

ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS OXIDANTES DE ENXOFRE PARA POSTERIOR UTILIZAÇÃO EM ESTUDOS DE LIXIVIAÇÃO DE MINÉRIO AURÍFERO.

ISOLATION OF SULPHUR OXIDIZING BACTERIA FOR FURTHER USING TO STUDY THE LEACHING OF GOLD ORE

Andriela Dutra Norberto de Oliveira

Aluna de Graduação Ciências Biológicas 3º período,
Universidade Castelo Branco
Período PIBIC ou PIBITI/CETEM: fevereiro de 2017 a julho de 2017
adoliveira@cetem.gov.br

Luis Gonzaga Santos Sobral

Orientador, Engenheiro Químico, Ph.D.
lsobral@cetem.gov.br

Débora Monteiro de Oliveira

Orientadora, Bióloga, MSc.
dmonteiro@cetem.gov.br

RESUMO

Diversos processos podem ser utilizados na extração de ouro a partir de minérios. Na rota mais utilizada industrialmente, é realizado o beneficiamento do minério de ouro visando elevar o teor do metal, para, em uma etapa posterior o concentrado gerado ser submetido ao processo extrativo que consiste em uma lixiviação utilizando cianeto de sódio (cianetação). Considerando os efeitos danosos ao meio ambiente e os riscos inerentes ao transporte e manuseio de cianeto, diversos estudos vêm sendo realizados visando o desenvolvimento de rotas tecnológicas alternativas à cianetação como, por exemplo, a lixiviação com tiosulfato. Alguns estudos científicos têm descrito o acúmulo transitório de íons tiosulfato durante bio-oxidação do enxofre elementar por bactérias do gênero *Thiobacillus* em pH próximo à neutralidade. No intuito de realizar um estudo de lixiviação de ouro utilizando tiosulfato produzido por rota biotecnológica, duas cepas desses micro-organismos foram isoladas, inoculando os sedimentos dos lagos do CETEM em caldo de tiosulfato seguido por dois sucessivos isolamentos de colônias simples em meio solidificado.

Palavras chave: Isolamento, bactéria, enxofre, tiosulfato.

ABSTRACT

Several processes can be used for extracting gold from ores. In the most industrially used route, the gold ore beneficiation is carried out so as to increase the gold content, so that at a later stage the concentrate is submitted to the extraction process, which consists of a sodium cyanide leaching. Considering the harmful effects on the environment and the risks inherent to the transport and handling of cyanide, several studies have been carried out aiming at developing a technological alternative route to cyanide, such as leaching with thiosulphate. Some scientific studies have described the transient accumulation of thiosulfate ions during bio-oxidation of elemental sulphur by bacteria of the genus *Thiobacillus* at pH close to neutrality. In order to perform a gold leaching study using thiosulphate produced by biotechnological route, two strains of these microorganisms were isolated, inoculating the sediments of the CETEM lakes in thiosulphate broth followed by two successive isolations of single colonies in solidified medium.

Keywords: Isolation, bacteria, sulphur, thiosulphate.

1. INTRODUÇÃO

Durante anos, o homem vem aplicando os minerais nas mais variadas atividades praticadas no mundo. Nas últimas décadas, a demanda por melhorias na qualidade de vida tem disputado para o gradativo desenvolvimento tecnológico dos setores industriais associados à mineração e metalurgia para a produção de artefatos metálicos, fixando um avanço na demanda pelos diferentes tipos de metais (OLIVEIRA, 2009). Se por um lado a demanda por metais é crescente, por outro, a indústria de mineração está diante do esgotamento das reservas contendo teores elevados de determinados metais. Isso impõe a necessidade de extrair metal a partir de minérios de baixos teores e de rejeitos.

Um dos primeiros minerais descobertos, o ouro, foi explorado pelas primeiras civilizações. Estudos arqueológicos que revelam que no ano de 4000 a.C., o ouro já era manipulado pelos povos da Mesopotâmia. Após esse período, o mineral foi utilizado na manufatura dos objetos sendo espalhados por todas as civilizações do Mediterrâneo Oriental, realçando, principalmente, a arte egípcia. As civilizações como Astecas e Maias, também já trabalhavam com o ouro, aonde já se acreditava que era um metal precioso (SKODA, 2012). No Brasil, é crescente a demanda por ouro e seus derivados, possuindo um destaque em sua produção mundial, na era do ouro entre 1700 e 1850, quando o Brasil foi o maior produtor mundial chegando a produzir 16 toneladas anuais (PORTO *et al.*, 2002).

Segundo SILVA *et al.*, 2001, o processo de descoberta de novos depósitos de ouro nem sempre obedeceu a critérios técnicos rígidos de prospecção, sendo muito dos depósitos descobertos apenas pela perseverança dos mineradores; apesar disso, a pesquisa de depósitos de ouro engloba diversas etapas, em que se busca levantar todos os dados possíveis sobre a área em foco e sobre a sua geologia, buscando-se estabelecer um plano de atividades. A extração pode ocorrer a partir do tipo do depósito, da sua geologia, da sua forma e do comportamento espacial, sendo ela em lavra rudimentar (garimpo), lavra a céu aberto, lavra subterrânea e lavra de *placeres* (sub-aquática). Quanto ao tipo de minério, a maioria dos depósitos de ouro é de origem primária, embora existam depósitos de origem sedimentar. Seu tratamento tem por finalidade a recuperação desse metal, pois este, normalmente, ocorre em baixos teores.

O processamento de minério de ouro pode se restringir a uma mera adequação granulométrica do minério com etapas hidrometalúrgicas subsequentes, ou envolver, além da preparação, estágios de concentração. As propriedades de exploração gera a diferença de densidade e de hidrofobicidade (natural ou induzida) entre o ouro e os minerais a ele associados. As operações de preparo têm que preservar as partículas de ouro livre e o beneficiamento como um todo deve priorizar a recuperação do ouro contido, ficando o teor de ouro no concentrado e a rejeição de impurezas como objetivo secundário (CHAVES *et al.*, 1999).

Após o processamento mineral, o minério é submetido a processos hidrometalúrgicos de lixiviação seguida pela recuperação de ouro de soluções cianídricas. Para tanto, o ouro precisará ser refinado por distintas formas de refino, tais como o refino pirometalúrgico, eletrolítico ou químico (CHAVES *et al.*, 1999).

Dentre os processos hidrometalúrgicos, que podem ser utilizados na extração de ouro, está a lixiviação com tiosulfato. Em 1857 foi relatada, pela primeira vez, a utilização do tiosulfato na extração de ouro (LIDDEL, 1945), em 1905 White utilizou o tiosulfato e vários agentes oxidantes para dissolver pedaços de folha de ouro e, devido ao processo de cianetação, essa técnica foi esquecida. Mais tarde, em 1912, Leher citava a formação de um complexo solúvel de tiosulfato com ouro.

Um dos principais problemas da lixiviação com tiosulfato é o elevado consumo desse reagente durante a extração; além disso, o processo é geralmente lento (HILSON e MONHEMIUS, 2005). Ainda assim, sua utilização tem sido considerada como uma rota alternativa à cianetação considerando a toxicidade do cianeto e o fato do uso ou transporte de cianeto ser proibido em alguns países.

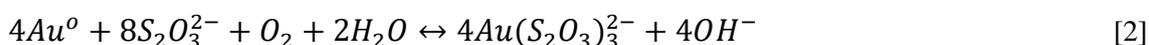
Numa escala industrial, o tiosulfato de sódio é produzido, principalmente, a partir de efluentes líquidos da fabricação do sulfeto de sódio ou corantes de enxofre.

Nos processos biológicos de oxidação de compostos reduzidos de enxofre, o tiosulfato é produzido, como um intermediário de reação, ou seja, o enxofre é oxidado a sulfato perdendo oito elétrons e no meio dessa reação ele passa por tiosulfato e sulfito como intermediários.

De acordo com Madigan *et. al.*, (2004) ocorre a geração de tiosulfato durante a bio-oxidação do enxofre elementar por bactérias dos gêneros *Thiobacillus* e *Acidithiobacillus* conforme a Equação 1, a seguir.



Em pH baixo (inferior a 4) o tiosulfato é instável. A taxa de decomposição química depende da concentração de tiosulfato. Nas culturas em ambiente limitado em tiosulfato, a taxa de decomposição química é insignificante em comparação à taxa de bio-oxidação do tiosulfato devido às baixas concentrações de substrato residual. Da mesma forma, se o ouro estiver presente no sistema, para formar um complexo estável com o tiosulfato, o tiosulfato complexa o ouro, recém-oxidado pelo oxigênio, antes de ser oxidado fazendo, dessa forma, com que o ouro em seu estado elementar (Au^0) seja solubilizado.



Para que a reação de solubilização do ouro aconteça é necessário, ainda, a presença de oxigênio que é o agente oxidante. O tiosulfato atua como agente complexante da reação para formar um complexo aniônico com íons Au(I), como pode ser observado na Equação 2.

Formas reduzidas de enxofre podem ser oxidadas no solo por micro-organismos quimiolitotróficos (podem utilizar energia disponível na oxidação de compostos inorgânicos e CO_2 como fonte de carbono), fotoautotróficos (capazes de fazer a fotossíntese anoxigênica na presença de luz e CO_2 como fonte de carbono) e heterotróficos (utilizam substâncias inorgânicas como fonte de carbono) sendo os quimiotróficos e heterotróficos predominantes em condições de solo bem drenados. Segundo Ghosh e Roy (2006), diversas espécies aeróbias, quimiolitotróficas, e bactérias oxidantes de enxofre anaeróbias, fotolitotróficas, trabalham em sequencia na natureza a fim de conduzir a porção oxidativa do ciclo do enxofre e disponibilizar sulfato assimilável para as plantas. No domínio Bacteria, os gêneros quimiolitotróficos obrigatórios mais comuns encontrados no solo pertencem, predominantemente, a Betaproteobacteria (*Thiobacillus*) e Gammaproteobacteria (*Acidithiobacillus*) (GOSH, 2009; DAM, 2009).

Bactérias do gênero *Thiobacillus* são encontradas em vários tipos de solos podendo oxidar, aerobiamente, o tiosulfato, enxofre elementar, tetrionato e tionato. Trata-se de uma espécie Gram-negativa, com flagelos polares, autotrófica, incapaz de formar esporos, que cresce rapidamente em meio mineral contendo tiosulfato como fonte de energia e, geralmente, promove a formação de depósito de enxofre elementar. Esses depósitos de enxofre elementar (S^0) são especialmente comuns sobre placas de ágar e dão às colônias um aspecto que varia de branco leitoso a amarelo. O pH apropriado para o meio de cultivo deve se encontrar próximo à neutralidade ou levemente alcalino para se propiciar o crescimento desses micro-organismos; no entanto, há atividade na faixa de 4,5 a 7,2 (WHITE *et al.*, 1965). Na prática, a utilização de *Thiobacillus sp.* na solubilização de ouro segue os mesmos princípios, em termos de implementação e de controle de processo, da biolixiviação de sulfetos minerais. Ressalta-se, ainda, que na biolixiviação de sulfetos são utilizadas bactérias capazes de oxidar ferro e enxofre, sendo as oxidantes de enxofre, igualmente produtoras de tiosulfato como intermediário de reação.

2. OBJETIVO

Realizar o isolamento de bactérias oxidantes de enxofre visando sua posterior utilização em estudos de produção biológica de tiosulfato.

3. METODOLOGIA

Seis amostras de solo, coletadas nos arredores do lago do CETEM, foram inoculadas em frascos Erlenmeyers contendo meio de cultura S6 [Na_2HPO_4 : 1,2 g.L⁻¹; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,205 g.L⁻¹; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 0,1 g.L⁻¹; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0,04 g.L⁻¹ e $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0,02 g.L⁻¹] (HUTCHINSON, 1965) com pH ajustado para 6,6 e autoclavado a 120 °C durante 20 minutos. Os frascos foram incubados sob temperatura de 30 °C e agitação orbital de 150 rpm e, para evitar a decomposição do tiosulfato, os cultivos foram mantido ao abrigo da luz (envolvidos por folha de alumínio). A cada três dias, uma propagação 2% v/v era feita em meio de cultivo S6 recém-preparado. Após quatro propagações, os melhores cultivos foram isolados fazendo-se diluição seriada de uma alíquota do cultivo em solução salina (NaCl 0,85 %). As diluições foram plaqueadas em meio S6 solidificado com 12 g.L⁻¹ de agarose.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Duas cepas, designadas AGA-A e AGA-D, foram consideradas os melhores cultivos por apresentarem maior turvação do meio e maior número de células, sendo alcançada, em ambos os cultivos, da ordem de 10⁸ células/mL de caldo de tiosulfato.

A partir do isolamento de colônias simples em meio solidificado agarose, obteve-se colônias de aspecto esbranquiçado que promoviam depósito de enxofre (Figura X).

Na continuidade do estudo, esses isolados serão submetidos ao procedimento de identificação metabólica de acordo com métodos descritos na literatura por Hutchinson *et al.*, a partir do qual será possível identificar quais espécies bacterianas oxidantes de enxofre foram isoladas.

5. CONCLUSÕES

A partir da inoculação de amostras de lama em meio de cultivo contendo sais inorgânicos como fonte de nutrientes e tiosulfato como única fonte de energia, foi possível isolar bactérias oxidantes de enxofre. Tais micro-organismos serão, na continuidade do estudo, utilizados em experimentos de lixiviação de minério de ouro com produção biológica (*in situ*) de tiosulfato.

6. AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica, ao CETEM pela oportunidade de realização das atividades de iniciação científica, aos meus orientadores, Luis Sobral e Débora Monteiro, pela orientação e amizade e a todos que direta ou indiretamente influenciaram neste trabalho.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHAVES, A. P., PERES, A. E. C., **Teoria e prática do tratamento de minérios: britagem, peneiramento e moagem**. São Paulo: Signus Editora, 1999. 238 p.
- GHOSH, W.; DAM, B. Biochemistry and molecular biology of lithotrophic sulphur-oxidation by taxonomically and ecologically diverse Bacteria and Archaea. **FEMS Microbiology**
- GHOSH, W.; ROY, P. Ubiquitous presence and activity of sulphur-oxidizing lithoautotrophic microorganism in the rhizospheres of tropical plants. **Current Science Bangalore**, v. 91, p. 159-161, 2006.
- HILSON, G., MONHEMIUS, A.J. “Alternatives to Cyanide in the Gold Mining Industry: What Prospects for the Future?”, **Journal of Cleaner Production**, 2005.
- LEHER, V., **The transportation and deposition of gold in nature**, **Economic Geology**, 1912.
- LIDDEL, D. M., “**Handbook of non-ferrous metallurgy - Recovery of Metals**”, vol.2 McGraw-Hill, New York, 337 (1945).
- MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. M., PARKER, J., **Microbiologia de Brock**, São Paulo: Prentice Hall, 2004;

- OLIVEIRA, Débora Monteiro. Potencial do tensoativo biológico (Ramnolipídio) comercial na biolixiviação de minério primário de cobre. 2009. 94f. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 2009.
- PORTO, Claudio Gerheim et al. **Panorama da exploração e produção de ouro no Brasil**. Rio de Janeiro, CETEM, 2011. 23p.
- SILVA, Emanuel Apolinário; NERY, Miguel Antonio Cedraz. **Ouro**. Balanço Mineral Brasileiro, Brasília-DF, 2001.
- WHITE, H. A., The solubility of gold in thiosulphate and thiocyanate, **The Journal of the Chemical Metallurgical and Mining Society of South Africa**, 6, 109, 1905.