

INFLUÊNCIA DE ELEMENTOS DISSOLVIDOS A PARTIR DA GANGA NA BIOLIXIVIAÇÃO DE SULFETOS SECUNDÁRIOS DE COBRE COM *SULFOLOBUS ACIDOCALDARIUS*

T.C. Veloso¹, L.C. Sicupira¹, M. L. A. D. Almeida¹, V. A. Leão¹

¹ Universidade Federal de Ouro Preto, Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Laboratório de Bio&Hidrometalurgia, Campus Morro do Cruzeiro, s. n., Ouro Preto, MG, 35400-000, Brasil.

RESUMO

A biolixiviação é uma tecnologia consolidada no processamento de diversos sulfetos minerais. Sulfetos de cobre, zinco, cobalto e minérios refratários de ouro são exemplos de minérios que são passíveis de serem biolixiviados. Esta tecnologia pode ser aplicada tanto em tanques como em pilhas de minérios e rejeitos. Os micro-organismos empregados nesses processos, geralmente, são mesófilos, ou seja, com temperatura ótima de crescimento em torno de 35°C. Contudo, o número de estudos envolvendo micro-organismos que suportam temperaturas mais elevadas, como os termófilos extremos (temperatura ótima de crescimento em torno de 65°C), aumentou, significativamente, nos últimos anos. O interesse pelos termófilos extremos deve-se ao fato dos processos de biolixiviação contendo esses micro-organismos apresentarem uma cinética de lixiviação de sulfetos mais acelerada do que a apresentada nos sistemas contendo mesófilos. Outros fatores que afetam o desempenho de um processo de biolixiviação são o pH, a granulometria e a composição da ganga mineral. Neste trabalho buscou-se avaliar como a dissolução de elementos provenientes da ganga mineral pode impactar a biolixiviação utilizando micro-organismos termófilos (*Sulfolobus acidocaldarius*). Sabidamente, a presença de alguns elementos, como cloro, flúor e arsênio, mesmo em baixas concentrações, pode inibir a atividade microbiana; já elementos como alumínio e magnésio precisam estar em concentrações elevadas para que se tornem prejudiciais à atividade microbiana. Como na maioria dos processos de biolixiviação ocorre recirculação de soluções é esperado encontrar elevadas concentrações destes elementos em sistemas de biolixiviação. Neste trabalho, foram avaliadas como concentrações de 0 a 10g/L de magnésio e alumínio impactam a biolixiviação de sulfetos secundários de cobre.

Palavras chaves: biolixiviação, *Sulfolobus acidocaldarius*, sulfetos secundários de cobre, alumínio, magnésio.

INTRODUÇÃO:

A biolixiviação é uma tecnologia consolidada no processamento de diversos sulfetos minerais. Sulfetos de cobre, zinco, cobalto e minérios refratários de ouro são alguns exemplos de minérios que são passíveis de serem biolixiviados (Viera *et al.*, 2007). Esta tecnologia pode ser aplicada tanto em tanques como em pilhas de minério e de rejeito (du Plessis *et al.*, 2007; Dopson *et al.*, 2008). Os micro-organismos empregados nesses processos, geralmente, são mesófilos, com temperatura ótima de crescimento em torno de 35°C. Dentre os mais empregados, podem-se citar *Acidithiobacillus ferroxidans*, *Leptospirillum ferroxidans* e *Acithiobacillus thiooxidans* (Pina *et al.*, 2007; Nurmi *et al.*, 2009). Contudo, o número de estudos envolvendo micro-organismos que suportam temperaturas mais elevadas, como os termófilos extremos (temperatura ótima de crescimento em torno de 65°C), aumentou significativamente nos últimos anos (Rubio e García Frutos, 2002; Plumb *et al.*, 2008).

O aumento do interesse pelos micro-organismos termófilos extremos deve-se ao fato dos processos de biolixiviação com esses micro-organismos apresentarem uma cinética de lixiviação dos sulfetos mais acelerada do que a apresentada nos sistemas contendo bactérias mesófilas. O fator responsável por esse ganho em cinética é a temperatura. Além disto, estudos recentes revelaram que micro-organismos termófilos podem também ser encontrados em pilhas de minérios/rejeito (Hawkes *et al.*, 2006; Watling *et al.*, 2008), o que demonstra que os mesmos podem ser utilizados neste tipo de processamento, levando a ganhos diretos na cinética de extração do metal.

Além da temperatura, há outros fatores que afetam o desempenho de um processo de biolixiviação; dentre esses podem ser citados o pH, a granulometria e a composição da ganga mineral. A influência deste último parâmetro está relacionada com o fato dos minérios contendo sulfetos minerais poderem conter minerais portadores de elementos deletérios ao crescimento dos micro-organismos, sendo comum a presença destes elementos associados a silicatos. Alguns destes minerais, durante a lixiviação dos sulfetos, também são dissolvidos (parcialmente), o que pode impactar os sistemas de biolixiviação, dependendo do tipo e da concentração do íon dissolvido. A liberação de íons fluoretos, por exemplo, impacta negativamente na biolixiviação (Sundkvist *et al.*, 2005; Brierley e Kuhn, 2010). Isto ocorre devido ao pH dos sistemas de lixiviação estar normalmente entre 1,5 e 2,0, ou seja, menor que o pK_a do ácido fluorídrico ($pK_a = 3,2$, a 25°C e $I \rightarrow 0$), portanto, os íons fluoreto são protonados como ácido fluorídrico (HF) nos valores de pH típicos da biolixiviação. Este último, por ser uma molécula de pequeno tamanho e não possuir carga elétrica, pode facilmente penetrar na membrana celular dos micro-organismos, sendo altamente tóxico aos mesmos (Gunneriusson *et al.*, 2009). Já a liberação de outros íons, como magnésio e alumínio, pode ter efeitos benéficos ao sistema. O efeito benéfico do magnésio está relacionado ao fato deste ser um dos metais essenciais para funcionamento fisiológico da célula, sendo necessário para estabilização de várias enzimas e do DNA, através de forças eletrostáticas (Ojumu *et al.*, 2008). No caso do alumínio, a situação é diferente, pois este não pertence aos metais essenciais e não possui nenhuma função biológica, contudo, este metal forma complexos estáveis com o flúor, diminuindo a toxicidade do mesmo, o que favorece o ambiente de biolixiviação quando o anion está presente (Gunneriusson *et al.*, 2009; Brierley e Kuhn, 2010). É importante ressaltar, que embora o alumínio e o magnésio possam ter efeitos benéficos ao sistema, estudos mostram que em concentrações elevadas desses elementos, ocorre um aumento excessivo da força iônica da solução, o que pode afetar o crescimento dos micro-organismos presentes no meio (Watling, 2008; Dopson *et al.*, 2009).

Tendo em vista os diversos parâmetros que afetam um sistema de biolixiviação, no presente trabalho buscou-se avaliar como a dissolução de elementos provenientes da ganga mineral pode impactar a biolixiviação utilizando micro-organismos termófilos (*Sulfolobus acidocaldarius*). Para tal, foi avaliado como a concentração de íons metálicos (Al^{3+} e Mg^{2+}) influencia na extração de cobre a partir de um concentrado de sulfeto secundário de cobre.

MATERIAS E MÉTODOS

Amostras de concentrado

Neste trabalho, foi utilizada uma amostra de concentrado de sulfetos secundários de cobre contendo: 23% de calcocita, 18% de bornita, 6% de covelita e 9% de calcopirita. As análises dos elementos químicos presentes nas amostras e seus respectivos teores, mostrados na Tabela I, foram realizadas por espectrometria de absorção atômica (equipamento Perkim Elmer Modelo AAnalyst 100) e de emissão atômica com fonte plasma (equipamento Spectro Modelo Cirox CCD).

Tabela XI: Análise química da amostra de concentrado.

	Teor dos principais elementos											
Elemento	Si	Ca	Mn	Na	K	Al	Mg	Fe	Cu	S	F	Cl
Teor (%)	6,19	0,42	0,16	0,06	0,30	1,04	0,22	18,1	35,8	14,9	0,30	0,14

Micro-organismo

A cultura de *Sulfolobus acidocaldarius* utilizada nos experimentos foi adquirida de coleções depositadas na *Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen* (DSMZ 639). Essa cultura foi mantida em um *shaker* termostatizado (New Brunswick Scientific) a 67,5°C e sob agitação de 150min⁻¹. Além de 50g.L⁻¹ de enxofre elementar, o meio de cultura empregado no cultivo das células, que será denominado ao longo do trabalho de meio DSMZ 88 modificado, contém: 1,3g.L⁻¹ de (NH₄)₂SO₄, 0,28g.L⁻¹ de KHPO₄, 0,25g.L⁻¹ de MgSO₄.7H₂O, 0,07g.L⁻¹ de CaCl₂.2H₂O, 0,02g.L⁻¹ de FeCl₃.6H₂O, 1,80mg.L⁻¹ de MnCl₂.4H₂O, 4,5mg.L⁻¹ de NaB₄O₇.10H₂O, 0,22mg.L⁻¹ de ZnSO₄.7H₂O, 0,05mg.L⁻¹ de CuCl₂.2H₂O, 0,03mg.L⁻¹ de Na₂MoO₄.2H₂O, 0,03mg.L⁻¹ de VOSO₄.2H₂O, 0,01mg.L⁻¹ de CoSO₄ e 0,1g.L⁻¹ extrato de levedura. Para realizar os experimentos de biolixiviação, as culturas foram repicadas em meios onde o concentrado substituiu o enxofre elementar. Após a adaptação das culturas ao novo substrato (definida por valores de população bacteriana da ordem 10⁸ células.mL⁻¹), estas culturas foram filtradas em membranas de celulose (Millipore-0,22µm) e, posteriormente, re-suspensas em água destilada em pH 2,0 e utilizadas como inóculo nos experimentos de biolixiviação.

Ensaio de biolixiviação

Os experimentos de biolixiviação foram realizados em erlenmeyers de 250mL contendo 100mL de meio DSMZ 88 modificado e percentual de sólidos de 2,5% (p/v). O volume de inóculo em todos os experimentos foi 20% (v/v), gerando concentrações bacterianas iniciais da ordem de 1,5.10⁶ a 3,0.10⁶ células.mL⁻¹. Os erlenmeyers foram mantidos em um *shaker* termostatizado (New Brunswick Scientific), a 67,5°C e 150min⁻¹ (diâmetro da órbita de agitação de 5,0cm). Não

houve adição de sulfato ferroso nos sistemas de biolixiviação e a concentração de ferro observada nos experimentos é proveniente da dissolução dos minerais contidos nas amostras estudadas.

Os parâmetros avaliados nos experimentos foram a concentração de magnésio (0, 1,0, 5,0 e 10g.L⁻¹) e concentração de alumínio (0, 1,0, 5,0 e 10g.L⁻¹). Os compostos Al₂(SO₄)₃·(14-18)H₂O e MgSO₄·7H₂O foram utilizados como fontes de alumínio e magnésio, respectivamente. O pH da suspensão foi mantido em 1,75 pela adição manual de solução 1mol.L⁻¹ de H₂SO₄ e 6mol.L⁻¹ de NaOH. A medição e ajuste do pH foi realizada diariamente com um medidor de pH (Hanna 2221), dotado de eletrodo de membrana de vidro e calibrado com tampões de pH 4,0 e pH 7,0. O potencial redox da suspensão também foi monitorado diariamente, utilizando-se um eletrodo de platina com referência de Ag/AgCl (Ehmetro-Digimed). As medidas eram feitas em temperatura ambiente.

As amostragens para análise da concentração bacteriana e de íons (Fe²⁺, Fe³⁺, Cu²⁺, Mg²⁺, Al³⁺ e F⁻) foram realizadas em intervalos regulares. A determinação da concentração bacteriana foi feita por contagem direta em um microscópio óptico (Leica) com o auxílio de uma câmara de Neubauer. As concentrações de cobre, alumínio, magnésio e ferro total foram determinadas por espectrometria de absorção atômica, em um equipamento Perkin Elmer Modelo AAnalyst 100. Já a concentração de íons fluoreto foi determinada por cromatografia de íons (troca iônica) em um equipamento Metrohm.

Durante os experimentos de biolixiviação, houve perda de água por evaporação devido à alta temperatura do sistema e estas perdas foram compensadas, diariamente, pela adição de água destilada. Nos experimentos sem adição de micro-organismos (controle), timol e ácido cítrico foram utilizados como bactericida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na maioria dos processos de lixiviação de sulfetos secundários de cobre ocorre recirculação de soluções. De maneira geral, a solução rica em cobre (PLS- *pregnant leach solution*), proveniente da etapa de lixiviação, é purificada, isto é, o metal de interesse é extraído da mesma, e a solução (*barren solution*) é reutilizada no processo (Petersen e Dixon, 2007). Quando micro-organismos estão envolvidos na lixiviação (biolixiviação), a recirculação de soluções pode diminuir a atividade microbiana e, conseqüentemente, a eficiência do processo. A diminuição da atividade microbiana está relacionada ao acúmulo de elementos químicos, dissolvidos a partir dos minérios/concentrados, em solução (van Aswegen *et al.*, 2007; Ojumu *et al.*, 2008).

Alguns elementos, como flúor, cloro e arsênio são tóxicos aos micro-organismos mesmo em concentrações relativamente baixas. Com a recirculação das soluções, a concentração desses elementos tende a aumentar, podendo inviabilizar a biolixiviação, se a atividade microbiana for totalmente inibida. Um trabalho realizado por Brierley & Kuhn (2010) atribuiu recuperações de cobre menores do que as esperadas, em pilhas de biolixiviação

de minérios contendo calcocita, na presença teores elevados de íons fluoreto em solução. Segundo os autores, as análises das amostras do PLS da pilha de biolixiviação mostraram que a concentração bacteriana diminuiu com o tempo e concentrações de fluoreto (15g.L^{-1}) superiores às reportadas na literatura como sendo inibidoras ao crescimento microbiano (38mg.L^{-1}) foram observadas. Dopson *et al.* (2008), também correlacionaram a extração de cobre com a presença de fluoreto. No trabalho citado, os autores testaram a biolixiviação em coluna de três diferentes minérios calcopiríticos associados a silicatos minerais contendo traços de flúor e observaram que a extração de cobre foi maior nos sistemas com menores concentrações de flúor na solução lixiviante.

Diferente dos íons fluoreto, os íons Al^{3+} e Mg^{2+} precisam estar em concentrações elevadas para que se tornem prejudiciais à atividade de microbiana. Segundo Ojumo *et al.*, (2008), que avaliaram o efeito de cátions dissolvidos na oxidação de ferro por *Leptospirillum ferriphilum*, quando concentrações de alumínio e magnésio, superiores a 10g.L^{-1} , foram adicionadas ao sistema, pôde-se observar que tanto a velocidade específica de crescimento microbiano quanto a velocidade de oxidação de íons ferrosos foram diminuídas, indicando que a atividade microbiana foi prejudicada pela elevada concentração dos cátions. A literatura reporta que soluções provenientes de operações industriais de biolixiviação em pilhas de calcocita, por exemplo, podem conter elevadas concentrações Al^{3+} e Mg^{2+} (Petersen e Dixon, 2007). Logo, o efeito da concentração de cátions deve ser levado em consideração quando se estuda os processos de biolixiviação, sobretudo se esses forem realizados em temperatura elevada, pois sabidamente o aumento da temperatura favorece não só a dissolução dos metais interesse como também a dos elementos presentes na ganga.

A Figura 1 mostra o efeito da adição de diferentes concentrações de Al^{3+} na extração de cobre com tempo. Já na Figura 2 está apresentado o efeito da adição de diferentes concentrações de Mg^{2+} . Na Figura 1(a), que se refere aos experimentos na presença de micro-organismos, pode-se observar que tanto a extração final de cobre quanto a cinética de extração foram favorecidas pela adição de alumínio ao sistema. Porém, os resultados também sugerem que concentrações elevadas de Al^{3+} (10g.L^{-1}) podem prejudicar a cinética de extração do cobre. Na Figura 2(b), que se refere aos experimentos na ausência de micro-organismos, observa-se que a adição de Al^{3+} ao sistema praticamente não afetou a extração de cobre.

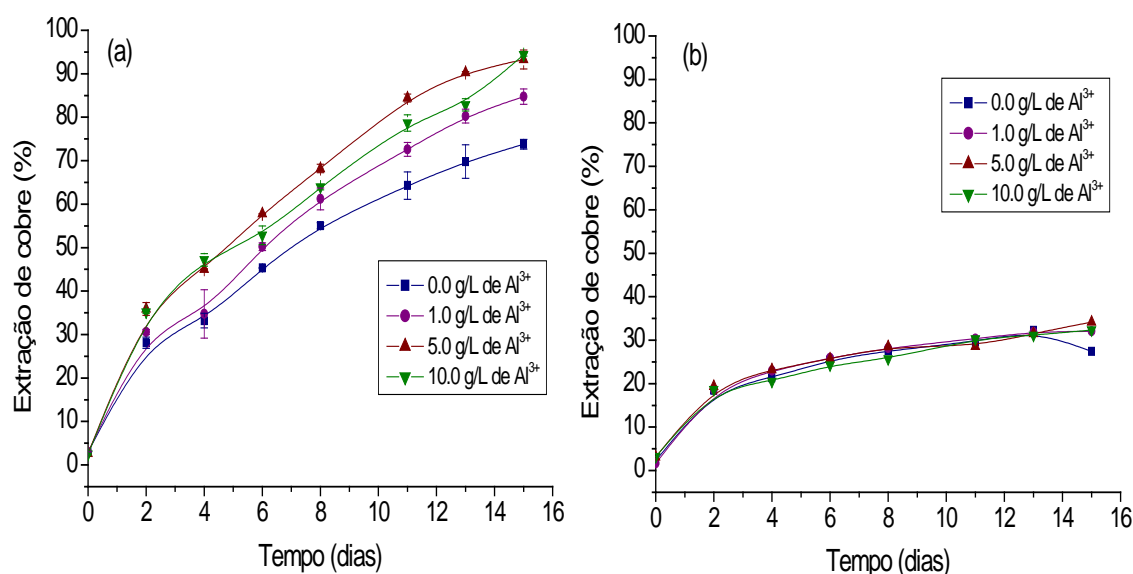


Figura 27: Extração de cobre com o tempo em diferentes concentrações de Al³⁺ na presença de micro-organismos (a) e em ambiente estéril (b). Condições experimentais: densidade de polpa 2,5% (m/V), pH=1,75, temperatura 67,5°C, agitação 150min⁻¹, meio de cultura DSMZ 88, [Fe total]_{média} = 1,88g/L.

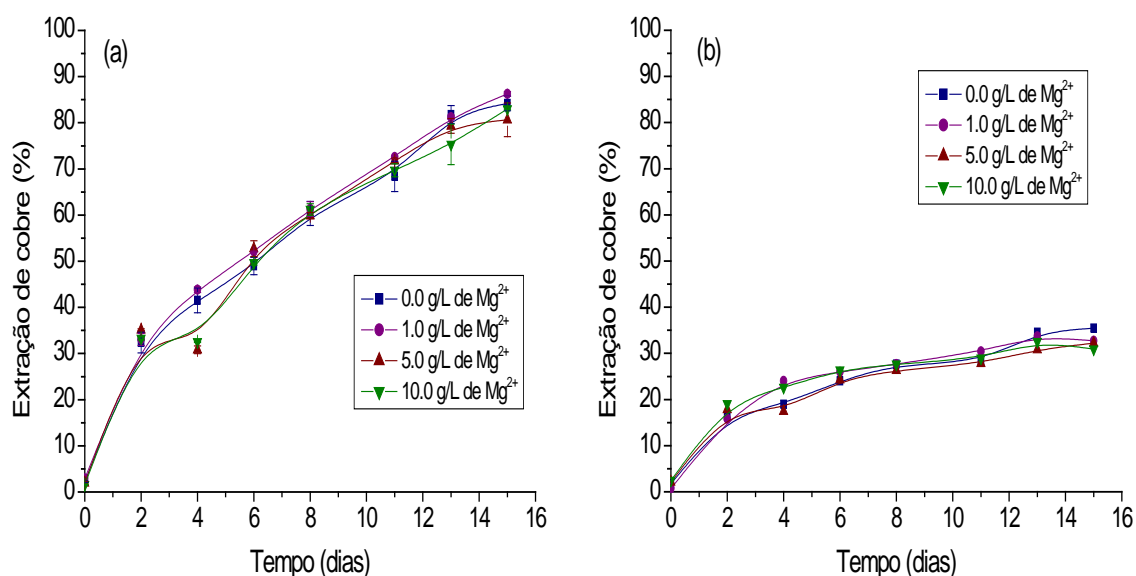


Figura 28: Extração de cobre com o tempo em diferentes concentrações de Mg²⁺ na presença de micro-organismos (a) e em ambiente estéril (b). Condições experimentais: densidade de polpa 2,5% (m/V), 1,0g/L de Al³⁺, pH=1,75, temperatura 67,5°C, agitação 150min⁻¹, meio de cultura DSMZ 88, [Fe total]_{média} = 1,91g/L.

O efeito benéfico da adição de Al³⁺ na extração de cobre nos sistemas contendo micro-organismos está relacionado com a dissolução de fluoreto a partir das amostras de sulfetos secundários utilizadas nos experimentos. Ensaio preliminares de biolixiviação mostraram que concentrações de flúor de 0,73g.L⁻¹ podem ser observadas na solução após uma semana de

experimento. Os íons fluoretos, após serem dissolvidos do concentrado, são protonados e formam ácido fluorídrico (HF), pois o pH da solução de biolixiviação (pH=1,75) é menor que o pK_a do ácido fluorídrico ($pK_a=3,2$, a 25°C e $I \rightarrow 0$). As moléculas de HF, por serem pequenas e não possuírem carga elétrica, são capazes de permear a membrana celular (Gunneriusson *et al.*, 2009). No interior das células, essas moléculas se dissociam para formar H^+ e F^- , pois o pH citoplasmático ou intracelular é aproximadamente sete, fato que favorece o gradiente de concentração de ácido fluorídrico para o interior da célula (Sundkvist *et al.*, 2005). O acúmulo de ácido fluorídrico no interior das células é tóxico às mesmas por dois motivos: (i) causam acidificação do citoplasma pela liberação de H^+ , afetando a atividade enzimática, a velocidade das reações, a estrutura dos ácidos nucleicos, entre outros fatores (Slonczewski *et al.*, 2009) e (ii) elevam a concentração de anions F^- , que são capazes de formar fortes ligações com diversas enzimas e outras proteínas, inibindo a atividade das mesmas (Marquis *et al.*, 2003). Ao se adicionar alumínio ao sistema, a toxicidade do flúor é diminuída, pois o alumínio forma complexos estáveis com o flúor em solução diminuindo a quantidade de HF no meio (Sicupira *et al.*, 2010).

O fato da cinética de extração de cobre ser ligeiramente diminuída ao se adicionar 10g.L^{-1} de Al^{3+} ao sistema deve-se ao aumento da força iônica da solução, ocasionado pela elevada concentração de íons na mesma. A força iônica tende a impor uma carga energética maior nas células devido ao gradiente osmótico existente entre os meios extra e intracelulares (Suzuki *et al.*, 1999; Blight e Ralph, 2004; Ojumu *et al.*, 2008). Além disso, a presença de cátions em solução diminui a atividade de água, o que pode afetar o crescimento dos micro-organismos (Theys *et al.*, 2008). A diminuição da atividade da água está relacionada com o processo de hidratação dos íons presentes em solução.

Nos experimentos realizados em diferentes concentrações de Mg^{2+} , apresentado na Figura 2, observa-se que a cinética de extração de cobre praticamente não foi afetada pela adição de magnésio nem nos ensaios bióticos (Figura 2(a)) nem nos abióticos (Figuras 2(b)). A presença de íons Mg^{2+} nos sistemas contendo micro-organismos é indispensável para o crescimento dos mesmos, tanto que o sulfato de magnésio é um dos componentes do meio de cultura utilizado nos experimentos realizados; isto porque, os íons Mg^{2+} são necessários para manter a estabilidade de membranas e enzimas através de forças eletrostáticas. Entretanto, concentrações de Mg^{2+} elevadas, assim como no caso alumínio, podem aumentar, excessivamente, a força iônica e diminuir a atividade da água, podendo ser prejudiciais aos micro-organismos (Ojumu *et al.*, 2008; Qin *et al.*, 2009; Zhen *et al.*, 2009). Contudo, diferentemente do comportamento observado ao se adicionar 10g.L^{-1} de Al^{3+} nos sistemas de biolixiviação, a adição de 10g.L^{-1} de Mg^{2+} praticamente não afetou a cinética de extração do metal. Uma explicação para tal pode estar no fato do aumento da força iônica ocasionado pela adição de alumínio ser maior do que o ocasionado pela adição de magnésio.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho mostram dois fatos importantes a respeito da concentração de Al^{3+} e Mg^{2+} nos sistemas de biolixiviação de sulfetos secundários com *Sulfolobus acidocaldarius*: (i) a concentração de alumínio na solução de biolixiviação deve ser mantida entre 5g.L^{-1} e 10g.L^{-1} para que a cinética de extração de cobre a partir dos sulfetos secundários utilizados seja favorecida e (ii) o Mg^{2+} em concentrações de até 10g.L^{-1} praticamente não afeta a extração de cobre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blight, K. R. e Ralph, D. E. (2004). "Effect of ionic strength on iron oxidation with batch cultures of chemolithotrophic bacteria." *Hydrometallurgy* 73(3-4): 325-334.
- Brierley, J. A. e Kuhn, M. C. (2010). "Fluoride toxicity in a chalcocite bioleach heap process." *Hydrometallurgy* 104(3-4): 410-413.
- Dopson, M., Halien, A., Rahunen, N. e Boström, D. (2008). "Silicate Mineral Dissolution During Heap Bioleaching." *Biotechnology and Bioengineering* 99(4): 811-820.
- Dopson, M., Lövgren, L. e Boström, D. (2009). "Silicate mineral dissolution in the presence of acidophilic microorganisms: Implications for heap bioleaching." *Hydrometallurgy* 96(4): 288-293.
- du Plessis, C. A., Batty, J. D. e Dew, D. W. (2007). *Commercial Applications of Thermophile Bioleaching*. Bioming. Rawling, D. E. e Johnson, D. B. Berlin, Springer: 57-78.
- Gunneriusson, L., Sandström, Å., Holmgren, A., Kuzmann, E., Kovacs, K. e Vértés, A. (2009). "Jarosite inclusion of fluoride and its potential significance to bioleaching of sulphide minerals." *Hydrometallurgy* 96(1-2): 108-116.
- Hawkes, R. B., Franzmann, P. D. e Plumb, J. J. (2006). "Moderate thermophiles including *Ferroplasma cupricumulans* sp. nov. dominate an industrial-scale chalcocite heap bioleaching operation." *Hydrometallurgy* 83(1-4): 229-236.
- Marquis, R. E., Clock, S. A. e Mota-Meira, M. (2003). "Fluoride and organic weak acids as modulators of microbial physiology." *FEMS Microbiology Reviews* 26(5): 493-510.
- Nurmi, P., Özkaya, B., Kaksonen, A. H., Tuovinen, O. H. e Puhakka, J. A. (2009). "Inhibition kinetics of iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in the presence of ferric, nickel and zinc ions." *Hydrometallurgy* 97(3-4): 137-145.
- Ojumu, T. V., Petersen, J. e Hansford, G. S. (2008). "The effect of dissolved cations on microbial ferrous-iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in continuous culture." *Hydrometallurgy* 94(1-4): 69-76.
- Petersen, J. e Dixon, D. G. (2007). *Principles, mechanisms and dynamics of chalcocite heap bioleaching*. *Microbial Processing of Metal Sulfides*. Donati, E. R. e Sand, W. Dordrecht, Springer: 193-218.
- Pina, P. S., Leão, V. A., Silva, C. A., Medírcio, S. N. e Frenay, J. (2007). "Kinetics of ferrous iron oxidation by moderately thermophilic microorganisms." *Advanced Materials Research* 20-21: 517-520.
- Plumb, J. J., McSweeney, N. J. e Franzmann, P. D. (2008). "Growth and activity of pure and mixed bioleaching strains on low grade chalcopyrite ore." *Minerals Engineering* 21(1): 93-99.
- Qin, W., Zhen, S., Yan, Z., Campbell, M., Wang, J., Liu, K. e Zhang, Y. (2009). "Heap bioleaching of a low-grade nickel-bearing sulfide ore containing high levels of magnesium as olivine, chlorite and antigorite." *Hydrometallurgy* 98(1-2): 58-65.

Rubio, A. e García Frutos, F. J. (2002). "Bioleaching capacity of an extremely thermophilic culture for chalcopyrite materials." *Minerals Engineering* 15: 689-694.

Sicupira, L., C., Veloso, T., C., Rodrigues, I., C., B., Oliveira, V., A., Leão, V., A. (2010). Fluoride ion effects on the kinetics of ferrous iron oxidation by *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. 5th International Symposium on Bio-&Hydrometallurgy (BioHydromet '10), Cape Town, South Africa.

Sicupira, L. C. (2011). Biolixiviação de Sulfetos Secundários de Cobre por *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. *Materials Engineering*. Ouro Preto, Brazil, Federal University of Ouro Preto: 100.

Slonczewski, J. L., Fujisawa, M., Dopson, M., Krulwich, T. A. e Robert, K. P. (2009). Cytoplasmic pH Measurement and Homeostasis in Bacteria and Archaea. *Advances in Microbial Physiology*, Academic Press. Volume 55: 1-79, 317.

Sundkvist, J. E., Sandström, A., Gunneriusson, L. e Lindström, E. B. (2005). Fluorine Toxicity in Bioleaching Systems. 16th International Biohydrometallurgy Symposium, Cape Town, South Africa.

Suzuki, I., Lee, D., Mackay, B., Harahuc, L. e Key-Oh, J. (1999). "Effect of various ions, pH, and osmotic pressure on oxidation of elemental sulfur by *Thiobacillus thiooxidans*." *Applied and Environmental Microbiology* 65(11): 5163-5168.

Theys, T. E., Geeraerd, A. H., Verhulst, A., Poot, K., Van Bree, I., Devlieghere, F., Moldenaers, P., Wilson, D., Brocklehurst, T. e Van Impe, J. F. (2008). "Effect of pH, water activity and gel micro-structure, including oxygen profiles and rheological characterization, on the growth kinetics of *Salmonella Typhimurium*." *International Journal of Food Microbiology* 128(1): 67-77.

van Aswegen, P. C., van Niekerk, J. e Olivier, W. (2007). The BIOX™ Process for the Treatment of Refractory Gold Concentrates. *Biomining*. Rawling, D. E. e Johnson, D. B. Berlin, Springer: 1-33.

Viera, M., Poligani, C. e Donati, E. (2007). Recovery of zinc, nickel, cobalt and other metals by bioleaching. *Microbial Processing of Metal Sulfides*. Donati, E. e Sand, W. Dordrecht, Springer: 103-129.

Watling, H. R. (2008). "The bioleaching of nickel-copper sulfides." *Hydrometallurgy* 91(1-4): 70-88.

Watling, H. R., Perrot, F. A. e Shiers, D. W. (2008). "Comparison of selected characteristics of *Sulfobacillus* species and review of their occurrence in acidic and bioleaching environments." *Hydrometallurgy* 93(1-2): 57-65.

Zhen, S., Yan, Z., Zhang, Y., Wang, J., Campbell, M. e Qin, W. (2009). "Column bioleaching of a low grade nickel-bearing sulfide ore containing high magnesium as olivine, chlorite and antigorite." *Hydrometallurgy* 96(4): 337-341.