



**Estudo do tratamento bioquímico da pirita com bactérias
*Acidithiobacillus ferrooxidans***

Claudio Ricken¹, Deise Parolo Tramontin², Jacira Silvano³, Michael Peterson⁴

¹Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC (cri@unesc.net)

²Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC (deiseparol@gmail.com)

³Universidade do Extremo Sul catarinense – UNESC (jacira@unesc.net)

⁴Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC (michael@unesc.net)

Resumo

O carvão mineral é uma das maiores fontes de energia não renováveis do país, sendo que as maiores reservas estão localizadas no Sul, esta atividade trouxe à região profundas transformações ambientais, pois os resíduos desta atividade contêm minerais sulfetados que se oxidam em presença do ar e da água, desencadeando o processo de acidificação de drenagens de mina (DAM), que disponibiliza metais bio-acumulativos. Para promover a recuperação das áreas degradadas, estão sendo estudadas rotas envolvendo bactérias do gênero *Acidithiobacillus* que são capazes de remover o enxofre inorgânico e o ferro, liberados pela DAM através de um processo denominado biolixiviação. Em busca do aproveitamento residual, foram criados biorreatores, onde as condições requeridas são fornecidas para o desenvolvimento dos microorganismos, acelerando a cinética das reações, assim o rendimento tende ao máximo e consequentemente é possível isolar o produto e tratá-lo para obter os produtos descritos pela literatura.

Palavras-chave: Bactérias. Biorreator. Pirita.

Área Temática: Resíduos Sólidos.

Abstract

*The Coal is one of the largest of non-renewable energy in the country, with the largest reserves are located in the South, this activity has brought profound changes to the environmental area, because this activity wastes that contain sulfide minerals oxidize in air and water, triggering the process of acidification of mine drainage (AMD), which provides bio-accumulative metals. To promote rehabilitation of degraded area, are being studied pathways involving bacteria of the genus *Acidithiobacillus* are able to remove the inorganic sulfur and iron, released by the DAM through a process called bioleaching. In search of residual use, are designed bioreactors, where the requirements are provided for the development of microorganisms, accelerating the kinetics of the reactions, and the yield tends to the maximum and therefore it is possible to isolate the product and treat it to get the products described in the literature.*

Key words: Bacteria. Bioreactor. Pyrite.

Theme Area: Solid Waste.



1 Introdução

O objetivo deste estudo é avaliar e conhecer processos bacterianos envolvendo *Acidithiobacillus ferrooxidans*, para redução e controle dos impactos ambientais que afetam ar, água e solo na região Sul do país, que desta forma comprometem a qualidade da vida da população.

A pirita sendo rejeito de uma atividade econômica tão importante, não deve ser descartada, devido ao seu grande volume já que a atividade extrativa ainda é muito intensa. Este resíduo pode ser tratado para a geração de matéria prima de alto valor agregado como a própria literatura descreve, matéria prima esta que pode ser útil em vários setores industriais e até mesmo em várias áreas da medicina.

As maiores reservas de carvão estão localizadas no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (CARRISO e POSSA, 1995).

Com o contínuo desenvolvimento industrial, o consumo de energia aumenta e, conseqüentemente, o consumo de combustíveis fósseis. O carvão mineral tem sido usado no Brasil como um combustível sólido para os geradores termoelétricos por vários anos. Contudo, a exploração de carvão afeta o meio ambiente intensamente, principalmente porque o carvão brasileiro contém excesso de cinza e pirita (dissulfeto de ferro) (MARCELLO *et al*, 2007). O carvão produzido é dividido em dois tipos: energético e metalúrgico. O carvão energético é destinado às termelétricas e o metalúrgico destina-se principalmente à fabricação de agregados siderúrgicos e produtos carboquímicos (PETERSON, 2008).

As atividades de lavra e beneficiamento do carvão mineral causam problemas ambientais (sólidos, líquidos e gasosos) (RUBIO e SILVA 2009). Para cada tonelada lavrada, são gerados cerca de 60% de resíduos sólidos (rejeitos grossos e finos) e aproximadamente 1,5m³ de efluentes ácidos. (NASCIMENTO *et al*, 2002). Além do impacto físico decorrente do grande volume de material, esse é responsável pela geração de 300.000m³ diários de águas ácidas que são jogadas nos mananciais hídricos (VOLPATO, Apud VIGÂNICO, 2009).

A oxidação dos sulfetos que pode dar lugar ao surgimento da DAM é um processo natural acelerado pela movimentação de materiais sólidos, característica dos processos de lavra e beneficiamento. As atividades de escavação de desmonte de rochas alteram as condições de permeabilidade do ar, facilitando o contato do oxigênio com a superfície do material reativo. O rebaixamento do lençol d'água em minas superficiais e subterrâneas tem efeito semelhante, uma vez que expõe à penetração de oxigênio a áreas que inicialmente encontravam-se inundadas (RITCHIE, Apud BORMA e SOARES).

A DAM é um dos piores impactos ambientais que a atividade extrativa pode causar, tornando os solos inférteis e as águas imprópria para uso doméstico e agropecuário.

Parafaseando Peterson (2008), foi devido ao cenário de desenvolvimento econômico e profundas transformações ambientais que se estendeu na região sul do país que houve a necessidade de procurar possibilidades para a utilização dos rejeitos para obtenção de produtos com maior valor agregado, além da própria recuperação ambiental por uma técnica chamada biolixiviação.

A biolixiviação é o processo pelo qual bactérias, de forma direta ou indireta, promovem a solubilização de determinados componentes presentes em uma amostra mineral (OLIVEIRA, 2002). Quando organismos vivos interagem com substratos minerais em meio ácido, uma série de processos ocorre envolvendo reações químicas, bioquímicas e eletroquímicas (BEVILAQUA, 2003).

Thiobacillus ferrooxidans foi descrita e isolada a primeira vez em 1948 em um ambiente onde havia drenagem ácida (COLMER *et al.*, 1950; Apud PINTO, 2006). Posteriormente deram-lhe o nome de *Thiobacillus ferrooxidans* (que passou a se chamar *Acidithiobacillus ferrooxidans*, e a caracterizaram como quimiolitotrófica, pois ela possui um metabolismo capaz de obter energia a partir da oxidação do ferro (Fe^{2+} a Fe^{3+}) e de



compostos inorgânicos de enxofre e obtém todo o carbono existente em suas células a partir da fixação do CO₂ atmosférico, devido a capacidade de fixar CO₂ e N₂. Outra característica importante é que a parede celular de *At. ferrooxidans* é típica de uma bactéria gram-negativa. Com relação à temperatura ela é caracterizada como mesófila e normalmente as suas células medem entre 1,2 – 1,7 x 0,5 µm (PINTO, 2006).

Segundo Erlich (1990), *Acidithiobacillus ferrooxidans* é o microorganismo mais importante em ambientes onde ocorre a 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. Estes microorganismos fazem a biolixiviação da pirita e dominam o processo, pois possuem a habilidade de oxidar tanto o ferro quanto o enxofre e apresentam normalmente elevada tolerância à alta acidez típica destes ambientes (TUOVINEN e KELLY, 1972; Apud PINTO, 2006).

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:

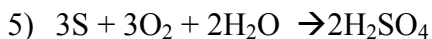
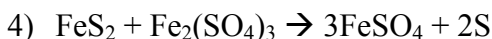
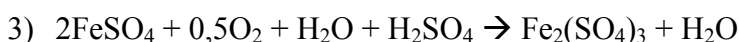


Em que MS é um sulfeto metálico.

Este ataque é facilitado pelo contato íntimo entre a bactéria e a superfície do sulfeto (LUNDGREN e SILVER, 1980; Apud PINTO 2006).

Na lixiviação indireta *At. ferrooxidans* produz um oxidante que, quimicamente oxida os sulfetos. Especificamente *At. ferrooxidans* produz e reproduz o oxidante (Fe³⁺) que carrega os elétrons do mineral para a parede celular da bactéria. Estes 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:



Quando a pirita é exposta ao ar e a água, ocorre uma oxidação relativamente lenta, que converte a pirita em sulfato ferroso e ácido sulfúrico (equação 2). Se bactérias semelhantes a *At. ferrooxidans* estão presentes, ocorrerá rápida oxidação do sulfato ferroso à sulfato férrico e água, e o ferro (II) atuará como um doador de elétrons para a bactéria (equação 3). O sulfato férrico atua sobre a pirita e produz mais sulfato ferroso e enxofre elementar (equação 4). O sulfato ferroso pode ser rapidamente oxidado produzindo novamente os produtos da equação 3. Finalmente o Enxofre pode ser oxidado, através do mecanismo de ação direta da bactéria, para produzir ácido sulfúrico (equação 5). Essas reações que estabelecem o ciclo de transformações de Fe²⁺ para Fe³⁺ ocorrem através da ação de *At. ferrooxidans* (LUNDGREN e SILVER, 1980; Apud PINTO 2006).

A recuperação de áreas degradadas é um problema complexo e multidisciplinar, e requer planos efetivos de reabilitação ambiental, tanto para as áreas em operação, quanto para as áreas abandonadas, através da soma estruturada de esforços federal, estadual, empresas



carboníferas e participação comunitária, para a obtenção de soluções a médio e longo prazo. (NASCIMENTO, 2002).

Em função disso, existe hoje uma urgente necessidade de adequar tecnologias para amenizar e mesmo extinguir esse passivo ambiental dentro de um marco de desenvolvimento sustentável (MENEZES, *et al* 2002).

2 Metodologia

Foi analisada uma amostra de pirita “in natura” quantitativamente para ter-se a média do número de bactérias na amostra e o ponto ótimo para seu crescimento e desenvolvimento já que foram testadas temperaturas distintas para avaliar a sua influência.

Os meios de cultura foram preparados no laboratório de microbiologia para bactérias ferro-oxidantes e sulfato-redutoras. As amostras foram diluídas até a concentração 10^{-7} e inoculadas em tubos de ensaio.

Procedimento de diluição no meio de cultura: retirou-se 10 ml de solução de pirita “in natura” e adicionou-se na primeira série de cinco tubos. Em seguida, da mesma amostra, retirou-se uma alíquota e adicionou-se 1 ml da mesma na segunda série de 5 tubos com 9ml de meio de cultura específico, obtendo a concentração 10^{-1} .

A terceira série de tubos, foi preparada colocando 1 ml da amostra “in natura” em um tubo com 9ml de água de solução, (água deionizada, cloreto de sódio e peptona bacteriológica), desta foi retirado uma alíquota e colocado 1ml em cada tubo, na terceira série de 5 tubos, junto com 9 ml de meio de cultura obtendo a diluição 10^{-2} , assim sucessivamente até obter a concentração 10^{-7} .

O procedimento de diluição foi adotado para meio de cultura com concentrações simples e duplas.

Nos tubos de ensaio onde as bactérias sulfato-redutoras foram inoculadas, houve a adição de Ágar para que este absorvesse o oxigênio presente na amostra e não deixasse que o mesmo entrasse, já que as sulfato-redutoras são bactérias totalmente anaeróbias.

As bactérias sulfato redutoras foram incubadas em estufa de cultura bacteriológica à temperatura de 25 e 30°C, após a inoculação embrulhou-se os suportes com papel pardo para evitar incidência de luz.

O procedimento de diluição também foi adotado para inoculação das bactérias ferro oxidante, onde foram incubadas em estufa de cultura bacteriológica a temperatura de 28 e 32°C. Os tubos foram agitados diariamente, pois são microorganismos altamente aeróbios.

Ambas as amostras tiveram um período de incubação de 4 a 21 dias. Após as análises quantitativas pode-se ter o número de bactérias de cada amostra.

Realizaram-se análises qualitativas em ambientes que simulavam os reais, porém em condições experimentais. Isso ocorreu em vidrarias específicas onde foram colocadas amostras de pirita moída em contato com água nas seguintes condições: sistema aberto e totalmente fechado em presença de luz solar e também na sua ausência, uma amostra foi ainda submetida à presença de matéria orgânica para visualização de sua influência.

Para fornecer as condições favoráveis para as bactérias ferro oxidantes, houve a necessidade de criar pequenos biorreatores, construídos a partir de canos de PVC. Optou-se por usar um substrato orgânico invariável, sendo o mesmo efluente anaeróbio de casca de arroz. Fez-se a caracterização do efluente após a coleta no tanque de aeração e após a retirada de cada amostra dos biorreatores.

Para os experimentos ministrados nos biorreatores, utilizou-se 13g de pirita lavada, com água deionizada quente, para aumentar o coeficiente solubilidade do material e descartar a parte solúvel da mesma, 1150mL de efluente e 8,5mL de bactérias ferro-oxidante, isoladas e cultivadas no laboratório de microbiologia.



O pH inicial do efluente anaeróbio foi determinado com ácido sulfúrico 2N, para padronizar o experimento já que este tipo de vida é adaptado para condições extremamente baixas de pH.

Após o tempo de reação as amostras foram filtradas a vácuo, em papel filtro de malha azul, cujo a porosidade é menor, o filtrado foi enviado para análise, visando a determinação de ferro total por Espectrofotometria de absorção atômica/Chama e DQO pelo método de refluxo aberto com dicromato. O material retido foi seco em estufa e pesado em balança analítica de precisão.

3 Resultados

Os resultados das análises quantitativas foram satisfatórios e os maiores índices de crescimento ocorreram nas temperaturas ótimas descritas pela literatura. Ao final do período de incubação, as bactérias sulfato redutoras positivas apresentaram coloração negra. Na temperatura de 30°C apresentaram $1,2 \times 10^6$ bactérias por ml de amostra, na temperatura de 25°C o crescimento foi igual $1,3 \times 10^4$ bactérias por ml de amostra.

As bactérias ferro oxidantes positivas após inoculação apresentaram coloração amarelo alaranjada (ferrugem). Na temperatura de 32°C apresentaram um nível crescimento maior que $1,6 \times 10^{11}$ bactérias por ml de amostra, na temperatura de 28°C não apresentaram crescimento.

Os testes qualitativos ministrados em condições experimentais que simulavam ambientes reais, em temperatura ambiente, não apresentaram crescimento para bactérias ferro oxidantes.

As bactérias sulfato redutoras apresentaram maior crescimento quando exposta a luz solar e submetidas à matéria orgânica em sistema aberto contendo $2,9 \times 10^3$ bactérias por ml de amostra, o segundo maior resultado foi também para matéria orgânica, exposta a luz solar em sistema fechado, apresentando $2,1 \times 10^2$ bactérias por ml. E mostrando-se ausente para o sistema fechado e mantido a sombra tendo como substrato água.

Com estes testes foi possível constatar que as bactérias precisam de condições específicas e a matéria orgânica é um grande impulsor para o seu crescimento, podendo estar mesmo em condições adversas.

Na tabela 1 está apresentada a caracterização do efluente após a retirada do tanque de aeração.

Tabela 1 - Caracterização do efluente após a retirada do tanque de aeração:

Parâmetros	Resultado	Mínimo
DQO (mg.L^{-1})	4.042,50	0,5
Ferro Total (mg.L^{-1})	2,96	0,02

O pH do efluente medido após coleta apresentou-se igual a 6. E foi padronizado com H_2SO_4 2N para um pH inicial de 5. A primeira amostra foi retirada após 1 dia de reação, as amostras 2 e 3 foram respectivamente 10 e 20 dias de reação, as mesmas foram mantidas em estufa a 32°C, com aeração constante durante o período de reação. A tabela 2 apresenta as massas alimentadas nos biorreatores, as massas finais e os respectivos pHs.

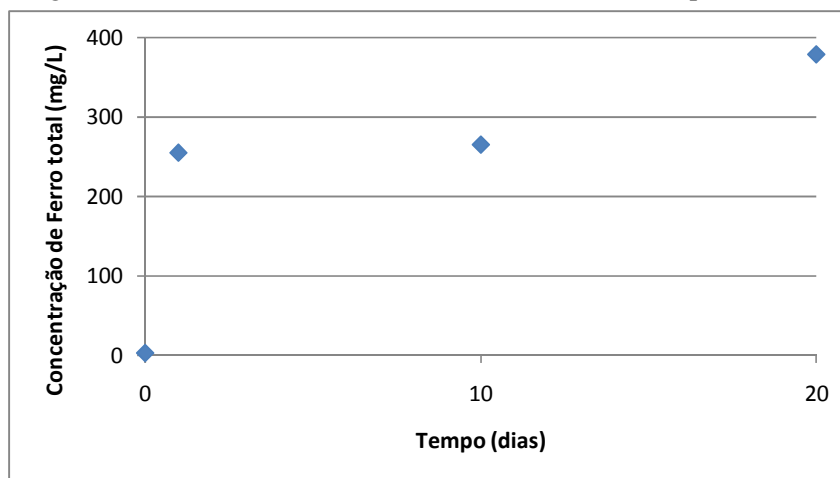


Tabela 2 - Caracterização das amostras após período de reação:

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Massas Alimentadas (g)	13,016	13,057	13,0219
Massas finais (g)	11,0534	11,2726	11,3523
pH	2,14	2,3	2,13

A partir destes resultados pode-se observar uma redução nas massas de pirita com relação as que foram alimentadas, isso deve-se a solubilidade do material, pois o ferro associado a pirita está se “desprendendo” e sendo liberado para o efluente na forma de algum composto. Esta solubilidade fica evidenciada com a visualização da figura 1.

Figura 1 – Concentração de ferro total em função do tempo de reação

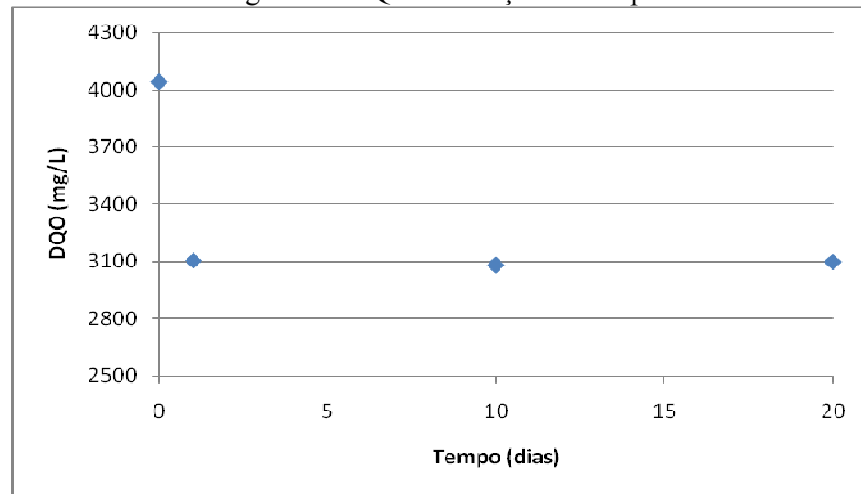


Com este gráfico é possível a observação da quantidade de ferro aumentar com o passar do tempo de reação sendo predisposto no efluente comprovando a ação bacteriana no processo, pois o material alimentado nos biorreatores foi lavado com água quente para aumento do coeficiente de solubilidade e descarte do material solúvel. Logo, o material proveniente da análise foi oxidado.

A DQO (Demanda Química de Oxigênio, índice que dá a quantidade necessária de Oxigênio, fornecido por um agente oxidante, para oxidar totalmente a matéria orgânica presente num meio), variou consideravelmente com o decorrer do procedimento, como pode ser observado na figura 2.



Figura 2 – DQO em função do tempo



Pode-se afirmar com o resultado das análises, que a DQO varia significativamente, e a matéria orgânica está sendo consumida.

Com este procedimento constatou-se que houve uma redução da massa de pirita com relação à alimentada de 14,73%. Este resultado comprova que o método funciona, e pode gerar um resultado satisfatório, porém novas rotas, outros meios e condições devem ser estudadas para responder ao modelo da melhor forma.

4 Conclusão

No decorrer deste trabalho é possível observar que as bactérias sendo do mesmo gênero, são diferentes, cada uma tem uma temperatura ótima e adaptam melhor ou não a oxigênio.

As bactérias ferro oxidantes na temperatura de 30°C apresentaram $1,2 \times 10^6$ bactérias por ml e na temperatura de 25°C o crescimento foi igual $1,3 \times 10^4$ bactérias por ml de amostra.

As bactérias sulfatos redutoras na temperatura de 32°C apresentaram um nível crescimento maior que $1,6 \times 10^{11}$ bactérias por ml de amostra, na temperatura de 28°C não apresentaram crescimento.

Em condições experimentais que simulavam ambientes reais em temperatura ambiente, as bactérias ferro-oxidantes não apresentaram crescimento. As bactérias sulfato redutoras apresentaram maior crescimento quando exposta a luz solar e submetidas à matéria orgânica em sistema aberto também para matéria orgânica, exposta a luz solar em sistema fechado, e mostrando-se ausente para o sistema fechado e mantido a sombra tendo como substrato água.

As condições fornecidas para as reações conduzidas nos biorreatores foram próximas das condições ótimas e o modelo resultou na redução de 14,73% da massa de pirita que foi alimentada.

Este projeto continua em andamento com a utilização da biotecnologia para a redução do impacto ambiental gerado pela mineração do carvão em busca de materiais a partir de resíduos.

Referências

BEVILAQUA, D. **Estudo da interação do Acidithiobacillus ferrooxidans com calcopirita (CuFeS₂) e bornita (Cu₅FeS₄) na presença de thiobacillus ferrooxidans** (dissertação de mestrado); Araraquara, São Paulo, 2003. p. 113.



BORMA, L. S.; SOARES, P. S. M.; **Drenagem ácida e gestão de resíduos sólidos de mineração**. Disponível em : < http://www.cetem.gov.br/Publicação/extracao_de_ouro/capitulo_10.pdf> Data de acesso: 12. jun.2011.

CARRISO, R. C.; POSSA, M. V; **Carvão Mineral - Aspectos Gerais e Econômicos**, Série Estudos e Documentos, nº24, Rio de Janeiro (1995), CNPq/CETEM. p. 30.

EHRlich, I.I.L.; **Geomicrobiology**. Msarcel Dekker. New York. NY. 1990.

MARCELLO, R.R.; GALATO, S; PETERSON M.; RIELLA H.G.; BERNARDIN A.M.; **Inorganic pigments made from the recycling of coal mine drainage treatment sludge - Journal of Environmental Management**. :Criciúma SC (2007). p. 5.

MENEZES, C. T. B.; LEAL, L. S.; SANTO, E. L.; RUBIO, J.; ROSA J. J. DA; GALATTO, S. L.; IZIDORO, G.; **Tratamento de drenagem ácida de mina: Experiência de carbonífera metropolitana**. Criciúma. Santa Catarina, 2002. p. 9.

NASCIMENTO, F. M. F.; MENDONÇA, R. M. G.; MACÊDO, M. I. F.; SOARES, P. S. M. **Impactos Ambientais nos Recursos Hídricos da Exploração de Carvão em Santa Catarina**. CONGRESSO BRASILEIRO DE MINA A CÉU ABERTO & II CONGRESSO BRASILEIRO DE MINA SUBTERRÂNEA, 2., 2002 – Belo Horizonte, Anais.

OLIVEIRA, B.R.; JÚNIOR, O. G.; BEVILAQUA, D.; **Estudo da solubilização de sulfetos minerais por *Acidithiobacillus ferrooxidans***. Araraquara. São Paulo, 2002. p. 4.

PETERSON, MICHAEL; **Produção de sulfato ferroso a partir da pirita: desenvolvimento sustentável**, (Tese de doutorado). Florianópolis, 2008. Disponível em: < <http://www2.enq.ufsc.br/teses/d059.pdf>> Acesso em: 12. fev. 2011.

PINTO, PHABLO BARRETO; **Estimativa da drenagem ácida por oxidação química e biológica de geomateriais sulfetados**. Viçosa, 2006. Disponível em: < http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde_arquivos/26/TDE-2007-06-18T141753Z526/Publico/texto%20completo.pdf> Acesso em: 12. fev. 2011.

RUBIO, J.; SILVA, R.; **Tratamento de Drenagem Ácida de Minas de Carvão: Tendências Tecnológicas**. Bento Gonçalves. Rio Grande do Sul 2009. p. 17.

VIGÂNICO, M. E; **Produção de sulfato ferroso a partir de rejeito de carvão** (dissertação de mestrado). Porto Alegre, 2009; p. 70.