

## ESTUDO DA DISSOLUÇÃO OXIDATIVA MICROBIOLÓGICA DE UMA COMPLEXA AMOSTRA MINERAL CONTENDO PIRITA (FeS<sub>2</sub>), PIRROTITA (Fe<sub>1-x</sub>S) E MOLIBDENITA (MoS<sub>2</sub>)

Wilmo E. Francisco Jr.\*, Denise Bevilaqua e Oswaldo Garcia Jr.

Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, CP 355, 14801-970 Araraquara – SP, Brasil

Recebido em 22/2/06; aceito em 9/11/06; publicado na web em 2/7/07

MICROBIOLOGICAL OXIDATIVE DISSOLUTION OF A COMPLEX MINERAL SAMPLE CONTAINING PYRITE (FeS<sub>2</sub>), PYRROTITE (Fe<sub>1-x</sub>S) AND MOLYBDENITE (MoS<sub>2</sub>). This work aims to study the oxidation of a complex molybdenite mineral which contains pyrite and pyrrhotite, by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. This study was performed by respirometric essays and bioleaching in shake flasks. Respirometric essays yielded the kinetics of mineral oxidation. The findings showed that sulfide oxidation followed classical Michaelis-Menten kinetics. Bioleaching in shake flasks allowed evaluation of chemical and mineralogical changes resulting from sulfide oxidation. The results demonstrated that pyrrhotite and pyrite were completely oxidized in *A. ferrooxidans* cultures whereas molybdenite was not consumed. These data indicated that molybdenite was the most recalcitrant sulfide in the sample.

Keywords: bioleaching; *A. ferrooxidans*; mineral sulfides.

### INTRODUÇÃO

A lixiviação bacteriana, ou biolixiviação, é um processo biotecnológico que se fundamenta na utilização de microorganismos capazes de solubilizar metais pela oxidação de sulfetos metálicos<sup>1</sup>. Uma das principais espécies utilizadas neste processo é o *Acidithiobacillus ferrooxidans*. O *A. ferrooxidans* é uma bactéria quimiolitotrófica, ou seja, obtém sua energia pela oxidação de substratos inorgânicos, basicamente íon ferroso e compostos reduzidos de enxofre, incluindo os sulfetos metálicos. A energia obtida pela oxidação dos substratos inorgânicos é utilizada pela espécie para a fixação do CO<sub>2</sub> atmosférico, sua fonte de carbono<sup>2</sup>. Além disso, o *A. ferrooxidans* é uma espécie mesofílica e acidofílica, sendo 30 °C a temperatura ótima de crescimento e o pH ótimo de crescimento situa-se em torno de 2,0<sup>3</sup>. A capacidade de oxidação deste microorganismo já foi demonstrada para diferentes sulfetos metálicos, como calcopirita<sup>4</sup> (CuFeS<sub>2</sub>), covelita<sup>5</sup> (CuS), galena<sup>6</sup> (PbS), esfalerita<sup>7</sup> (ZnS) dentre outros.

Países como Chile, Peru, Austrália, EUA, China, dentre outros, aplicam a biolixiviação para a extração principalmente de cobre, ouro e urânio. A mina de Cerro Verde no Peru consegue processar por biolixiviação cerca de 32.000 t de minério de cobre por dia<sup>8</sup>. No Brasil, a principal mina em atividade é a de São Bento-MG, operando desde 1990, processando cerca de 150 t de concentrado de ouro por dia<sup>8</sup>.

Além dos citados, um dos metais que vem ganhando especial interesse em estudos de biolixiviação é o molibdênio, que possui múltiplas e importantes aplicações tecnológicas, tais como baterias no estado sólido, lubrificantes, células de armazenamento de energia solar, catalisadores etc<sup>9</sup>. Tradicionalmente, o molibdênio é obtido a partir do tratamento pirometalúrgico da molibdenita (MoS<sub>2</sub>), processo que consiste basicamente na queima do sulfeto gerando o trióxido de molibdênio (MoO<sub>3</sub>)<sup>10</sup>. No entanto, este processo origina a liberação de SO<sub>2</sub> para a atmosfera (um dos responsáveis pela chu-

va ácida), além de possuir alto custo. Outro aspecto desfavorável é que o molibdênio se apresenta em baixo teor nas amostras naturais, necessitando ser concentrado. O processo de concentração de molibdênio requer diversos passos, dentre eles calcinação e vários estágios de extração por solventes (pela rota hidrometalúrgica), ou aquecimento até sublimação do MoO<sub>3</sub> que ainda deve ser condensado<sup>10</sup>. Apesar dessas desvantagens e do interesse na recuperação de molibdênio, estudos da oxidação microbiológica da molibdenita têm sido pouco relatados na literatura<sup>11</sup>.

Minerais de ferro como pirita (FeS<sub>2</sub>) e pirrotita (Fe<sub>1-x</sub>S) são constituintes muito comuns em amostras naturais de sulfetos metálicos, inclusive de molibdenita, pelo fato do ferro ser um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre. O presente trabalho teve como objetivo estudar o processo de oxidação microbiológica de uma complexa amostra mineral contendo molibdenita, pirita e pirrotita, caracterizando os produtos intermediários e finais do processo, tanto na fase aquosa quanto na fase sólida.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Linhagem bacteriana e amostra mineral

Nos estudos de oxidação da molibdenita foi utilizada a linhagem bacteriana *Acidithiobacillus ferrooxidans* LR, isolada de licor de lixiviação ácida de minério de urânio proveniente da mina de Lagoa Real - BA<sup>12</sup>. Na manutenção periódica da linhagem bacteriana, assim como na obtenção de células para a realização dos estudos de oxidação do sulfeto utilizou-se o meio de cultura "T&K", o qual contém ferro II como fonte energética<sup>13</sup>. A amostra mineral de molibdenita ("grau minério") foi obtida da Ward's Natural Science Establishment (Rochester, N.Y.) e moída para granulometria < 0,2 mm de diâmetro.

A caracterização da amostra por difratometria de raios-X (DRX) revelou, além da molibdenita, a presença dos minerais pirrotita e pirita como as principais fases. A composição química da amostra obtida por análise elementar demonstrou a presença em % m/m de 0,8% de Mo, 34,0% de Fe e 23,0% de S.

\*e-mail: wilmojr@bol.com.br

## Estudos de respirometria celular

Para uma investigação preliminar da oxidação do minério por *A. ferrooxidans* foram conduzidos ensaios de respirometria celular<sup>14</sup>. A técnica de respirometria celular indica rapidamente a capacidade, ou não, da bactéria em oxidar sulfetos metálicos. Os ensaios respirométricos foram realizados em aparelho de Warburg com uma suspensão celular de *A. ferrooxidans* LR desacoplada de crescimento, ou seja, por limitação de CO<sub>2</sub> não se encontra em processo de divisão celular. Para obtenção da suspensão celular a cultura de *A. ferrooxidans* LR cresceu em meio T&K e, em seguida, foi filtrada em membrana (0,45 µm de poro) para a retirada de precipitados do meio. A seguir, centrifugou-se a solução (rotor JA-10, centrífuga Beckman Avanti J-25) à temperatura de 4 °C e 10.000 g durante 30 min.

O precipitado contendo a suspensão celular foi lavado por três vezes em água acidificada (pH 1,8) com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, e ressuspensionado novamente em água ácida. Previamente à utilização das células no experimento, quantificou-se a proteína total como indicativo da biomassa celular<sup>15</sup>. Os frascos de reação continham, além da suspensão celular do *A. ferrooxidans* LR (400 µg de proteína total), uma massa de sulfeto que variou de 10 a 300 mg (10, 20, 50, 100, 200 e 300 mg) e 2,0 mL de água ácida (pH 1,8). Frascos sem a presença de células foram utilizados como controles químicos. Os ensaios foram conduzidos a 30 ± 2 °C, sendo realizados em triplicatas.

## Ensaio de biolixiviação em frascos

Os ensaios de biolixiviação em frascos são caracterizados por um longo período de duração e por permitirem uma análise acurada de alterações ocorridas tanto na fase líquida, quanto na fase sólida, durante o processo de biolixiviação. Para tais ensaios o *A. ferrooxidans* LR foi previamente adaptado a crescer no sulfeto pela gradativa substituição do ferro como fonte de energia.

Os experimentos foram conduzidos em frascos erlenmeyers de 250 mL contendo 150 mL do meio de cultura e a amostra do minério (2,5% m/v). Os frascos foram esterilizados em autoclave (30 min, 120 °C), inoculados (5% v/v) com o *A. ferrooxidans* LR adaptado a crescer no sulfeto metálico e, em seguida, incubados em mesa agitadora a 150 rpm e 30 ± 2 °C.

Os ensaios inoculados foram realizados com e sem suplementação de íon ferroso. No ensaio com fonte adicional de ferro II foram acrescentados 30 mmol L<sup>-1</sup> Fe<sup>2+</sup> como sulfato ferroso. Além dos respectivos controles químicos não inoculados, com e sem suplementação de Fe<sup>2+</sup>, foi realizado um ensaio controle suplementado com sulfato férrico (30 mmol L<sup>-1</sup>). Alíquotas de amostras foram retiradas periodicamente de cada frasco para as análises químicas (pH e metais) e de difratometria de Raios-X.

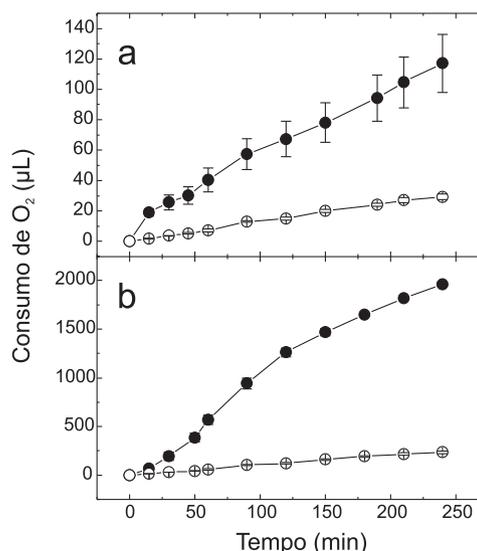
## Análises químicas

As medidas de pH foram realizadas diretamente na polpa das amostras retiradas utilizando-se eletrodo combinado de vidro. Após centrifugação para separar a fase aquosa do resíduo sólido, alíquotas do sobrenadante foram retiradas para análise dos metais. As análises de Fe<sup>2+</sup> e ferro total foram realizadas por volumetria de óxido-redução<sup>16</sup> imediatamente após a retirada das alíquotas. O Fe<sup>3+</sup> foi calculado pela diferença entre o ferro total e o Fe<sup>2+</sup>. As análises de molibdênio foram realizadas por espectrometria de plasma indutivamente acoplado. Os resíduos sólidos obtidos após centrifugação das amostras foram secos à temperatura ambiente e analisados por difratometria de raios-X em equipamento X D5000 – Siemens.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Experimentos de respirometria

Como demonstra a Figura 1, os ensaios de respirometria celular revelaram a capacidade do *A. ferrooxidans* LR em oxidar a amostra mineral. Nos controles químicos, caracterizados pela ausência de células bacterianas, a oxidação natural da amostra mineral foi praticamente desprezível quando comparada à microbiológica. A Figura 1 mostra apenas os ensaios realizados com 10 e 300 mg do sulfeto (Figuras 1a e b, respectivamente), a menor e a maior massa utilizada. Outro aspecto importante foi o aumento do consumo de O<sub>2</sub> pela espécie bacteriana ocasionado pelo aumento da massa da amostra mineral utilizada, o que indica um aumento na velocidade inicial de oxidação em função do aumento da massa.



**Figura 1.** Atividade de respiração do *A. ferrooxidans* LR (400 µg de proteína total) na presença de massas de 10 (a) e 300 mg (b) do minério como substrato oxidável. (●) inoculado, (○) controle químico

A partir do cálculo das velocidades iniciais de oxidação para cada massa de minério, obtidas pelo coeficiente angular da parte linear da curva de consumo de O<sub>2</sub>, foi construída a curva de Michaelis-Menten. A oxidação da amostra mineral pelo *A. ferrooxidans* LR indicou um comportamento típico da cinética de saturação pelo substrato, evidenciando que o processo oxidativo da amostra utilizada segue a clássica cinética de Michaelis-Menten. Dessa forma, os dados das velocidades iniciais de oxidação da amostra mineral foram utilizados para construir a respectiva curva de duplo recíproco de Lineweaver-Burk, por meio da qual foram obtidos os valores de importantes parâmetros cinéticos, como a velocidade máxima de oxidação do sulfeto ( $V_{max}$ ) e a constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ), os quais foram, respectivamente, 5,0 µmol O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína e 501 mg de sulfeto.

Estudos envolvendo a cinética de oxidação da pirita e do íon ferroso revelaram que ambos também seguem uma cinética de Michaelis-Menten. O valor de  $K_m$  obtido para a pirita foi de 2,5% de densidade de polpa<sup>17</sup>, o qual corresponderia a 62,5 mg de sulfeto no presente estudo, e para o íon ferroso<sup>18</sup> foi 0,37 mmol L<sup>-1</sup>. Quando se compara o valor de  $K_m$  obtido para sulfetos metálicos e para o íon ferroso, evidencia-se a diferença de afinidade do *A. ferrooxidans*, associada à complexidade do fenômeno de oxidação dos sulfetos. Por envolver substratos sólidos, fatores como interações superficiais, área superficial, processos corrosivos, processos de adesão bacteriana estão envolvidos na oxidação dos sulfetos.

Por outro lado, como o íon ferroso é o substrato ideal para a bactéria, a mesma alcança a máxima eficiência de oxidação em um menor tempo quando comparada aos sulfetos minerais.

### Experimentos de biolixiviação em frascos

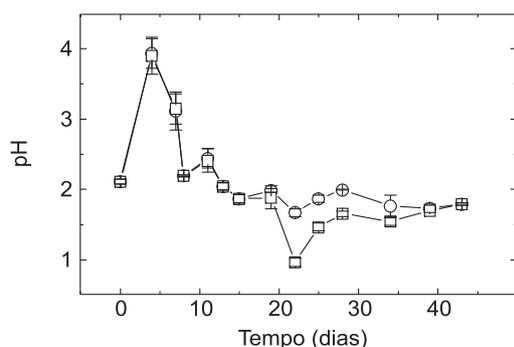
#### Análise da fase líquida - pH

Normalmente, em um sistema de biolixiviação o pH é um indicativo da atividade bacteriana, pois a elevação ou diminuição de seus valores pode indicar, respectivamente, o consumo de ácido pelo substrato e pela bactéria ou a produção deste a partir das reações bioquímicas de oxidação do sulfeto.

Os valores de pH no início do ensaio de crescimento elevaram-se até em torno de 4,0 (Figura 2), sendo necessários ajustes periódicos da acidez. Embora a Figura 2 represente a variação de pH apenas para o ensaio com adição de  $\text{Fe}^{2+}$ , este comportamento foi observado em todos os frascos. Outros estudos de biolixiviação de minerais contendo pirrotita também demonstraram a elevação de pH no início do ensaio<sup>19,20</sup>. Nos primeiros dias de ensaio, o consumo de ácido provavelmente ocorreu devido aos primeiros estágios da dissolução da pirrotita<sup>19,22</sup>, que pode ser representada de acordo com a Equação 1<sup>21</sup>:



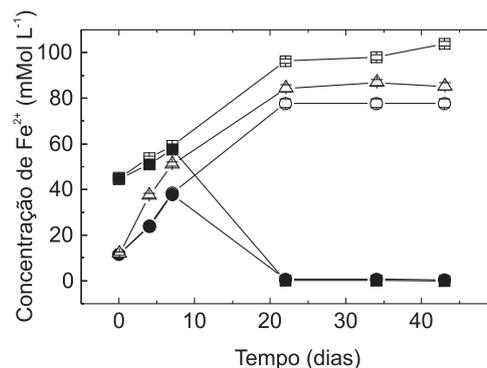
Após o período de correções ácidas nos frascos (cerca de 15 dias), os valores de pH estabilizaram-se ao redor de 2,0 nos controles abióticos, incluindo o controle químico com  $\text{Fe}^{3+}$  (dados não mostrados), enquanto nos frascos inoculados houve uma ligeira diminuição de pH, o qual atingiu valores próximos a 1,0 no ensaio com adição de  $\text{Fe}^{2+}$  (Figura 2). Essa ligeira diferença entre os tratamentos inoculados e os controles abióticos pode estar associada à oxidação bacteriana do enxofre elementar (Equação 2) e suas formas reduzidas ou, ainda, à hidrólise do  $\text{Fe}^{3+}$  (Equação 3), o que em ambos os casos leva à formação de ácido. Resultados similares foram obtidos em estudos nos quais a pirita era um dos minerais componentes<sup>8,20,21</sup>. Após cerca de 25 dias de ensaio houve uma estabilização dos valores de pH entre 1,7 e 1,9 em todos os frascos. A estabilização do pH possivelmente está associada às combinações das reações que consomem ácido, como a oxidação química e microbiológica do  $\text{Fe}^{2+}$  (Equação 4), e as reações que produzem ácido, como a oxidação do enxofre e a hidrólise do íon férrico (Equações 2 e 3, respectivamente).



**Figura 2.** Variação do pH no ensaio de biolixiviação em frasco. Meio suplementado com  $30 \text{ mmol L}^{-1} \text{Fe}^{2+}$ : (□) inoculado com *A. ferrooxidans* LR, controle químico (○)

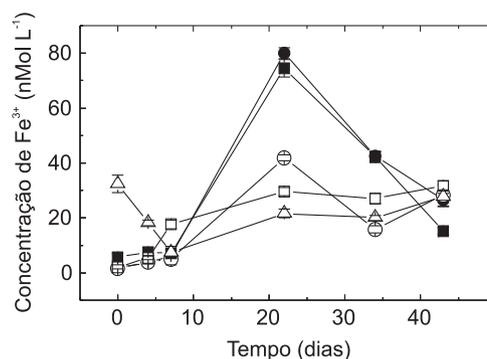
#### Análise da fase líquida – metais em solução

Como mostrado na Figura 3, nos primeiros 7 dias de ensaio observou-se uma elevação da concentração de íons ferrosos em todos os frascos. Esta elevação inicial provavelmente foi decorrente da solubilização da pirrotita pelo ataque ácido. Após esse período, a concentração de  $\text{Fe}^{2+}$  nos ensaios inoculados diminuiu significativamente, permanecendo abaixo do limite de detecção ( $1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) após 22 dias de experimento. Este comportamento possivelmente foi resultado da oxidação bacteriana do íon ferroso ao íon férrico<sup>4,5</sup>.



**Figura 3.** Variação da concentração de  $\text{Fe}^{2+}$  nos ensaios de biolixiviação em frascos. Símbolos cheios indicam os meios inoculados com *A. ferrooxidans* LR e os símbolos vazios indicam os controles químicos: (○) meio sem  $\text{Fe}^{2+}$ , (□) meio suplementado com  $30 \text{ mmol L}^{-1} \text{Fe}^{2+}$ , (△) meio suplementado com  $30 \text{ mmol L}^{-1} \text{Fe}^{3+}$

Como consequência, a concentração de  $\text{Fe}^{3+}$  nos ensaios inoculados, a qual era baixa nos primeiros dias de ensaio, se elevou até cerca de  $80 \text{ mmol L}^{-1}$  aos 22 dias (Figura 4). Após esse período do ensaio observou-se um significativo decréscimo na concentração dos íons férricos, o que sugere a precipitação de compostos de  $\text{Fe}^{3+}$ , como as jarositas. As jarositas são compostos formados pela precipitação do íon férrico em meios contendo sulfato [ $\text{XFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$ , onde X pode ser  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{H}_3\text{O}^+$ ], os quais são comumente encontrados durante processos de lixiviação bacteriana de minerais contendo ferro<sup>21,22</sup>.



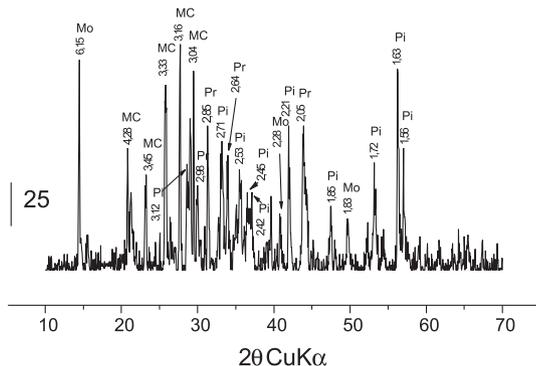
**Figura 4.** Variação da concentração de  $\text{Fe}^{3+}$  nos ensaios de biolixiviação em frascos. Símbolos cheios indicam os meios inoculados com *A. ferrooxidans* LR e os símbolos vazios indicam os controles químicos: (○) meio sem  $\text{Fe}^{2+}$ , (□) meio suplementado com  $30 \text{ mmol L}^{-1} \text{Fe}^{2+}$ , (△) meio suplementado com  $30 \text{ mmol L}^{-1} \text{Fe}^{3+}$

Por sua vez, nos controles químicos, a concentração de íons ferrosos continuou a crescer, atingindo aos 22 dias cerca de  $100 \text{ mmol L}^{-1}$  para o meio suplementado com  $\text{Fe}^{2+}$  e cerca de  $80 \text{ mmol L}^{-1}$  nos ensaios sem adição de fonte suplementar de ferro e com adição de  $\text{Fe}^{3+}$  (Figura 3). Após esse período houve uma estabilização na concentração de  $\text{Fe}^{2+}$ . Em termos de íons férricos, verificou-se um aumento em sua concentração nos controles químicos com e sem fonte

adicional de ferro II (Figura 4), ocasionado pela oxidação natural do  $\text{Fe}^{2+}$ . No controle abiótico com adição de  $\text{Fe}^{3+}$  ocorreu uma rápida redução desse íon, possivelmente, devido ao ataque químico do mesmo sobre o mineral. Após 7 dias observou-se um acréscimo na concentração dos íons férricos, provavelmente também devido à oxidação natural do íon ferroso. Em termos de molibdênio, sua concentração esteve abaixo do limite de detecção ( $2 \text{ mg L}^{-1}$ ) para todos os ensaios realizados. Os resultados obtidos para a solubilização de molibdênio estão de acordo com outros trabalhos os quais utilizaram amostras de concentrados de molibdênio. Nestes estudos, a solubilização de molibdênio foi menor que 1%<sup>23,24</sup>.

#### Análise da fase sólida

A análise de DRX da amostra original (Figura 5) revelou como componentes principais os minerais de ferro pirita ( $\text{FeS}_2$ ) e pirrotita ( $\text{Fe}_{1-x}\text{S}$ ) e o mineral molibdenita ( $\text{MoS}_2$ ). A amostra ainda apresentou alguns minerais de cobre como componentes, os quais não puderam ser identificados, uma vez que nenhum deles apresentou mais que um pico de alta intensidade. A Figura 6 mostra os difratogramas de raios-X obtidos para os ensaios de biolixiviação em frascos após 22 dias. Nos ensaios inoculados, após esse período, não houve alterações mineralógicas das amostras.

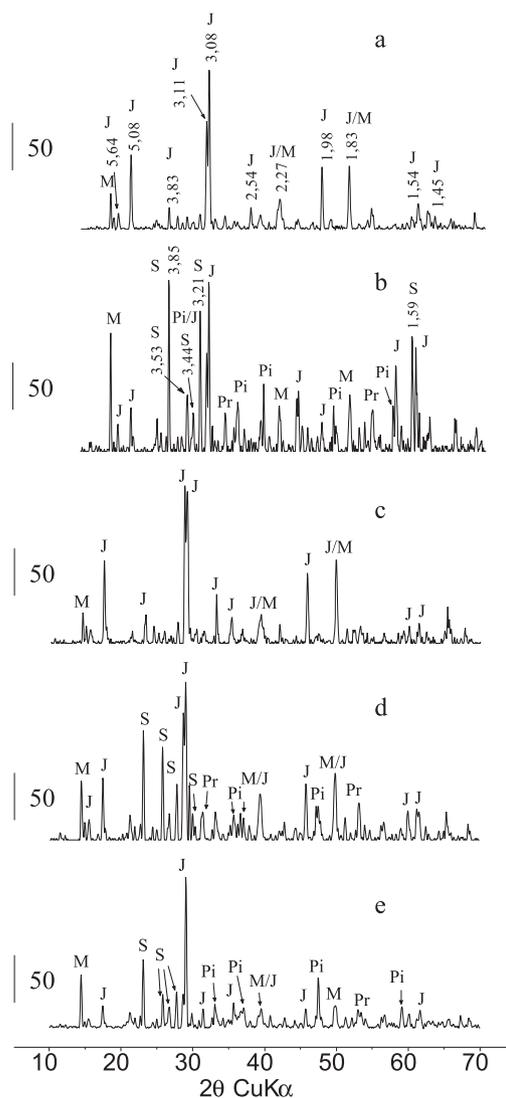


**Figura 5.** Difratograma de raios-X da amostra original do minério, utilizada nos experimentos de respirometria e de crescimento do *A. ferrooxidans* LR. Mo, molibdenita; Pr, pirrotita; Pi, pirita; MC, mineral de cobre não identificado. A barra lateral indica a intensidade dos picos em contagem por segundo (cps) e os números abaixo da identificação dos picos indicam a distância "d" (em Angstrons) características de cada fase cristalina

A baixíssima solubilização de molibdênio observada nas análises da fase líquida ( $< 2 \text{ mg L}^{-1}$ ) foi confirmada pela interpretação dos DRX obtidos, seja nos tratamentos com ou sem adição do *A. ferrooxidans* LR. A molibdenita revelou-se pouco susceptível ao ataque químico-bacteriano, uma vez que seus principais picos permaneceram até o final dos 43 dias de ensaio, seja nos meios inoculados (dados não mostrados) ou nos controles abióticos. Romano *et al.*<sup>23,24</sup> haviam demonstrado a natureza refratária da molibdenita em estudo tanto da lixiviação química quanto bacteriana de um concentrado desse mineral, no qual a solubilização de molibdênio foi menor que 1% em ambos os casos. Pistaccio *et al.*<sup>12</sup> também relataram baixa solubilização de molibdênio em estudos de biolixiviação em frascos. Em contrapartida, Nasernejad *et al.*<sup>25</sup> obtiveram, também utilizando concentrado de molibdênio, extração de 93% do metal. Contudo, os precipitados destes ensaios de biolixiviação foram lavados, a cada semana, com ácido clorídrico  $2 \text{ mol L}^{-1}$  e solvente orgânico, sendo então reutilizados nos ensaios que tiveram duração de 41 dias. Este procedimento experimental provavelmente determinou a alta solubilização de molibdênio, fato incomum em estudos relatados na literatura<sup>11,23,24</sup>.

A baixa suscetibilidade da molibdenita ao ataque bacteriano provavelmente está relacionada com seu alto potencial de repouso o que, frente a outros minerais em um mesmo sistema de biolixiviação (no caso pirita e pirrotita), desfavorece sua dissolução oxidativa<sup>23,26</sup>. Isto permitiu a dissolução preferencial dos minerais de ferro presentes na amostra, os quais se comportaram como prototóxicos catódicos da molibdenita.

Nos ensaios inoculados, os minerais pirita e pirrotita começaram a desaparecer logo aos 4 dias de ensaio (dados não mostrados), não sendo mais observados após os 22 dias (Figuras 6a e c). Nos controles abióticos também foi observada a solubilização desses minerais, caracterizada pelo aumento da concentração de  $\text{Fe}^{2+}$  em solução. No entanto, esta dissolução ocorreu de forma menos significativa que na presença da bactéria, evidenciando o papel catalítico do *A. ferrooxidans*. Ao fim dos ensaios não inoculados, apenas os picos referentes à pirita foram observados, a qual se mostrou menos susceptível à lixiviação química quando compara-



**Figura 6.** Difratogramas de raios-X obtidos para os resíduos de minério após 22 dias. (a) meio inoculado com *A. ferrooxidans* LR, (b) respectivo controle químico, (c) meio inoculado com *A. ferrooxidans* LR suplementado com  $30 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$ , (d) respectivo controle químico, (e) controle químico suplementado com  $30 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe}^{3+}$ . M, molibdenita; Pr, pirrotita; Pi, pirita; J, jarosita; S, enxofre. A barra lateral indica a intensidade dos picos em contagem por segundo (cps) e os números acima dos picos indicam a distância "d" (em Angstrons) características de cada fase cristalina

da com a pirrotita. A maior susceptibilidade da pirrotita a lixiviação química já foi demonstrada em outras oportunidades<sup>19,20</sup> e, provavelmente, deve-se à formação de um par galvânico pirita-pirrotita, no qual a pirrotita se comporta como protetor catódico, sendo oxidada preferencialmente.

Na dissolução de sulfetos metálicos, seja ela química ou microbiológica, o enxofre também é uma fase comumente encontrada, como mostraram Bevilaqua *et al.*<sup>6</sup>, Monteiro *et al.*<sup>7</sup>, Bhatti *et al.*<sup>22</sup>, entre outros. A presença de enxofre nos tratamentos não inoculados foi detectada aos 4 dias de ensaio (dados não mostrados), permanecendo até o fim do experimento. Já na presença da bactéria, o enxofre formado nos primeiros dias de ensaio não foi mais detectado no fim do experimento (dados não mostrados), provavelmente devido a sua oxidação microbiológica (Equação 2). A análise dos difratogramas de raios-X dos resíduos aos 22 dias de ensaio (Figura 6) mostra também a presença de jarositas como componente da fase sólida. A formação de jarositas é comumente detectada em estudos de biolixiviação nos quais há presença de ferro, seja pela adição como fonte suplementar, ou mesmo quando os sulfetos em estudo contêm minerais de ferro<sup>6,7,22</sup>.

## CONCLUSÕES

As análises químicas e a técnica de DRX demonstraram que a amostra mineral estudada é bastante heterogênea, possuindo vários constituintes, como pirrotita (Fe<sub>1-x</sub>S), pirita (FeS<sub>2</sub>) e uma baixa quantidade de molibdenita (MoS<sub>2</sub>) em sua composição, além de apresentar outras fases cristalinas não identificadas. A capacidade do *A. ferrooxidans* LR em utilizar a amostra nos estudos de respirometria está provavelmente associada à presença dos minerais de ferro e não, à molibdenita. Tal fato pode explicar também o comportamento de uma típica cinética de saturação pelo substrato nestes ensaios.

Obviamente quando se compara a dissolução da pirita e pirrotita, na presença e na ausência da bactéria, nota-se a importância do papel catalítico do *A. ferrooxidans* LR, pois este aumenta significativamente a velocidade de dissolução desses sulfetos, os quais são oxidados completamente após 22 dias de ensaio. Em contrapartida, a molibdenita mostrou-se o sulfeto mais recalcitrante da amostra mineral. Isto abre a perspectiva da biolixiviação tornar-se, futuramente, uma alternativa de biobeneficiamento da molibdenita quando na presença desses minerais de ferro. Assim, ocorreria naturalmente o beneficiamento da molibdenita pela dissolução dos outros minerais, como mostraram os resultados obtidos. Entretanto, devido ao baixo teor de molibdênio nas amostras minerais, deve-se ressaltar que este processo só seria economicamente viável se estivesse acompanhado da recuperação de outros metais, como por exemplo, o ferro.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

Encontra-se disponível gratuitamente em <http://quimicanova.s bq.org.br>, na forma de arquivo pdf.

A Figura 1S mostra a curva de Michaelis-Menten (a), onde se observa um comportamento de saturação pelo substrato. A velocidade de oxidação da amostra aumenta proporcionalmente com o aumento da massa utilizada, até atingir um valor máximo. A partir deste, a variação verificada na velocidade é desprezível. O respectivo duplo-recíproco de Lineweaver-Burk (b) representa a linearização da curva de Michaelis-Menten, pelo qual se obtêm os

parâmetros cinéticos de oxidação ( $K_m$  e  $V_{max}$ ). A Figura 2S refere-se aos difratogramas de raios-X para os frascos não inoculados obtidos após o fim dos ensaios. Observa-se a presença de molibdenita, que foi refratária ao ataque químico-bacteriano, bem como de jarositas, formadas pela precipitação de íons férricos, e de enxofre, formado pela oxidação química dos sulfetos. Os picos referentes à pirita também foram observados ao final do ensaio, fato discutido anteriormente.

## AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Poços de Caldas - CNEN (W. C. Costa) pelas análises químicas de molibdênio, ao CNPq (bolsa de produtividade em pesquisa - Dr. O. Garcia Jr., bolsa de pós-doutoramento - D. Bevilaqua e bolsa de mestrado - W. E. Francisco Jr.) e ao IQ da UNESP de Araraquara.

## REFERÊNCIAS

- Garcia Jr., O.; Urenha, L. C. Em *Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos*; Lima, U. A.; Aquarone, E.; Borzani, W.; Schmidell, W., eds.; Edgard Blücher: São Paulo, 2001, cap. 22.
- Leduc, L. G.; Ferroni, G. D.; *FEMS Microbiol. Rev.* **1994**, *14*, 103.
- Pivovarova, T. A.; Golovacheva, R. S. Em *Biogeotechnology of Metals*; Karavaiko, G. I.; Groudev, S. N., eds.; Centre of International Projects: Moscow, 1985, cap. 1.
- Bevilaqua, D.; Leite, A. L. L. C.; Garcia Jr., O.; Tuovinen, O. H.; *Process Biochem.* **2002**, *38*, 587.
- Monteiro, V. F.; Garcia Jr., O.; Tuovinen, O. H.; *Proceedings of 13<sup>th</sup> International Biohydrometallurgy Symposium*, Madrid, Espanha, 1999.
- Garcia Jr., O.; Bigham, J. M.; Tuovinen, O. H.; *Can. J. Microbiol.* **1995**, *41*, 578.
- Garcia Jr., O.; Bigham, J. M.; Tuovinen, O. H.; *Can. J. Microbiol.* **1995**, *41*, 508.
- Olson, G. J.; Brierley, J. A.; Brierley, C. L.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2003**, *63*, 249; Rawlings, D. E.; *Annu. Rev. Microbiol.* **2002**, *56*, 65.
- Wypych, F.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 83.
- Shariat, M. H.; Setoodeh, N.; Dehghan, R. A.; *Miner. Eng.* **2001**, *14*, 815.
- Pistaccio, L.; Curutchet, G.; Donati, E.; Tedesco, P.; *Biotechnol. Lett.* **1994**, *16*, 189.
- Garcia Jr., O.; *Rev. Microbiol.* **1991**, *20*, 1.
- Tuovinen, O. H.; Kelly, D. P.; *Arch. Microbiol.* **1973**, *88*, 285.
- Umbreit, W. W.; Burris, R. H.; Stauffer, J. F.; *Manometric & Biochemical Techniques*, 5<sup>th</sup> ed., Burgess: Minneapolis, 1972.
- Hartree, E. F.; *Anal. Biochem.* **1972**, *48*, 422.
- Jeffery, G. H.; Basset, J.; Mendham, J.; Denney, R. C.; *Vogel: Análise Química Quantitativa*, 5<sup>a</sup> ed., LTC: Rio de Janeiro, 1992.
- Lizama, H. M.; Suzuki, I.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1989**, *55*, 2918.
- Nemati, M.; Harrison, S. T. L.; Hansford, G. S.; Webb, C.; *Biochem. Eng. J.* **1998**, *1*, 171.
- Ahonen, L.; Hiltunen, P.; Tuovinen, O. H. Em *Fundamental and Applied Biohydrometallurgy*; Lawrence, R. W.; Branion, R. M. R.; Ebner, H. G., eds.; Elsevier: Amsterdam, 1986, cap. 1.
- Bhatti, T. M.; Bigham, J. M.; Vuorinen, A.; Tuovinen, O. H. Em *Environmental Geochemistry of Sulfide Oxidation*; Alpers, C. N.; Blowes, D. W., eds.; American Chemical Society: Washington, 1994, cap. 8.
- Thomas, J. E.; Smart, R. S. C.; Skinner, W. M.; *Miner. Eng.* **2000**, *13*, 1149.
- Bhatti, T. M.; Bigham, J. M.; Carlson, L.; Tuovinen, O. H.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1993**, *59*, 1984.
- Romano, P.; Blazquez, M. L.; Alguacil, F. J.; Munoz, J. A.; Ballester, A.; Gonzalez, F.; *FEMS Microbiol. Lett.* **2001**, *196*, 71.
- Romano, P.; Blazquez, M. L.; Ballester, A.; Munoz, J. A.; Gonzalez, F.; Alguacil, F. J. F.; *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2001**, *76*, 723.
- Nasernejad, B.; Kaghazchi, T.; Edrisi, M.; Sohrabi, M.; *Process Biochem.* **1999**, *35*, 437.
- Natarajan, K. A. Em *Microbial Mineral Recovery*; Erlich, H. L.; Brierley, C. L., eds.; McGraw-Hill: New York, 1990, cap. 4.

ESTUDO DA DISSOLUÇÃO OXIDATIVA MICROBIOLÓGICA DE UMA COMPLEXA AMOSTRA MINERAL CONTENDO PIRITA (FeS<sub>2</sub>), PIRROTITA (Fe<sub>1-x</sub>S) E MOLIBDENITA (MoS<sub>2</sub>)

Wilmo E. Francisco Jr.\*, Denise Bevilaqua e Oswaldo Garcia Jr.

Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, CP 355, 14801-970 Araraquara – SP, Brasil

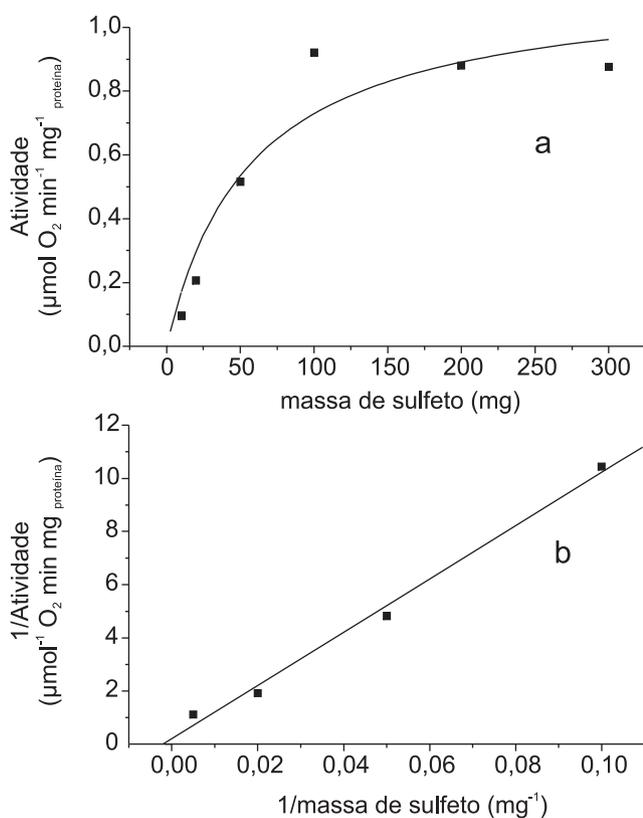


Figura 1S. Curva de Michaelis-Menten (a) e o respectivo duplo-recíproco de Lineweaver-Burk (b) para a cinética de oxidação do minério pelo *A. ferrooxidans* LR

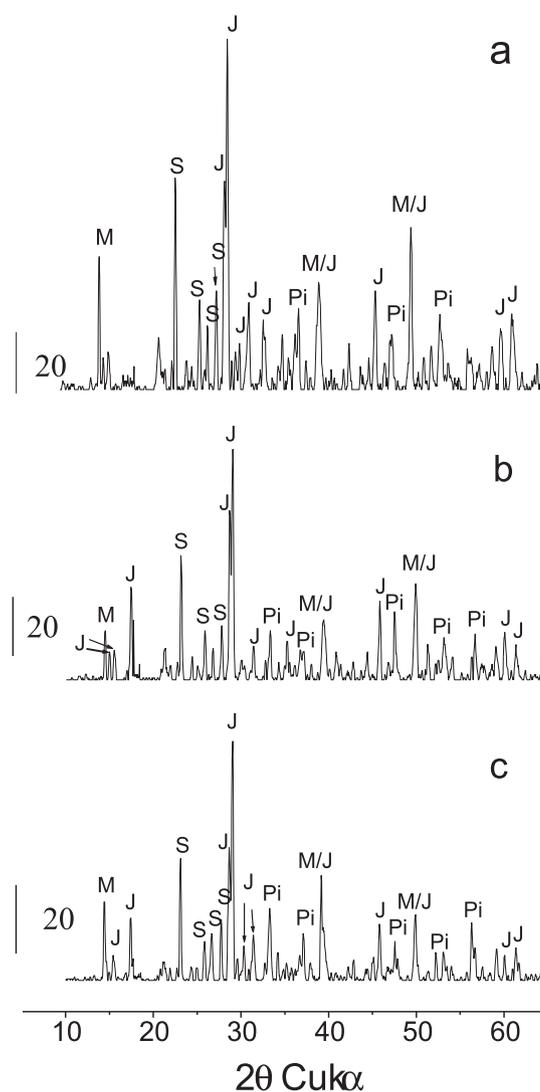


Figura 2S. Difratomogramas de raios-X obtidos para os resíduos de minério após 43 dias: (a) controle químico, (b) controle químico suplementado com 30 mmol L<sup>-1</sup> Fe<sup>2+</sup>, (c) controle químico suplementado com 30 mmol L<sup>-1</sup> Fe<sup>3+</sup>. M, molibdenita; Pr, pirrotita; Pi, pirita; J, jarosita; S, enxofre. A barra lateral indica a intensidade dos picos em contagem por segundo (cps) e os números acima dos picos indicam a distância "d" (em Angstroms) características de cada fase cristalina