

# AÇÃO DE BACTÉRIAS ACIDÓFILAS NA REMOÇÃO DE FERRO DE UM MINÉRIO REFRAATÁRIO

Gerson L. Miltzarek, Gelsa Edith Navarro Hidalgo & Carlos H. Sampaio

Departamento de Engenharia Metalúrgica - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Laboratório de Processamento Mineral  
Av. Bento Gonçalves, 9500. Bairro Agronomia. Porto Alegre - RS Tel (51) 3308 7103, fax (51) 3308 7116  
E-mail: gelsaedith@ufrgs.br

## RESUMO

Ensaio de imersão de bancada foram realizados para avaliar a capacidade de remoção de ferro de um minério refratário por microrganismos acidófilos aeróbicos autotróficos. Os ensaios foram realizados à temperatura de 30°C, sob agitação. Foram utilizados nestes ensaios 5 g de minério moído a - 0,074 mm, na ausência e na presença de bactérias provenientes de uma drenagem ácida de mina DAM. Para o cultivo das bactérias foi utilizado o meio 9K contendo sais minerais, como sulfato de magnésio, sulfato ferroso, sulfato de amônio e cloreto de cálcio, a um pH = 2,0. Um segundo meio de cultura conhecido, meio de Morris, foi também utilizado para cultivar prováveis bactérias termófilas, no mesmo valor de pH. Nestes ensaios, foram adicionadas ao minério esterilizado soluções líquidas de DAM esterilizada ou não, DAM com e sem nutrientes, nutrientes com e sem adição de DAM e água destilada, os líquidos estando contidos em frascos tipo erlenmeyer. A concentração de ferro inicialmente presente na drenagem ácida contendo as bactérias era de aproximadamente 6000 ppm. Todo o processo de esterilização foi realizado em autoclave a 121°C e 1 atm de pressão durante 15 minutos. Para efeito de acompanhamento da remoção de ferro promovida pela atividade bacteriana, a concentração do mesmo foi detectada em intervalos de tempo por titulação. Após um período de ensaio se observou que a concentração de Fe<sup>3+</sup> em solução aumentava enquanto que a do Fe<sup>2+</sup> diminuía. Após a exaustão de Fe<sup>2+</sup> uma porção do minério foi enviada para caracterização por difração de raios-X. Os resultados deste trabalho mostraram que o processo bacteriano participa na dissolução do ferro muito provavelmente através do material exopolímero. Paralelamente as bactérias termófilas parecem estar presentes juntamente com as mesófilas tendo uma atuação discreta na remoção de ferro.

**PALAVRAS-CHAVE:** biolixiviação, acidithiobacillus, minério refratário, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, exopolímeros.

## ABSTRACT

Acidophilic microorganisms were placed in aqueous system jointly with specific refractory mineral. Such microorganisms are aerobic and autotrophic and the species are probably *Acidithiobacillus ferrooxidans* normally founded in Acid Drainage from Mine ADM. Experiments with ADM were conducted at 30°C with constant stirring where 5 g of grounded mineral (- 0,074 mm) was added. The liquid solution was taken from ADM site localized close to Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Culture media 9K (MgSO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub>, FeSO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub> at pH=2,0) was used to replicate bacteria and the Morris media was used to growing the suspected thermophilic bacteria. The experiments were realized using the:ADM sterilized with 10 mL of nutrients, ADM no sterilized with nutrients, ADM no sterilized, nutrients with 10 mL of ADM, only nutrients, sterilized ADM and water as blank. The results showed that microorganisms have a critical role in leaching iron from mineral, probably through extrapolyssacarides. At the same time thermophilic bacteria seems to participate in iron leaching but in lesser extension than mesophilic bacteria.

**KEY WORDS:** bioleaching, acidithiobacillus, refractory mineral, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, exopolymers.

## 1. INTRODUÇÃO

O processo conhecido como biolixiviação é simples, efetivo e é usado na extração de metais de minérios de baixo teor. O efeito dos microrganismos quimiolitotróficos tais como o *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans* recai na solubilização de sulfetos metálicos que são transformados em sulfatos metálicos (1). Contudo os mecanismos que conduzem a esta solubilização das superfícies sólidas é um assunto complexo e de difícil resposta direta. Os motivos para um não consenso são evidentes, visto existir uma diversidade de reações químicas e biológicas nos sistemas das drenagens ácidas de minas – DAM –, que se constitui no habitat onde frequentemente são encontradas as espécies de bactérias mencionadas. Quanto às espécies biológicas que são capazes de se replicar em meios ácidos, podem encontrar-se bactérias mesófilas e termófilas que ao se reproduzirem, como todos os microrganismos, sintetizam produtos poliméricos que são capazes de interferir nas reações químicas que aí se processam. É reconhecido que a ação bacteriana pode obedecer a certos mecanismos como o de uma ação direta sobre certas espécies sólidas, assim como de uma forma indireta. Os defensores do primeiro mecanismo argumentam que a bactéria possui um mecanismo biológico específico para degradar o mineral e por isso ganharia energia diretamente do mineral. Por outro lado, os defensores do método indireto sustentam que são os íons férricos em solução que dissolvem o mineral, e que as bactérias ganhariam a sua energia ao regenerar os íons férricos. O mecanismo indireto de fato ocorre, mas é contestado pelos opositores a este mecanismo ao argumentarem que esta não seria a única via que o processo como um todo segue. Surge então a idéia de que as controvérsias poderiam ser esclarecidas pelo estudo da cinética dos processos (3). Com estas idéias em mente devem ser levados em consideração a parcela eletroquímica que podem ocorrer em tais meios tais como a redução de oxigênio, sempre presente visto que os microrganismos são aeróbios assim como a do hidrogênio, já que as bactérias se reproduzem em ambientes extremamente ácidos. A este respeito os autores acreditam que a reação catódica mais importante seria a de redução de hidrogênio dada a sua alta concentração nos meios nutritivos para o desenvolvimento das bactérias acidófilas e também na DAM. Contudo uma contribuição fisiológica importante deve ser debatida: a produção bacteriana de material extra polimérico (EPS). Segundo Gehrke et al, o EPS seria a peça intermediária que facilitaria o contato entre a célula bacteriana e a fonte de energia sulfídica, constituindo-se em peça fundamental na interação entre o filme orgânico formado e o substrato bacteriano (4). Aparentemente as funções de tais produtos extracelulares estão relacionadas com: a) intermediação da aderência das bactérias às superfícies sólidas (metal ou sulfeto metálico) e b) à concentração de ferro III que seria complexado por ácidos urônicos ou outros resíduos na superfície mineral (2). Neste trabalho foi avaliada a tendência que bactérias acidófilas tem para remover ferro de um minério refratário a pH ácido em meio arejado e com agitação mecânica.

## 2. METODOLOGIA E RESULTADOS

Foi escolhido um minério refratário que continha ferro e ouro, este em baixa concentração. Esta parte do trabalho é dedicada à avaliação da remoção do ferro e em estudo futuro será avaliada a extração de ouro deste minério por cianeto. O minério em avaliação é composto por ilita, caolinita, anidrita, quartzo, plagioclásio, piroxênio e siderita entre os minerais mais evidentes, como se mostra no espectro de difração de raios-X na Figura 1. O minério foi moído até a  $-0,074$  mm do qual foi separada uma quantidade de 5 g para ser colocada em contato com soluções diferenciadas, e em duplicata, com meios aquosos contendo nutrientes para bactérias e com drenagem ácida de minas. Foi avaliada a viabilidade das bactérias mesófilas e termófilas em meios de cultura específicos. Para as bactérias mesófilas o meio de cultura era formado por 0,51 g/L de sulfato de magnésio hepta hidratado, sulfato de amônio 3,0 g/L, 44,8g/L de sulfato ferroso hepta hidratado, 0,1 g/L de cloreto de potássio e 0,5 g/L de hidrogênio fosfato de potássio. O pH de todos os ensaios foi ajustado com HCl até um valor de  $\sim 2,0$ . Os recipientes (erlenmayer) foram incubados em estufa bacteriológica a 30°C durante 15 dias. O meio de Morris que foi utilizado para a detecção de bactérias termófilas é constituído dos mesmos reagentes que o meio 9K, porém diluídos 100 vezes, os recipientes também foram incubados durante 15 dias a 55°C. O número de bactérias não foi estimado, restringindo-se apenas a testar a sua viabilidade. As bactérias que foram isoladas de uma DAM mostraram um resultado positivo ao crescer em meio 9k. As bactérias presentes na DAM devem estar na fase de igualdade de crescimento e morte das bactérias, visto que o líquido ácido já tinha pelo menos dois meses de ter sido coletado. Ao ser adicionadas as alíquotas da DAM aos frascos com o minério houve uma diluição do número das bactérias num fator de 100. Na Figura 2 podem ser vistos os tubos que mostram a viabilidade do desenvolvimento dos microrganismos. O material asséptico foi esterilizado em autoclave a 121°C durante 15 minutos. A determinação de  $Fe^{+3}$  e ferro total foi determinada por titulação utilizando o método de cromo de dicromatometria segundo o Standard Methods.(5). A concentração do  $Fe^{+3}$  foi obtida por diferença.

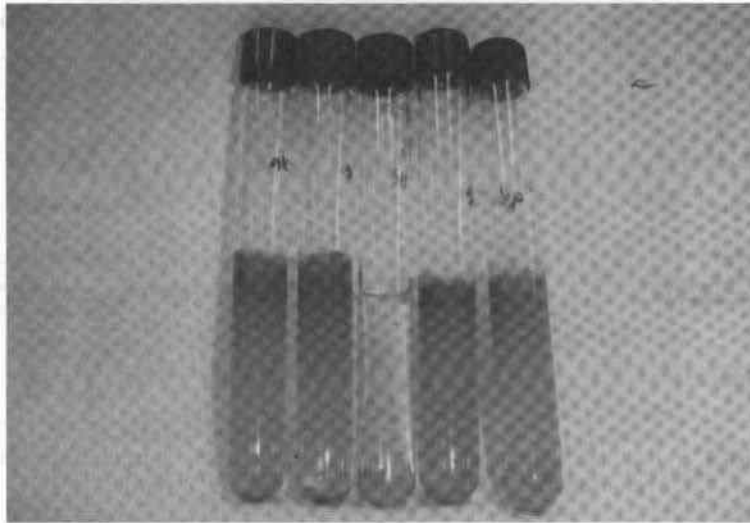


Figura 1. Tubos múltiplos de meio 9K mostrando a viabilidade marcante das bactérias mesófilas (tubos laterais)..

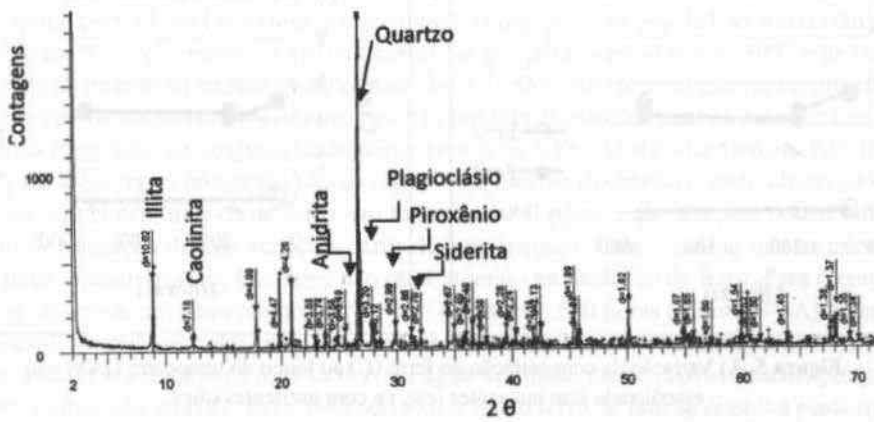


Figura 2. Difração de raios-X do minério refratário.

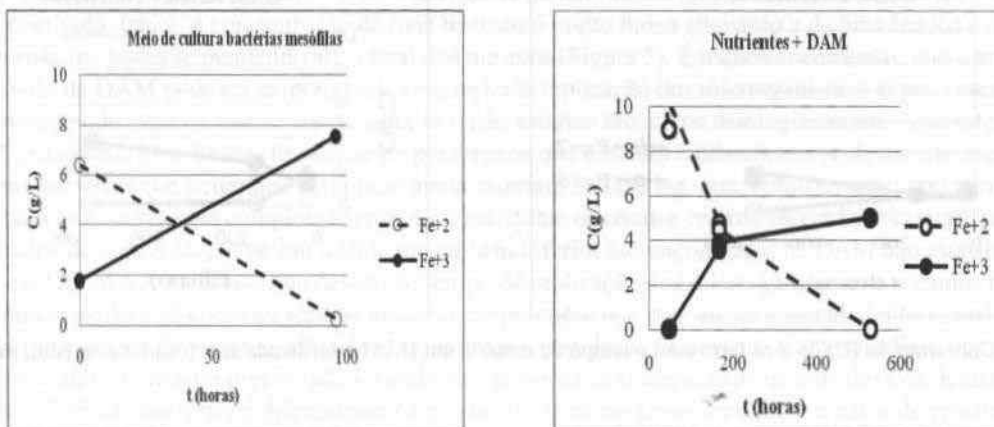


Figura 3. Variações das concentrações de  $Fe^{+2}$  e  $Fe^{+3}$  nos meios para bactérias mesófilas (esq.) a  $30^{\circ}C$  e termófilas (dir.) a  $55^{\circ}C$  presentes nos respectivos meios de cultura e ausência de minério.

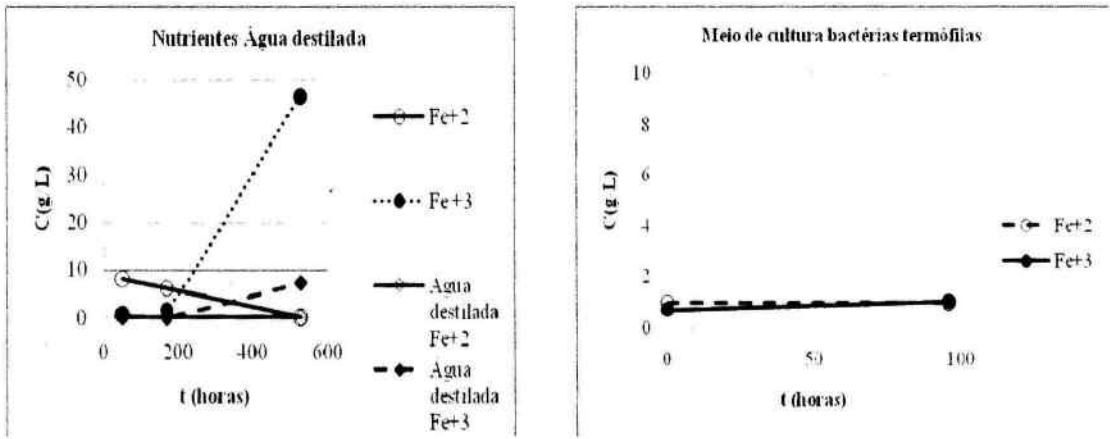


Figura 4. A) Resultados dos ensaios do minério em nutrientes e água destilada (esq.) e resultados dos mesmos ensaios com 10 mL de DAM (dir.).

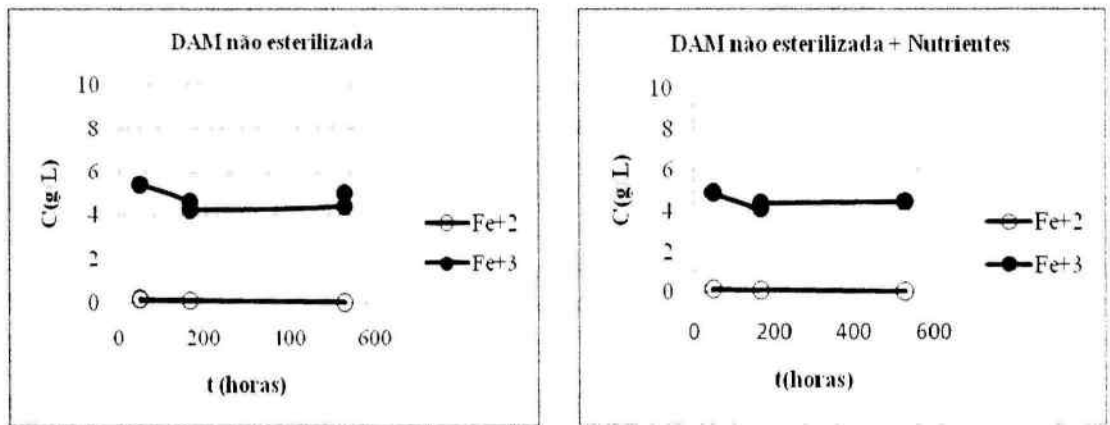


Figura 5. A) Variação da concentração do ferro (C) ao longo do tempo em DAM não esterilizada sem nutrientes (esq.) e com nutrientes (dir.).

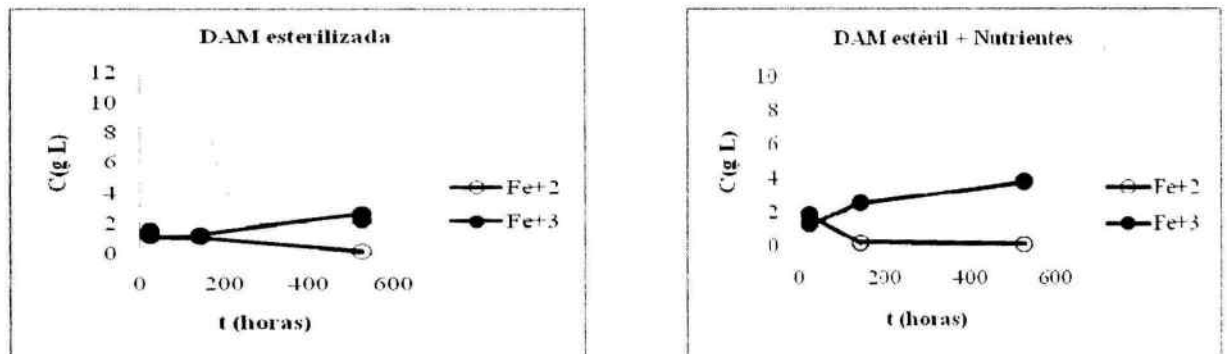


Figura 7. Concentração (C) de íons ferro com o tempo do minério em DAM esterilizada sem (esq.) e com (dir.) nutrientes.

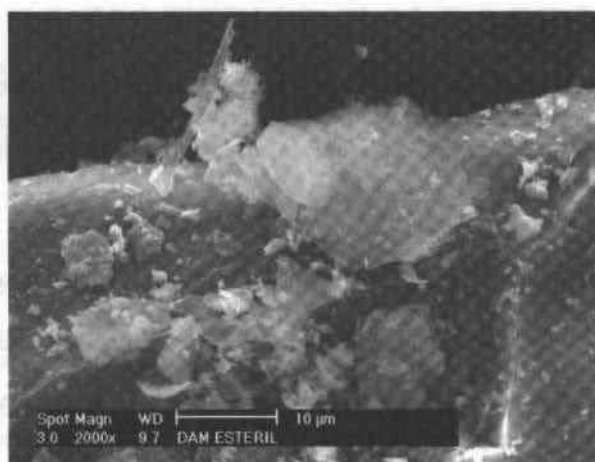


Figura 8. Minério em contato com DAM esterilizada mais nutrientes.

### 3- DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

As bactérias presentes em líquidos como a DAM podem ser mesófilas ou termófilas. Os ensaios que foram realizados neste trabalho com a DAM in natura, parecem indicar que os dois tipos de bactérias estão presentes, como se observou na Figura N°1. No entanto como os ensaios foram todos efetuados a  $T=30^{\circ}\text{C}$  e as bactérias termófilas têm o seu desenvolvimento otimizado quando mantidas a  $T=55^{\circ}\text{C}$ , se constata que foi favorecido o desenvolvimento do primeiro tipo de bactéria. Observou-se que há uma transformação química completa, no meio de cultura livre de bactérias mesófilas, na ausência de minério, pois todo o  $\text{Fe}^{2+}$  se transformou em  $\text{Fe}^{3+}$  (Figura N°3). No meio de cultura para as bactérias termófilas não se observou o mesmo desenvolvimento observado, tendo-se notado uma linearidade nas concentrações de ferro, em torno de 1000 ppm, o que denotou pouca influência do meio ao favorecimento da formação de íons férrico a partir de íons ferrosos. Cabe ressaltar que os microrganismos termófilos podem ainda encontrar-se na fase lag e não estar atuando na oxidação de ferro. Para o conjunto minério + meio de cultura se observou um aumento no teor de  $\text{Fe}^{3+}$  ao final de 550 horas (Figura N°4A). Como estes ensaios continham o minério, se atribuiu a este uma forte contribuição para a concentração final de íons férrico. No mesmo gráfico pode notar-se o aumento de íons férrico em água destilada, muito provavelmente porque o meio aquoso estava também acidificado a  $\text{pH}=2$ . Este resultado indica que o ferro de fato se dissolve neste meio de cultura e na água destilada, desde que o pH seja ácido. Com a finalidade de verificar qual seria o impacto das bactérias sobre o minério foi adicionado além do meio nutritivo, uma alíquota de 10 mL de DAM. O que se mostrou foi um rápido declínio da concentração de íons ferroso, e o aparecimento de íons férrico. No entanto, a diferença dos resultados vistos na Figura 3, todo o íon ferroso não foi detectado como íon férrico, e o que se observa é uma concentração limite de íons férrico, que chega à metade da concentração inicial dos íons ferrosos, (Figura 4B). Ensaios com a DAM in natura e a adição de minério, sendo esterilizada ou não, com a adição de nutrientes, ou não, se observou o mesmo resultado, isto é, a concentração de íons ferrosos é muito baixa enquanto a de íons férrico é alta desde o início dos ensaios, assim se mantendo até o final dos mesmos (Figura 5). É menester comentar, que o tempo de coleta do líquido da DAM pode ser responsável por uma lenta replicação dos microrganismos aí presentes. O seu desenvolvimento pode estar na fase de morte e por isso não estarem tão ativos fisiologicamente. Aparentemente nem a adição de caldo nutritivo fresco, foi suficiente para que os que estayam ainda viáveis se desenvolvessem. Acredita-se que as bactérias que poderiam se replicar ainda estariam na fase lag, que, como se sabe, pode levar um tempo longo para que ocorra uma completa adaptação. Finalmente os ensaios realizados em DAM esterilizada mostraram resultados de concentração de íon férrico inicial bem inferior aos encontrados na DAM não esterilizada como se mostra na Figura 6. Acredita-se que devido ao tempo de replicação dos microrganismos os mesmos tenham sintetizado uma considerável concentração de material exopolimérico, e que, ao ser aquecido tenha ocorrido a desnaturação das proteínas nele presente, além de eliminar toda a população bacteriana. Com este efeito do calor os produtos desnaturados podem ter precipitado levando na sua matriz uma quantidade de íons férricos. Kinzler et al. sugerem que o EPS das bactérias é diferentemente produzido se as bactérias crescerem a partir de enxofre, pirita ou sulfato (3). Tais autores mencionam no seu artigo que tanto ácidos urônicos tanto íons férrico podem ser incorporados no seu EPS. Na Figura N°8 pode ser visto uma imagem do minério dos ensaios com DAM estéril, onde se observam formas que lembram "retalhos", comumente utilizado na língua inglesa como "patchy", e é decorrente da ação metabólica dos microrganismos. O aumento da concentração de íons férrico observado nos ensaios com a DAM estéril pode estar associado, neste caso, à dissolução do minério na solução de DAM estéril de pH ácido.

## 5- CONCLUSÕES

- 1- Na DAM avaliada os microrganismos atuantes na oxidação do ferro são bactérias mesófilas.
- 2- A esterilização da DAM muda a concentração de íons férricos e ferrosos da fase líquida.
- 3- O ferro presente no minério é passível de dissolução em meio nutritivo a pH ácido.

## 6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-Klaus Bosecker. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. FEMS Microbiology Reviews 20 (1997) 591-604.
- 2-Kinzler, K., Gehrke, T.; Telegdi, J.; Sand, W. (2003). Bioleaching- a result of interfacial processes caused by extracellular polymeric substances (EPS). J. Hydrometallurgy 71(2003) 83-88.
- 3-Crundwell, F.K. How do bacteria interact with minerals? Hydrometallurgy 71(2003) 75-81
- 4-Gehrke Tilman, Telegdi Judit, Thierry Dominique and Wolfgang Sand. Importance of extracellular polymeric substances from *Thiobacillus ferrooxidans* for bioleaching. Applied and Environmental microbiology, july 1998, vol.64, No.7, p.2743-2747
- 5-APHA-AWWA-WEF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 2005, American Public Health Association, Washington D.C.