

UTILIZAÇÃO DE *ACIDITHIOBACILLUS* SPP E *LEPTOSPIRILLUM FERROOXIDANS* NA EXTRAÇÃO DE COBRE DE MINÉRIO PRIMÁRIO EM MEIO SUPLEMENTADO COM TENSOATIVO BIOLÓGICO

D. M. de Oliveira¹, L. G. S. Sobral¹, C.E.G. Souza, ²E.F.C. Sérvulo, G. H. C. Peixoto¹

¹Centro de Tecnologia Mineral, Ministério da Ciência e Tecnologia

Av. Pedro Calmon, 900, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ, 21941-908.

e-mail: dmonteiro@cetem.gov.br, lsobral@cetem.gov.br, csouza@cetem.gov.br, gpeixoto@cetem.gov.br

²Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Athos da Silveira Ramos, 149, Ilha do Fundão
Rio de Janeiro, Brasil, 21941-909. email: eliana@ufrj.br

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 o tensoativo biológico ramnolipídeo. Preliminarmente, foram realizados experimentos para verificar a toxicidade do tensoativo aos cultivos nos quais os micro-organismos cresceram em meio suplementado com o referido agente. Após verificar que até 100 mg/L de tensoativo não ocorreu inibição do crescimento microbiano, foram realizados experimentos de biolixiviação em frascos agitados baseados em um planejamento fatorial completo 2² com ponto central. Nesses experimentos verificou-se que a concentração de tensoativo e a densidade celular influenciam a extração de cobre pelos micro-organismos estudados. A fim de definir a concentração adequada de tensoativo, foram realizados novos experimentos para 5, 10 e 20 mg/L, em função da tendência definida no planejamento experimental. Nessa 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 64,6%, alcançado após 28 dias de processo em meio suplementado com 5 mg/L de tensoativo. Adicionalmente, foram realizadas medidas de potencial da calcopirita para averiguar o comportamento superficial desse mineral quando em contato com a lixívia ácida contendo íons Cu²⁺, Fe²⁺ e Fe³⁺ na presença de tensoativo nas mesmas concentrações utilizadas nos experimentos de biolixiviação. Foi observado que em 5 mg/L o tensoativo torna a superfície da calcopirita mais hidrofílica e, conseqüentemente, mais susceptível ao ataque oxidativo. Entretanto, o aumento gradativo das concentrações do tensoativo acarretou o mascaramento dos sítios ativos da calcopirita promovendo decréscimos na extração de cobre.

PALAVRAS-CHAVE: biolixiviação; *Acidithiobacillus*; *Leptospirillum*; calcopirita; cobre

1. INTRODUÇÃO

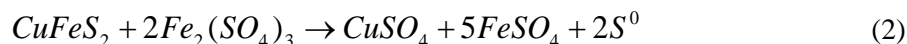
A biolixiviação de sulfetos minerais é hoje em dia reconhecida como um processo bastante promissor, seja sob ponto de vista econômico ou ambiental. Diante da crescente demanda por produtos de metais, é imperativo o desenvolvimento de métodos alternativos para a obtenção de metais a partir de minérios de baixo teor e/ou rejeito o que pelo processo convencional de extração (pirometalurgia) não seria economicamente viável, devido ao alto custo dessa técnica, resultante dos excessivos gastos de energia.

Os micro-organismos capazes de promover a lixiviação de sulfetos minerais são acidófilos, quimiolitotróficos (obtem energia a partir da oxidação de compostos inorgânicos), autotróficos (executam a biossíntese de todos os constituintes celulares utilizando o 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 - ~55° C) e termófilos extremos (~55 - ~80°C) (Shippers, 2007).

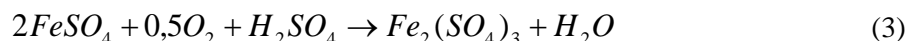
De acordo com Crundwell (2003) e Watling (2006), o processo de biolixiviação consiste de uma série de reações químicas e bioquímicas que solubilizam o metal a partir de dois mecanismos oxidativos que ocorrem simultaneamente em um sistema de lixiviação. No mecanismo de contato direto, o micro-organismo, aderido à superfície do mineral, realiza a sua dissolução por meio de reações envolvendo enzimas. No outro mecanismo, denominado “mecanismo indireto”, o mineral é oxidado quimicamente pelo íon férrico (Fe³⁺) e/ou por prótons (H⁺) presentes na solução, dependendo da configuração eletrônica do sulfeto. Durante a oxidação química do mineral, o íon férrico é transformado em íon ferroso (Fe²⁺). A função do micro-organismo, neste caso, é oxidar o íon ferroso a íon férrico, regenerando, desta forma, esse agente oxidante. Quando ocorre a formação de enxofre elementar (S⁰), o micro-organismo deve, também, oxidá-lo, impedindo que se forme uma barreira para a difusão do agente oxidante até a superfície do mineral, onde ocorre a reação de oxidação. A lixiviação da calcopirita (CuFeS₂), o sulfeto de cobre mais refratário encontrado na natureza, pode ser resumida conforme a Equação 1, a seguir.



O sulfato férrico produzido na reação 1 tem uma eficiente ação oxidativa sobre a calcopirita, solubilizando mais cobre (na forma de CuSO₄), conforme a Equação 2, abaixo.



Além do cobre, nota-se a formação de sulfato ferroso (FeSO₄) e enxofre elementar (S⁰), os quais são oxidados microbiologicamente à sulfato férrico e ácido sulfúrico, respectivamente (Equações 3 e 4).



De acordo com a constituição mineralógica do minério a ser biolixiviado, é possível que ocorra regiões hidrofóbicas que dificultam o acesso da solução lixivante (que contém micro-organismos e íons férricos) à superfície do sulfeto mineral de interesse. Por esta razão, a adição de surfatantes (tensoativos) nos experimentos de biolixiviação pode ser uma opção atraente, pois o tensoativo pode atuar na redução da tensão superficial da fase líquida promovendo uma melhoria das taxas de lixiviação devido ao maior contato entre a solução lixivante e a superfície do mineral. Além disso, o tensoativo pode promover um incremento na biodisponibilidade de enxofre elementar (S⁰), pois apresenta uma porção polar (hidrofílica) e outra apolar (hidrofóbica), sendo capaz de promover a dispersão de substâncias apolares (como, por exemplo, o S⁰) em meio líquido através da formação de micelas. Devido aos inconvenientes provocados pelo acúmulo de S⁰, gerado a partir da oxidação incompleta dos sulfetos minerais, alguns pesquisadores, à exemplo de Lan (2008) e Seidel (2000), têm utilizado surfatantes para acelerar sua oxidação durante o

processo de biolixiviação e conseqüentemente, aumentar a taxa de produção de ácido sulfúrico (H_2SO_4) no sistema reacional.

O objetivo deste trabalho é avaliar a influência do biosurfatante ramnolipídeo, na presença de bactérias mesófilas oxidantes de ferro e enxofre, na biolixiviação de um minério primário de cobre.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

1.2 Amostra mineral

A análise química realizada por espectrometria de absorção atômica revelou os teores dos metais majoritários da amostra do minério em estudo, a saber: Al (2,0 %), Co (380 mg/kg), Cu (3,0%), Mg (1,3%), Mo (0,1%) e Fe (18,1%). A caracterização da amostra por difratometria de raios-X (Figura 1) revelou, além da calcopirita, a presença de picos que correspondem às fases cristalinas dos minerais pirita, chamosita, biotita, quartzo, microclíneo, magnetita, labradorita, e ortoferrosilita.

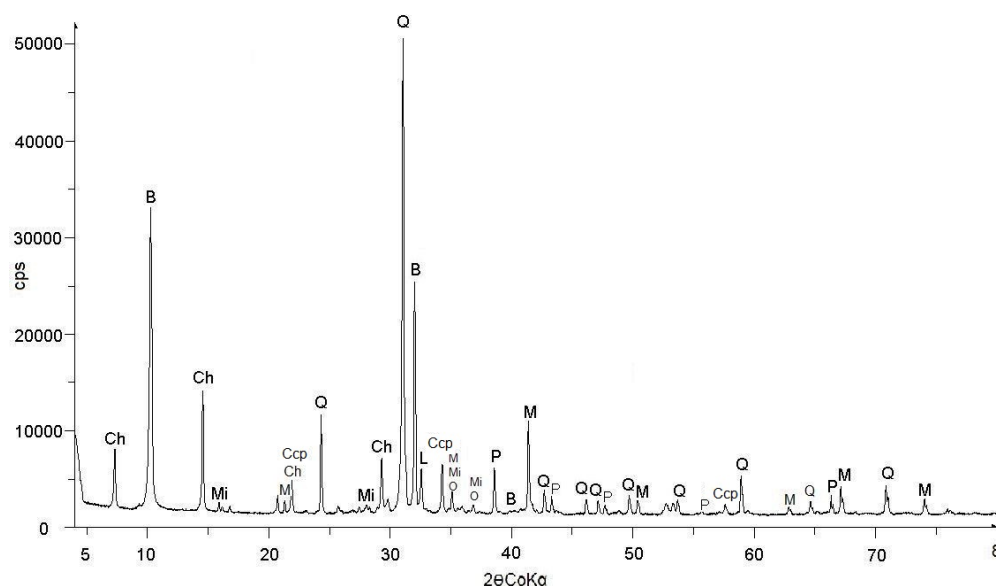


Figura 1. Difratometria de raios-X da amostra de minério primário utilizada nos experimentos de biolixiviação. Os picos seguem identificados como: Ccp (calcopirita); P (pirita); Ch (chamosita); B (biotita); Mi (microclíneo); M (Magnetita); Q (quartzo); L (Labradorita) e O (ortoferrosilita).

1.3 Micro-organismos e meio de cultura

Os micro-organismos *Acidithiobacillus ferrooxidans* (linhagem S), *Acidithiobacillus thiooxidans* (linhagem FG01) e *Leptospirillum ferrooxidans* (linhagem ATCC53992) utilizados nesse estudo foram cultivados em temperatura de 30°C, em mesa agitadora com rotação de 150 rpm, utilizando o meio de cultura 9K modificado (MALIK, 2001) com a seguinte composição: $(NH_4)_2SO_4$, 1,0 g/l; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 g/l; K_2HPO_4 , 0,5 g/l; como fonte energética foram utilizados $FeSO_4 \cdot 7H_2O$: 33,3 g/l nos cultivos de *A. ferrooxidans* e *L. ferrooxidans* e S^0 : 10 g/l para *A. thiooxidans*. O pH do meio de cultura foi ajustado (com H_2SO_4 5 M) para 2,8 para o cultivo de *A. thiooxidans* e 1,8 para o cultivo de *A. ferrooxidans*. O crescimento de *A. ferrooxidans* e *L. ferrooxidans* ocorreu após 2 dias sendo indicado pela oxidação total do Fe^{2+} , caracterizado pela mudança de coloração do cultivo, que variou de branco leitoso para vermelho-tijolo. O crescimento de *A. thiooxidans* ocorreu após 5 dias sendo indicado pelo valor de pH inferior a 1,0, alcançado pela oxidação do S^0 , com conseqüente geração de H_2SO_4 no meio de cultivo.

1.4 Experimentos de biolixiviação

Os experimentos foram conduzidos em frascos *erlenmeyers* de 500 ml contendo 100 ml de meio de cultura MKM (*Modified Kelly Medium*) numa diluição de 1:5 e 10 g de minério primário (densidade de polpa de 10% m/v). O meio de cultura teve seu pH ajustado para 1,8 com solução de H₂SO₄ 5M e possui a seguinte composição: (NH₄)SO₄: 0,4 g/l; MgSO₄ · 7H₂O: 0,4 g/l e KH₂PO₄: 0,04g/l.

Todos os ensaios foram conduzidos em triplicata e inoculados com as espécies bacterianas *A. ferrooxidans* (oxidante de Fe²⁺ e S⁰), *L. ferrooxidans* (oxidante de Fe²⁺) e *A. thiooxidans* (oxidante de S⁰), na ordem de 10⁶ células/mL de cada cultivo em cada frasco. A determinação do número de células foi realizada por contagem direta em câmara de *Thoma* em microscópio óptico com contraste de fase acoplado. O controle abiótico foi realizado com adição de formaldeído no sistema reacional. Foi adicionado o biossurfatante ramnolípídeo, de nome comercial JBR210 (surfatante aniônico), nas seguintes concentrações (0, 5, 10 e 20 mg/kg). Após a montagem dos sistemas, os frascos *Erlenmeyers* foram incubados em mesa agitadora a 150 rpm e 30±1°C por um período de 28 dias.

1.5 Análise Química

As medidas de pH e potencial de óxi-redução foram realizadas diretamente nos frascos *Erlenmeyers* com o aparelho *Analion pHmetro AN2000* micro-processado com a utilização de eletrodo combinado de vidro e eletrodo de Platina (contra Ag^o/AgCl), respectivamente. Os eletrodos foram previamente descontaminados por imersão em solução de formaldeído 5% v/v num período de 30 minutos. Os teores de cobre foram determinados por espectrometria de absorção atômica com chama com C₂H₂/ar no aparelho Spectra A 50B - VARIAN .

2. RESULTADOS

Houve a necessidade de realizar ajuste nos valores de pH, já que os micro-organismos empregados nos processos de biolixiviação são acidófilos, apresentando a faixa de 1,3 a 2,0 como sendo a mais adequada para a oxidação de sulfetos minerais. Além disso, segundo Daoud e Karamanev (2006), baixos valores de pH evitam a formação de oxi-hidróxidos férricos, cujas precipitações podem afetar, substancialmente a velocidade da lixiviação pela passivação da superfície do mineral, impedindo o acesso dos micro-organismos e íons férricos ao substrato. Os oxi-hidróxidos férricos são extremamente difíceis de serem dissolvidos, e a sua geração é indesejada não só pela passivação do mineral, mas também pelo decréscimo dos teores de íons férricos na solução lixiviante, pois, levando em consideração que este íon atua como agente oxidante pelo mecanismo indireto, a redução de seu teor pode resultar num maior tempo de lixiviação (Watling, 2006). A Figura 2 mostra as variações nos valores de pH nos ensaios. À exceção do controle abiótico, os valores de pH apresentam perfis semelhantes. No início do experimento o pH foi ajustado para 1,8 e durante o processo os ajustes foram feitos com solução de H₂SO₄ 5M. Nota-se que até o 19º dia de processo ocorreram amplas flutuações nos valores de pH, que são, obviamente, 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 ganga mineral e, por outro lado, pelo consumo de prótons (H⁺) no processo de lixiviação dos sulfetos minerais, já que as reações de oxidação da calcopirita, ao contrário da pirita, envolvem o consumo de ácido. Além disso, os micro-organismos inoculados consomem H⁺, pois, por serem acidófilos obrigatórios, eles são dependentes de um intenso gradiente de prótons por entre a membrana citoplasmática para realização de seu metabolismo (Madigan *et al.*, 2004).

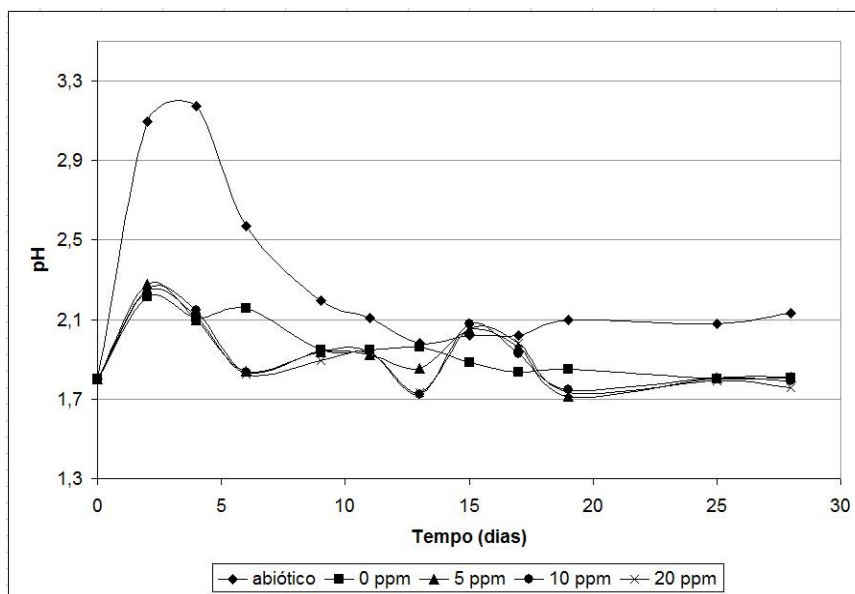


Figura 2. Variação de pH nos experimentos de biolixiviação em frascos agitados.

Normalmente, em um sistema de biolixiviação, o pH e o potencial de oxi-redução são indicativos de atividade microbiana. A Figura 3 mostra os valores de potencial de oxi-redução medidos durante o experimento. No controle abiótico, o potencial se manteve abaixo de 600 mV vs. EPH durante todo o experimento. Nota-se que a presença dos micro-organismos determinou uma elevação do potencial, que atingiu valores superiores a 750 mV vs. EPH nos primeiros 5 dias de experimento.

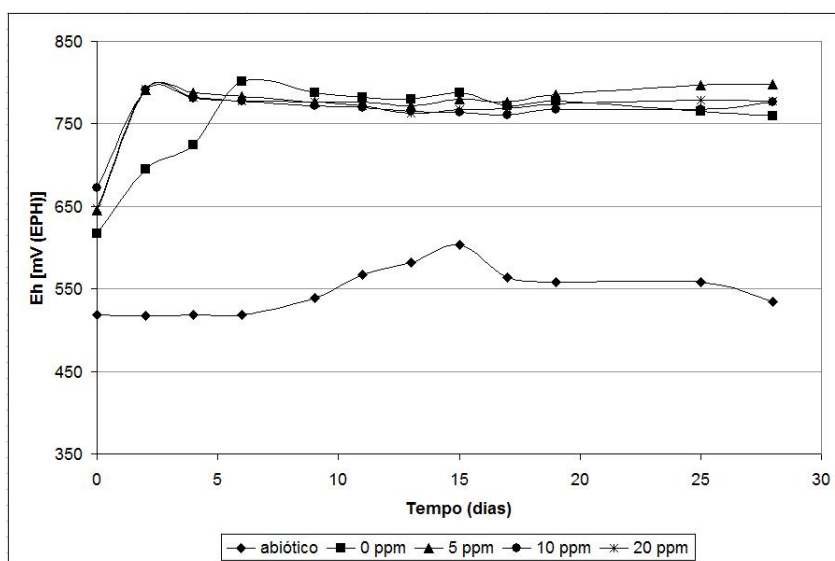


Figura 3. Variação do potencial de oxi-redução experimentos de biolixiviação em frascos agitados.

O potencial de óxido-redução é uma referência para as taxas de oxidação das espécies iônicas de ferro, ao passo que ele representa a tendência da solução de ser oxidada ou reduzida, ou seja, a sua capacidade de capturar ou liberar elétrons. Nos sistemas de biolixiviação o potencial redox da solução é determinado pela relação das concentrações Fe^{2+}/Fe^{3+} . A oxidação dos íons ferrosos, indicada pela elevação do potencial de oxi-redução, é uma indicação da dissolução dos sulfetos minerais e, conseqüentemente, da solubilização do metal de interesse. A Figura 4 mostra os percentuais de extração de cobre aos 14 e 28 dias de experimento.

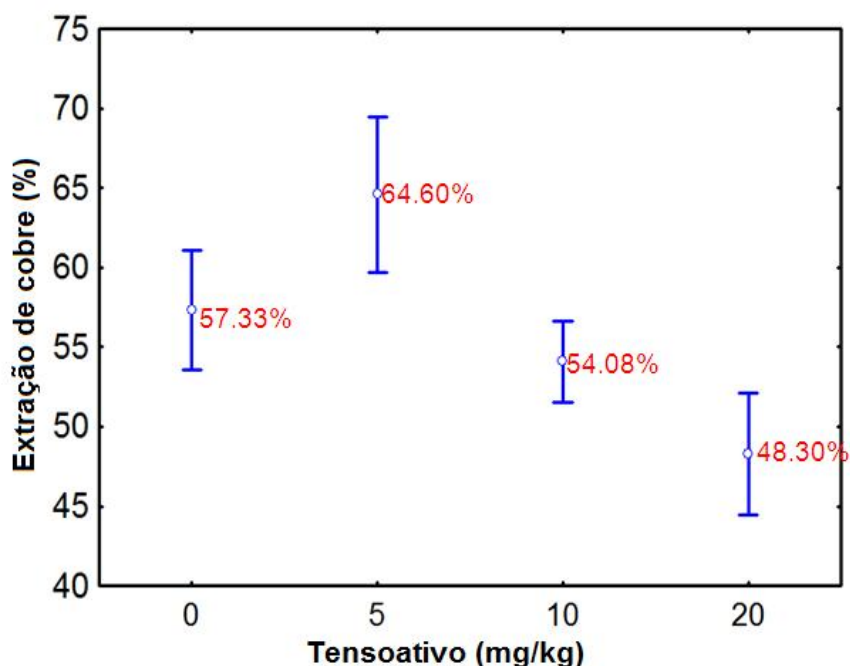


Figura 4. Extração de cobre nos experimentos de biolixiviação.

Nota-se que houve um incremento na extração de cobre no ensaio em que foi utilizado 5 mg/kg de ramnolípido, no qual foi alcançado um percentual de extração de 64,6% ao final de 28 dias de experimento. Ao realizar o test *T de Student* para a comparação das médias de extração obtidas em cada ensaio (dados não mostrados) observou-se que ocorre, de fato, diferença relevante de extração de cobre entre este ensaio e os demais. Assim sendo, conclui-se que a adição do tensoativo é favorável ao processo de lixiviação desde que em pequenas concentrações, visto que concentrações elevadas podem exercer efeitos inibitórios à atividade metabólica do inóculo.

Nos sistemas de biolixiviação, o tensoativo (surfatante) pode atuar na redução da tensão superficial da fase líquida. Dessa forma ele pode contribuir para a melhoria das taxas de lixiviação devido ao maior contato entre a solução lixivante e a superfície do mineral. Além disso, o surfatante pode promover um incremento na biodisponibilidade de enxofre elementar (S^0) (Lan, 2008), pois apresenta uma porção polar (hidrofílica) e outra apolar (hidrofóbica), sendo capaz de promover a dispersão de substâncias apolares (como, por exemplo, o S^0) em meio líquido através da formação de micelas (Mulligan, 2005). Devido aos inconvenientes provocados pelo acúmulo de S^0 , gerado pela oxidação incompleta dos sulfetos minerais, alguns pesquisadores têm utilizado surfatantes para acelerar sua oxidação durante o processo de biolixiviação e, conseqüentemente, aumentar a taxa de produção de ácido sulfúrico (H_2SO_4) no sistema reacional (Seidel *et al.*, 2000).

3. CONCLUSÕES

As análises químicas e a técnica de DRX demonstraram que a amostra mineral, foco do estudo, é bastante heterogênea. Essa heterogeneidade pode ter contribuído para as elevações de pH dos ensaios, principalmente nos primeiros 20 dias de experimento. O efeito positivo da adição de surfatante, em baixa concentração, foi confirmado no ensaio em que foi adicionado 5 mg/kg do tensoativo.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CRUNDWELL, F., K., How do bacteria Interact with minerals? *Hydrometallurgy*, v 71, p. 75-81, 2003;

DAOUD J., KARAMANEV D., Formation of jarosite during Fe^{2+} oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, Minerals Engineering, v. 19, p. 960–967, 2006;

MADIGAN, M., T.; MARTINKO, J., M.; PARKER, J.; Microbiologia de Brock, São Paulo: Prentice Hall, 2004;

MALIK, A.; DASTIDAR, M. G.; ROYCHOUDHURY, P. K.; Biodesulfurization of coal: effect of pulse feeding and leachate recycle, Enzyme and Microbial Technology, v. 28, p. 40 – 56, 2001;

MULLIGAN, C. N. Environmental applications for biosurfactants. Environmental Pollution, v.133, p. 183-198, 2005;

LAN, Z. *et al.*, Effect of surfactant OPD on the bioleaching of marmatite, Miner. Eng., doi:10.1016/j.mineng.2008.03.002, 2008;

SCHIPPERS, A. Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification. In: DONATI, E. R.; SAND, W. Microbial processing of metal sulfides. La Plata: Springer, Cap. 1, p. 3-33, 2007;

SEIDEL, H., ONDRUSCHKA, J.; MORGENSTERN, P.; WENNRICH, R. & HOFFMANN, P.; Bioleaching of heavy metal-contaminated sediments by indigenous *Thiobacillus* spp: metal solubilization and sulphur oxidation in the presence of surfatants. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 54, p. 854-857, 2000;

WATLING, H.R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides – a review. Hydrometallurgy, v.84, p. 81 – 108, 2006.