes de ferro (*A. ferrooxidans* e *L. ferrooxidans*) até 40 mg/l de tensoativo. Entretanto, valores superiores a essa concentração provocaram um ligeiro aumento no tempo de geração dessas linhagens. A espécie oxidante de enxofre (*A. thiooxidans*) apresentou comportamento distinto quando cultivada na presença do tensoativo. A adição da menor concentração do tensoativo (10 mg/l) já interferiu na sua atividade metabólica, ocasionando o aumento do tempo de geração. No entanto, não ocorreu a inibição do seu crescimento. O crescimento dos micro-organismos foi definido por observação visual. Para tanto, nos cultivos das espécies oxidantes de ferro foi observada a mudança da coloração do meio de cultivo de branco leitoso para vermelho-tijolo (MASCARIN, 1999). Nos cultivos da espécie oxidante de enxofre foi evidenciada a turvação do meio de cultivo e diminuição de pH para valores inferiores à 1 (GARCIA, 1991), em consequência do consumo do enxofre elementar com geração de ácido sulfúrico. O estudo

da toxicidade do tensoativo sobre o crescimento das espécies bacterianas foi fundamental para nortear a escolha da concentração a ser aplicada nos experimentos de biolixiviação.

4.2. Experimentos de Biolixiviação

Analisando a Tabela 1, pode-se inferir que a biolixiviação foi estimulada na ausência ou na menor concentração de tensoativo adicionado, independentemente da concentração celular. Na ausência de tensoativo, o tempo de extração foi dependente do número de células, embora o maior percentual de extração tenha sido alcançado quando a lixiviação foi conduzida com a maior concentração celular.

Tabela 1. Combinações dos fatores considerados e porcentagens de extração de cobre nos experimentos de biolixiviação do minério primário de cobre.

Ensaio	Tensoativo (mg/l)	Conc. celular (cels/ml)	Extração de cobre (%)			
			7° Dia	14° Dia	21° Dia	28° Dia
1	0	10 ²	28,0	39,7	42,0	42,3
2	100	10 ²	17,6	20,9	30,0	26,9
3	0	10 ⁶	37,7	47,7	50,7	57,3
4	100	10 ⁶	29,9	30,2	32,0	26,3
5 (PC)	50	10 ⁴	26,3	33,3	38,7	39,2
6 (PC)	50	10 ⁴	28,7	32,1	36,7	40,0
7 (PC)	50	10 ⁴	27,5	32,5	37,3	40,0

Embora tenham sido realizadas amostragens nos tempos 7, 14, 21 e 28 dias, apenas o percentual final de extração de cobre (no 28° dia) foi utilizado como resposta na análise dos dados. Através do gráfico de Pareto (Figura 1) é possível comparar a relevância dos fatores e interação existente entre eles.

Ambas as variáveis foram relevantes para o processo de biolixiviação, de forma isolada ou na interação entre elas. É interessante notar que o efeito positivo na extração de cobre é dado pelo aumento na concentração de células, enquanto a concentração de tensoativo sendo relevante de modo inverso, isto é, o seu aumento resulta em menores percentuais de extração. A curvatura se mostrou marginalmente significativa, indicando a necessidade de se estudar pontos axiais para elucidar o modelo.

A análise dos dados mostrou que, em detrimento da menor concentração celular, a inoculação de 10⁶ células/ml de solução se mostrou mais favorável à dissolução da calcopirita e, conseqüentemente, à extração de cobre. Certamente, uma maior superfície de contato no meio reacional foi alcançada pelos micro-organismos.

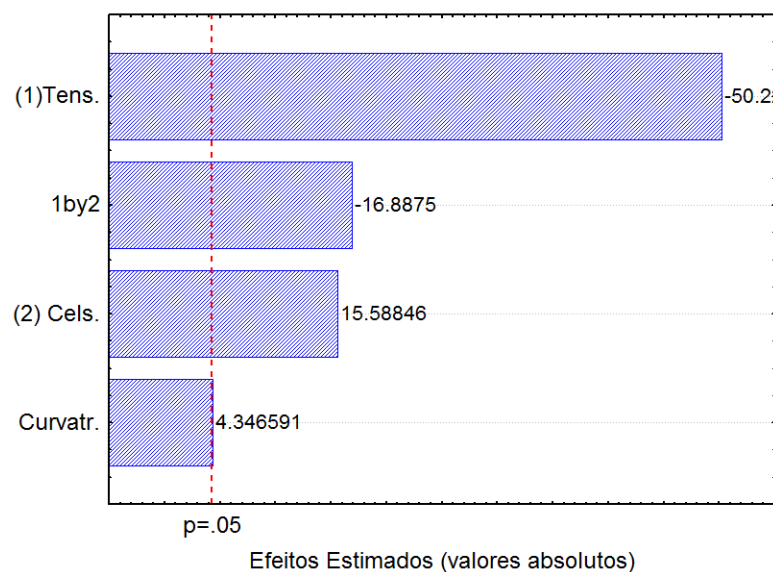


Figura 1. Gráfico de Pareto para o Planejamento 2² com ponto central

Considerando os dados obtidos no planejamento fatorial, foi dado prosseguimento ao estudo, dessa vez buscando avaliar a influência do tensoativo em experimentos, os quais, à exceção do controle abiótico, foram inoculados com a mesma concentração de micro-organismos (10⁶ células/ml). Nessa etapa, foram estabelecidas as concentrações 5, 10 e 20 mg/l de tensoativo. A razão para a escolha do valor máximo de 20 mg/l foi o fato de o tensoativo influenciar, diretamente, no potencial de oxidação da calcopirita. Essa informação, que será explicada de forma detalhada no item 4.3 desta publicação, indica que embora o tensoativo possa ser favorável ao processo de oxidação da calcopirita, sua presença, em concentrações elevadas, pode reduzir as taxas de oxidação.

A Figura 2a apresenta a variação de pH durante o período de duração do experimento. À exceção do controle abiótico, os valores de pH apresentam perfis semelhantes nos ensaios. No início do experimento, o pH foi ajustado para 1,8 e, durante o processo, os ajustes foram feitos com solução de H₂SO₄ 5M.

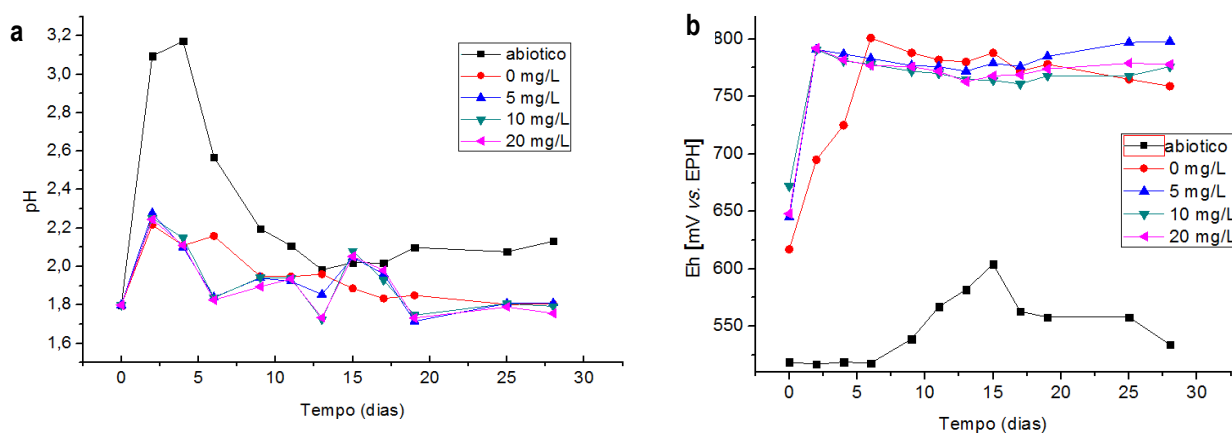


Figura 2. Variação de pH (a) e Eh (b) nos experimentos de biolixiviação.

Nota-se que até o 19º dia de processo ocorreram flutuações no pH que são indesejadas para a adequada atividade dos micro-organismos inoculados. Essas flutuações se devem, por um lado, à composição do minério, pois ele possui grande quantidade de espécies minerais que compõem sua ganga, que são consumidoras de ácido (OLUBAMBI *et al.*, 2008; LEAHY e SCHARZ, 2009) e, por outro lado, pelo consumo de prótons (H⁺) no processo de lixiviação dos sulfetos minerais, já que as reações de oxidação da calcopirita envolvem o consumo de ácido (RODRÍGUEZ *et al.*, 2003; VILCÁEZ, SUTO e INOUE, 2008).

A Figura 2b mostra os valores do potencial de oxi-redução (Eh) observados durante o ensaio de biolixiviação. A presença de micro-organismos determinou uma elevação do Eh nos ensaios, os quais atingiram, nos primeiros cinco dias de experimento, valores superiores à 760 mV vs. EPH e se mantiveram elevados, no mesmo patamar até o final do experimento, isto é, até o 28º dia. O potencial de oxi-redução é uma referência para as taxas de oxidação das espécies iônicas de ferro, visto que ele representa a tendência da solução de ser oxidada ou reduzida, ou seja, a sua capacidade de remover ou liberar elétrons. Simultaneamente, ocorre a solubilização do ferro, bem como do metal de interesse, conforme mostra a Figura 3 que apresenta as concentrações de cobre extraído nos ensaios.

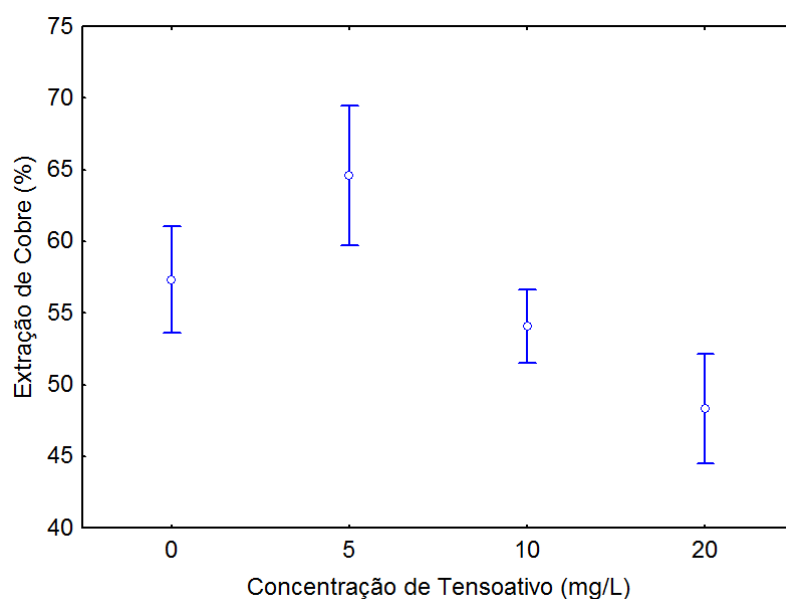


Figura 3. Extração de cobre nos experimentos de biolixiviação em frascos agitados. Análise feita pelo Método da Diferença Mínima Significativa de Fisher (LSD).

O percentual máximo de cobre extraído de 64,6% foi determinado no ensaio conduzido com 5 mg/L do ramnolípido, após 28 dias de processo.

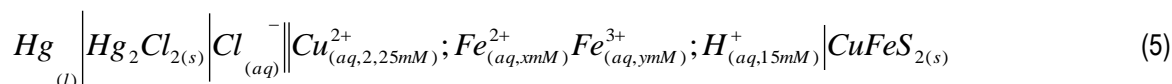
Além de atuar na redução da tensão superficial da fase líquida, promovendo uma melhoria nas taxas de lixiviação, devido ao maior contato entre a solução lixiviante e a superfície do mineral, a ação do tensoativo se estende ao incremento na biodisponibilidade do enxofre elementar (S⁰), resultado da oxidação parcial dos íons sulfetos (S²⁻) (SEIDEL *et al.*, 2000). O tensoativo utilizado apresenta uma porção polar (hidrofílica) e outra apolar

(hidrofóbica), por esta razão, ele é capaz de promover a dispersão de substâncias apolares (NITSCHKE & PASTORE, 2002), como S^o no meio líquido através da formação de micelas.

Adicionalmente, ao comparar o consumo de ácido nos ensaios, calculado a partir do volume de ácido sulfúrico repostado quando das correções ácidas, observa-se mais um benefício da adição de 5 mg/l de tensoativo. As médias obtidas foram 39,53; 26,56; 30,0 e 28,91 kg de ácido sulfúrico por tonelada de minério primário de cobre para 0; 5; 10 e 20 mg/l de tensoativo, respectivamente.

4.3. Avaliação do comportamento eletroquímico da calcopirita na presença do agente tensoativo

Face aos distintos percentuais de extração de cobre obtidos nos experimentos de biolixiviação, procurou-se um esclarecimento adicional por meio do estudo do comportamento da calcopirita na presença de uma lixívia real, proveniente da biolixiviação *in vitro* de minério primário de cobre, na presença das mesmas concentrações de tensoativo utilizadas nos experimentos de biolixiviação (0 a 100 mg/l). O valor de Eh da lixívia utilizada na medição do potencial do eletrodo de calcopirita foi de 0,625 V vs. EPH, valor relativamente elevado, corroborando a característica oxidante desse meio aquoso. A pilha que representa a medida do potencial do eletrodo de calcopirita é mostrada na Equação 5, a seguir:



A Figura 4 mostra o resultado das medições do potencial do eletrodo de calcopirita, em contato com os íons presentes na solução lixiviante e tensoativo, sobrepostos aos percentuais de extração de cobre.

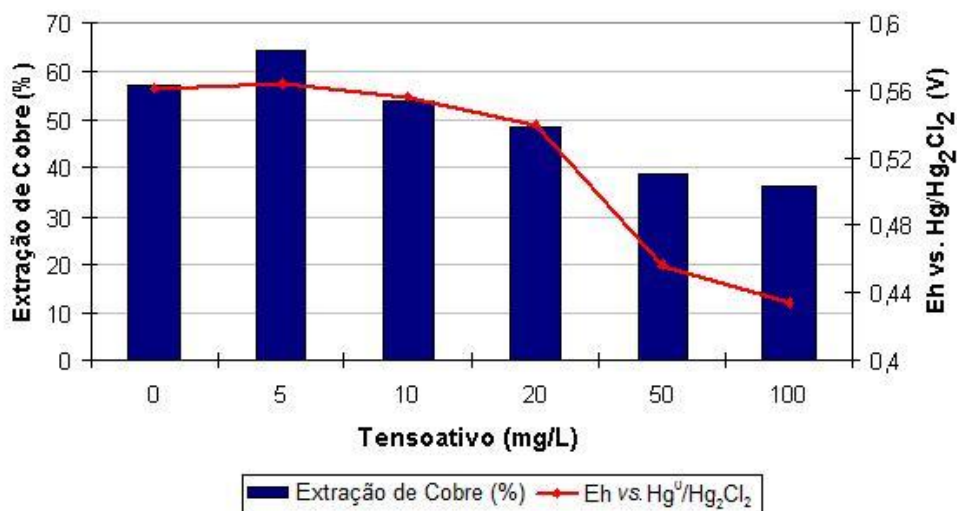


Figura 4. Extração de cobre e medidas do potencial do eletrodo de calcopirita nos experimentos de biolixiviação vs. concentração do tensoativo.

O que pode ser depreendido dessas medidas é que, ao comparar o potencial do eletrodo de calcopirita na lixívia isenta de tensoativo com as demais medidas, ocorre um aumento desse potencial quando da adição de

5 mg/l do tensoativo. Essa concentração torna a superfície da calcopirita mais hidrofílica e, conseqüentemente, mais susceptível ao ataque microbiano e à ação dos íons férricos e íons hidrogênio na sua dissolução. Esse efeito é, ainda, observado quando da adição de 10 mg/l do tensoativo, embora em menor escala. Entretanto, com o aumento gradativo dessa concentração o potencial do eletrodo decresce, proporcionalmente, à adição crescente desse tensoativo indicando, claramente, um mascaramento de sítios ativos da calcopirita pelo acúmulo de camadas sucessivas do tensoativo. O efeito da diminuição da atividade superficial da calcopirita pela adição crescente do tensoativo pode ser corroborado pelos respectivos valores decrescentes de extração de cobre.

5. Conclusões

- ✓ As linhagens de *A. ferrooxidans*, de *A. thiooxidans* e de *L. ferrooxidans* se mostraram capazes de promover a dissolução da calcopirita presente no minério primário de cobre em estudo, na presença do tensoativo biológico;
- ✓ A concentração de tensoativo que promoveu o melhor resultado foi 5 mg/l, com a qual foi obtida uma extração de 64,6% ao final de 28 dias de experimento conduzido na presença de um consórcio microbiano constituído de concentrações de 10^6 células/ml de cada uma das três linhagens bacterianas;

6. Agradecimentos

Os agradecimentos são ao Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) pela infra-estrutura, ao Programa de Capacitação Institucional – PCI/CNPq pela concessão da bolsa, aos meus orientadores Luis Sobral (CETEM) e Eliana Flávia (EQ/UFRJ) e a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização do trabalho.

7. Referências Bibliográficas

DENG, T.L.; LIAO, M.X.; WANG, M.H.; CHEN, Y.W.; BELZILE, N. Investigations of accelerating parameters for the biooxidation of low-grade refractory gold ores. **Minerals Engineering**, v. 13, p. 1543-1553, 2000;

GARCIA JR., O. Isolation and purification of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans* from some coal and uranium mines of Brazil. **Revista de Microbiologia**, v. 20, p.1-6, 1991;

ROHWERDER T.; GEHRKE T.; KINZLER K.; SAND W. Bioleaching review part A:Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 63, p. 239–248, 2003;

LAN Z.; HU Y.; QIN W. Effect of surfactant OPD on the bioleaching of marmatite. **Minerals Engineering**, v. 22, p. 10–13, 2009;

LAVALLE L.; CHIACCHIARINI P.; POGLIANI C.; DONATI E Isolation and characterization of acidophilic bacteria from Patagonia, Argentina. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1095–1099, 2005;

- LEAHY M. J.; SCHWARZ M. P., Modelling jarosite precipitation in isothermal chalcopyrite bioleaching columns, **Hydrometallurgy**, v. 98, p. 181–191, 2009;
- MALIK, A.; DASTIDAR, M. G.; ROYCHOUDHURY, P. K. Biodesulfurization of coal: effect of pulse feeding and leachate recycle. **Enzime and Microbial Technology**, v. 28, p. 40 – 56, 2001;
- MASCARIN, D. B. **Solubilização da calcopirita e da bornita por *Thiobacillus ferrooxidans***. Dissertação de Mestrado – Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, 1999;
- NITSCHKE M.; PASTORE G. M. Biossurfactantes: Propriedades e Aplicações. **Química Nova**, v. 25, p. 772-776, 2002;
- OLSON, G. J.; BRIERLEY, J. A.; BRIERLEY C. L., Bioleaching review part B: Progress in bioleaching: applications of microbial processes by the minerals industries. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 63, p. 249–257, 2003;
- OLUBAMBI P.A.; NDLOVU S.; POTGIETER J.H.; BORODE J.O. Effects of ore mineralogy on the microbial leaching of low grade complex sulphide ores. **Trans. Nonferrous Met. Soc. China**, v.18, p. 1234-1246, 2008;
- PRADHAN N.; NATHSARMA K.C.; S.RAO K.; SUKLA L.B., MISHRA B.K Heap bioleaching of chalcopyrite: A review. **Minerals Engineering**, v. 21, p. 355–365, 2008;
- OLUBAMBI P.A.; NDLOVU S.; POTGIETER J.H.; BORODE J.O. Effects of ore mineralogy on the microbial leaching of low grade complex sulphide ores. **Trans. Nonferrous Met. Soc. China**, v.18, p. 1234-1246, 2008;
- RODRIGUEZ Y., BALLESTER A. , BLAZQUEZ M.L., GONZALEZ F., MUNOZ, J.A.. New information on the chalcopyrite bioleaching mechanism at low and high temperature, **Hydrometallurgy**, 71, 47 – 56, 2003;
- SCHIPPERS, A. Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification. Em: DONATI, E. R.; SAND, W. **Microbial processing of metal sulfides**. La Plata: Springer, Cap. 1, p. 3-33, 2007;
- SEIDEL, H.; ONDRUSCHA. J.; MORGENSTERN, p. Bioleaching of heavy metal-contaminated sediments by indigenous *Thiobacillus* spp: metal solubilization and sulphur oxidation in the presence of surfactants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 54, p. 8, 2000;
- SÉRVULO, E. F. C., **Ação das bactérias oxidantes e redutoras de enxofre sobre o xisto**. 148p, Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1991;
- VILCÁEZ J., SUTO K., INOUE C., Bioleaching of chalcopyrite with thermophiles: Temperature–pH–ORP dependence, **International Journal of Mineral Processing**, v. 88, p. 37–44, 2008;