

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Investigação da Biolixiviação por *Acidithiobacillus ferrooxidans* para Recuperação do
Cobalto de Cátodos de Baterias de Íons Lítio

Matheus Ezequiel de Azevedo

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de
Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em
Biotecnologia.

Uberlândia – MG
Junho – 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Investigação da Biolixiviação por *Acidithiobacillus ferrooxidans* para Recuperação do
Cobalto de Cátodos de Baterias de Íons Lítio

Matheus Ezequiel de Azevedo

Prof. Dr. Fabio Augusto do Amaral

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de
Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em
Biotecnologia.

Uberlândia – MG
Junho – 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Investigação da Biolixiviação por *Acidithiobacillus ferrooxidans* para Recuperação do
Cobalto de Cátodos de Baterias de Íons Lítio

Matheus Ezequiel de Azevedo

Prof. Dr. Fabio Augusto do Amaral
Instituto de Química

Homologado pela coordenação do Curso
de Biotecnologia em ___/___/___

Prof. Dr. Edgar Silveira Campos

Uberlândia – MG
Junho – 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Investigação da Biolixiviação por *Acidithiobacillus ferrooxidans* para Recuperação do
Cobalto de Cátodos de Baterias de Íons Lítio

Matheus Ezequiel de Azevedo

Aprovado pela Banca Examinadora em: / / Nota: _____

Uberlândia, de de

RESUMO

As baterias de íons lítio são formadas por um ânodo (LiC_6) e um cátodo (LiCoO_2), cujo descarte pode causar contaminação ambiental, sendo necessário seu reprocessamento. O trabalho teve como objetivo investigar a eficiência da biolixiviação do LiCoO_2 pela ação de *Acidithiobacillus ferrooxidans* utilizando inóculo a 5% (v/v) em relação ao meio T&K, durante 30 dias, com ênfase na recuperação do cobalto, comparando a eficiência da biolixiviação pelo uso de dois tipos de fonte de energia, uma amostra de minerais e pirita (FeS_2), monitorando o pH com posterior ressíntese do LiCoO_2 pelo método de Pechini para uso do LiCoO_2 reprocessado em células eletroquímicas de baterias de íons lítio. O cultivo da bactéria atingiu maior taxa de biolixiviação do Cobalto (48,8 %) após 20 dias pelo uso das duas fontes de energia em conjunto (0,125 g cada) com elevação do pH até 3,2. O material catódico reprocessado apresentou mistura de fases, uma do HT- LiCoO_2 estequiométrico (material de interesse) e outra do LiCoO .

Palavras-Chave: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, biolixiviação, LiCoO_2 , bateria de íons lítio.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Justificativa.....	13
1.2. Objetivos.....	13
1.2.1 Objetivos gerais.....	13
1.2.2 Objetivos específicos.....	14
2. METODOLOGIA.....	15
2.1 Obtenção do resíduo LiCoO_2	15
2.2 Caracterizações dos materiais utilizados como fonte de energia e do material catódico descartado.....	15
2.2.1 Caracterização estrutural das fontes de energia.....	16
2.2.2 Caracterização do material catódico descartado e reprocessado por DRX.....	17
2.3. Investigação da biolixiviação bacteriana por <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	17
2.3.1. Preparo dos meios de Cultivo das linhagens de <i>A. ferrooxidans</i>	18
2.3.2. Preparo do meio T&K-agarose	18
2.4. Preparo dos inóculos.....	20
2.4.1. Adaptação dos microrganismos à pirita e à amostra de minerais.....	20
2.4.2 Adaptação dos microrganismos ao resíduo catódico LiCoO_2	20
2.4.3 Padronização do inóculo e cultivos de linhagens de <i>A. ferrooxidans</i>	21
2.5. Caracterização morfológica bacteriana por microscopia ótica.....	22
2.6. Uso de células adaptadas à fonte de energia e ao resíduo para a Biolixiviação do LiCoO_2	22
2.6.1. Variação da natureza e da concentração das fontes de energia.....	23
2.6.2. Acompanhamento do tempo de biolixiviação.....	23
2.7. Avaliação da eficiência do processo de biolixiviação.....	23
2.8. Reprocessamento do material recuperado	24

2.8.1. Recuperação do cobalto em solução via método Pechini.....	24
2.8.2. Caracterização dos géis obtidos	26
2.9. Calcinações dos géis obtidos.....	26
2.10. Caracterização estrutural das amostras calcinadas por DRX	27
2.11. Calcinação dos precipitados.....	27
2.12. Caracterização estrutural dos materiais reprocessados por DRX.....	27
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
3.1 Caracterização estrutural por DRX dos materiais utilizados como fonte de energia.....	28
3.2 Crescimento e propagação dos microrganismos	34
3.3 Adaptação aos meios de cultivo investigados.....	34
3.4 Avaliação da pureza dos cultivos.....	37
3.4.1 Características das colônias crescidas em placa	38
3.4.2 Características das células bacterianas cultivadas	39
3.4.3 Concentração de células no inóculo	40
3.5 Biolixiviação.....	41
3.5.1 Investigação da variação da fonte de energia da bactéria.....	42
3.6 Síntese de novos materiais a partir da solução biolixiviada contendo cobalto.....	49
3.7 Caracterização estrutural por DRX das amostras sintetizadas e do resíduo de biolixiviação.....	63
3.8 Caracterização por Análise Termogravimétrica (TGA)	73
4 CONCLUSÕES.....	76
5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento tecnológico, industrial e, conseqüentemente o desenvolvimento econômico de um país está intrinsecamente ligado à utilização intensiva, embora racional, dos recursos minerais de seu território, visto que a matéria prima dos minérios é utilizada na produção de diversos bens de consumo cotidiano indispensáveis na vida da maioria da população (IBRAM, 2014).

A hidrometalurgia é o ramo da mineração que envolve o uso de soluções aquosas para a recuperação de metais de minérios, concentrados e materiais reciclados ou residuais, desempenhando um papel fundamental na indústria multimilionária de processamento de minerais. Envolve a separação seletiva de vários metais em solução com base em diferenças entre suas características térmicas, ou a recuperação de metais a partir de soluções através de processos de redução eletroquímica ou através da cristalização de sais (BHARGAVA; POWNCEBY; RAM, 2016).

Os processos hidrometalúrgicos garantem a extração de metais do solo, sua separação e dissolução em meio aquoso, porém utilizam quantidades significativas de reagentes pouco seletivos e de reatividade lenta na extração do metal de interesse, gerando efluentes deletérios para o meio ambiente (VEIT et al., 2006).

De acordo com Nascente e Ferreira (2007), impacto ambiental é definido como qualquer modificação das propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente, acarretada por qualquer forma de matéria ou energia resultante das atividades econômicas que afetem a saúde, segurança, bem-estar da população e o meio ambiente, conforme a Resolução n.º 001/86 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

As conseqüências ambientais relacionadas à mineração estão associadas às diversas fases de exploração dos bens minerais, desde as atividades relacionadas com a escavação do solo

(retirada da vegetação, movimentação de terra e modificação da paisagem local), a utilização de explosivos na separação da rocha (sobre pressão atmosférica, vibração do terreno, ultra lançamento de fragmentos, fumos, gases, poeira, ruído) e ao transporte e beneficiamento do minério (geração de poeira e ruído), afetando a água, o solo, o ar e a população local (SILVA, 2007).

No Brasil os problemas ambientais mais importantes causados pela atividade mineradora são a poluição do ar, da água e a poluição sonora, afundamento gradativo da superfície do terreno, rejeitos radioativos e degradação do subsolo em áreas urbanas (FARIAS; COELHO, 2002).

A mineração é explicitamente citada na Constituição Federal de 1988, através do Art.225 § 2º – “Aquele que explorar recursos minerais fica obrigado a recuperar o meio ambiente degradado, de acordo com solução técnica exigida pelo órgão público competente, na forma da lei” (IBRAM, 2014).

As atividades mineradoras de acordo com Mendes e Vieira (2010) podem ter seus efeitos deletérios ao meio ambiente, mitigados com a utilização de medidas como a implantação de cortinas arbóreas e de unidades de tratamento de esgoto para diminuição dos impactos visuais e da poluição das águas respectivamente, além da utilização de técnicas de biolixiviação como forma de evitar os impactos de poluição do solo e diminuição da emissão de poluentes.

Assim o reprocessamento de metais é um processo interessante tanto para acompanhar as diretrizes ambientais, diminuindo as consequências ecossistêmicas da mineração, quanto financeiramente, já que a reutilização desses metais diminui os custos com a busca de novas matérias primas.

A biolixiviação, ou lixiviação bacteriana, tem sido o foco de muitos investimentos por ser um método de reprocessamento de metais mais limpo que os processos hidrometalúrgicos tradicionais, com custos inferiores e ambientalmente mais aceito, pois não gera gases tóxicos, não utiliza reagentes venérficos em seu processamento, não demanda mão de obra

especializada durante sua operação e faz uso de matéria prima e equipamentos mais baratos (PRADHAM et al., 2008; WATLING, 2006).

Apesar de a biolixiviação ser aplicada na mineração, muitas pesquisas têm sido realizadas com intuito de aplicá-la na recuperação de metais a partir de fontes secundárias (resíduos compostos por metais passíveis de serem recuperados), tais como aparelhos eletrônicos (GERBASE; OLIVEIRA, 2012).

De acordo com Brierley e Brierley (1999), a biolixiviação possui uma baixa demanda de energia e espaço para sua utilização. Possui baixo custo de implementação e de manutenção (SANTANA, 2016), sendo eficiente na recuperação de minérios de baixo teor (BOSECKER, 1997).

A biolixiviação é definida por Vaisbich, Moraes Pinto e Borzani (1979) como um processo natural de dissolução de sulfetos resultante da ação de um grupo de microrganismos específicos que utilizam substratos inorgânicos como fonte de energia. Segundo Santos (2011) as bactérias presentes em ocorrências minerais, produzem insumos necessários para a lixiviação, tais como ácidos e íons férricos; e a principal bactéria envolvida neste processo é a *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

As bactérias mesófilas mais frequentemente encontradas em ambientes de lixiviação são linhagens das espécies *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans*. *A. ferrooxidans* foi a primeira espécie isolada, em 1949, e descrita, em 1952 do gênero *Acidithiobacillus* em regiões mineradas sendo, portanto, a mais amplamente investigada, tanto em estudos genéticos quanto em ensaios de biolixiviação (WATLING, 2006).

Segundo Xin et al. (2016), o crescimento e a atividade dos microrganismos biolixiviativos requerem pH, temperatura e aeração adequados. Como são consideradas bactérias acidófilas, um pH menor que 6 é especialmente importante para seu crescimento e atividade. Os cátodos

de baterias gastas sempre contêm uma alta concentração de matérias alcalinas como óxidos ou hidróxidos, dessa forma o consumo de ácido na biolixiviação de baterias usadas é muito maior do que na biolixiviação de outros materiais sólidos, como minérios ou solo poluído (XIN et al, 2016).

A. ferrooxidans é um microrganismo quimiolitotrófico, acidófilo, aeróbio, classificado como Gram-negativo. Essa bactéria possui formato de bastonete com dimensões médias de 0,5 à 0,6 µm de diâmetro por 1,0 à 2,0 µm de comprimento, ocorrendo sozinho ou em pares, raramente em cadeias pequenas (RAWLINGS; JOHNSON, 2007; MOUSAVI et al., 2006). Adquire energia para fixar CO₂ atmosférico, e realizar outras funções metabólicas, através da oxidação de íons ferrosos e da redução de compostos do enxofre (PRADHAN; SRINIVASA, 2008). Tem temperatura ótima de crescimento entre 30 °C e 35 °C (mesófila) e faixa de pH ideal entre 1,8 e 2,5 (MERUANE; VARGAS, 2003; DONATI; SAND, 2007). *A. ferrooxidans* possui ainda boa tolerância às elevadas concentrações de íons metálicos (LEDUC; FERRONI; TREVORS, 1997), o que é muito útil para os processos de biolixiviação.

A tolerância do microrganismo *A. ferrooxidans* a certos tipos de elementos tem sido alvo de pesquisas, de acordo com estudos realizados por Ma et al. (2017) a oxidação do enxofre por *A. ferrooxidans* é suprimida por pequena quantidade de flúor e quando a mesma é cultivada em meio rico em Fe²⁺, os microrganismos apresentam maior tolerância a fluoreto que se cultivadas em meio rico em enxofre.

A bactéria *A. ferrooxidans* possui capacidade de oxidação de uma grande quantidade de sulfetos metálicos, como a calcopirita (CuFeS₂), pirita (FeS₂), covelita (CuS), galena (PbS), esfalerita (ZnS) dentre outros que são expostos na Tabela 1 (adaptado de FRANCISCO JUNIOR; BEVILAQUA; GARCIA JÚNIOR, 2007).

Tabela 1: Minérios biolixiviados por *A. ferrooxidans*.

Minério	Metal	Referência
Calcopirita (CuFeS ₂) Covelita (CuS) Bornita (Cu ₅ FeS ₄)	Cobre	Baldi et al. (1992)
Uraninita (UO ₂)	Urânio	Muñoz et al. (1995)
Molibdenita (MoS ₂)	Molibdênio	Francisco Júnior, Bevilaqua e Garcia Júnior (2007)
Esfarelita (ZnS)	Zinco	Viera, Pogliani e Donati (2007)
Pirrotita (FeNiS) Nicolita (NiAs) Pentlandita (FeNi ₉ S ₈)	Níquel	Dosh e Mishira (2007)
Pirita (FeS ₂) Arsenopirita (FeAsS)	Ouro	Olson, Brierley e Brierley (2003)
Esmaltita (CoAs ₂)	Cobalto	Viera, Pogliani e Donati (2007)
Galena (PbS)	Chumbo	Mejía et al. (2012)

De acordo com Pinto (2006) e como exposto na equação 1 da Tabela 2, quando a pirita (dissulfeto de ferro - FeS₂) é exposta ao ar e a água, sua oxidação ocorre lentamente, sendo convertida em sulfato ferroso e ácido sulfúrico. Se bactérias semelhantes à *A. ferrooxidans* estão presentes no meio, o sulfato ferroso é oxidado rapidamente à sulfato férrico e água, sendo que o Fe²⁺ atuará como doador de elétrons para a bactéria (equação 2). O sulfato férrico atua sobre a pirita e produz mais sulfato ferroso e enxofre elementar (equação 3). O sulfato ferroso pode ser rapidamente oxidado produzindo novamente os produtos da equação 3. Finalmente o Enxofre pode ser oxidado, por mecanismo de ação direta da bactéria, para produzir ácido sulfúrico (equação 4). Essas reações que estabelecem o ciclo de transformações de Fe²⁺ para Fe³⁺ ocorrem por ação de *A. ferrooxidans*.

Tabela 2: Equações químicas da oxidação da Pirita.

$\text{FeS}_2 + 3,5\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{FeSO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$	(1)
$2\text{FeSO}_4 + 0,5\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + \text{H}_2\text{O}$	(2)
$\text{FeS}_2 + \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \rightarrow 3\text{FeSO}_4 + 2\text{S}$	(3)
$3\text{S} + 3\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2\text{SO}_4$	(4)

Minerais de ferro como pirita (FeS_2) e pirrotita (Fe_{1-x}S) são constituintes muito comuns em amostras naturais de sulfetos metálicos (FRANCICO JUNIOR; BEVILAQUA; GARCIA JÚNIOR, 2007), podendo ser empregados como fonte de energia para *A. ferrooxidans*, o que possibilitaria a utilização das duas espécies mais descritas na literatura, *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans* em consórcio, potencializando os resultados da biolixiviação de metais (CAICEDO; MÁRQUEZ, 2010; CHIACCHIARINI; DE LA FUENTE; DONATI, 2003).

Atualmente, a biolixiviação de minérios é empregada em escala industrial principalmente para a obtenção de cobre e ouro (MORIN et al., 2006). Entretanto, também pode ser utilizada para a recuperação de outros metais a partir de minérios ou rejeitos com baixo teor, como: urânio, cobalto, molibdênio, níquel e chumbo (EHRlich, 1997).

A lixiviação de metais presentes em fontes secundárias através da ação de microrganismos tem sido o foco de diversas pesquisas atualmente e vem apresentando resultados promissores. Entre os resíduos utilizados como matéria-prima encontram-se: o lodo proveniente de plantas de galvanização, contendo zinco (BAYAT; SARI, 2010); resíduos eletroeletrônicos (ZHU et al., 2011); resíduos metálicos mistos (LEWIS et al., 2011); a lama vermelha, um resíduo do processamento da bauxita que contem óxidos de ferro, alumínio, dióxido de titânio, sílica, óxido de sódio e óxido de cálcio (QU et al., 2013); pilhas e baterias (ZHU et al., 2003); rejeito da fundição de cobre (VESTOLA et al., 2010); cinzas (XU; TING, 2009) e

sedimentos (SEIDEL et al., 2006). A utilização dessa grande variedade de resíduos como matérias primas em processos de biolixiviação e seus resultados promissores, evidencia que a utilização dos mesmos em conjunto pode ser benéfica ao processo biolixiviativo.

De acordo com Santana (2016), a biolixiviação por ser um processo biológico, sofre interferência de vários fatores que influenciam a eficiência das reações desencadeadas pelos microrganismos. Os principais fatores podem ser divididos em quatro grupos, os relacionados às **condições físico-químicas** do processo, às **condições dos microrganismos**, às **características do resíduo a ser biolixiviado** e às **condições do processo** de biolixiviação. As **condições físico-químicas** do processo possuem grande influência sobre a eficácia do mesmo, o pH em valores menores favorece a dissolução de óxidos, a temperatura ótima varia de acordo com o microrganismo, ocorrendo preferencialmente em temperaturas superiores à 30 °C, apesar disso o processo pode ser encontrado sob temperaturas menores (AHONEN; TUOVINEN, 1992). Os potenciais redox e de água podem afetar a atividade microbiana. A concentração e disponibilidade de oxigênio (O₂) e gás carbônico (CO₂) são variáveis importantes no crescimento e metabolismo dos microrganismos, assim como a disponibilidade de nutrientes, a concentração de Fe (III), a pressão, tensão superficial e presença de inibidores tóxicos (SANTANA, 2016).

As **condições dos microrganismos** também são importantes para o processo biolixiviativo, como a diversidade microbiana, capaz de favorecer a biolixiviação caso seja estabelecida uma relação de protocooperação, a concentração celular e atividade microbiana, já que o uso de inóculos adaptados ao metal e que se encontram na fase de crescimento exponencial aumenta a atividade microbiana e, conseqüentemente a velocidade da biolixiviação, a forma de distribuição das células no meio, onde meios líquidos sob agitação constante favorecem a dispersão dos microrganismos, a tolerância ao metal de interesse ou a outros metais presentes no processo e por fim a capacidade de adaptação do microrganismo (SANTANA, 2016).

O **resíduo a ser biolixiviado** também é uma condição significativa ao processo, o tipo do material utilizado, sua composição e distribuição no meio de cultura, já que a presença de 2 sulfetos irá originar uma célula galvânica onde o sulfeto mais ativo sofrerá corrosão (será biolixiviado) e o outro permanecerá em solução, pode ser prejudicial se o metal de interesse estiver no sulfeto menos ativo (CRUZ et al., 2005). O tamanho de suas partículas (quanto menor a partícula, maior a área superficial de contato com os microrganismos), porosidade, hidrofobicidade (materiais muito hidrofóbicos prejudicam o contato com os microrganismos). A formação de novos minérios pode reduzir a eficiência biolixiviativa visto que certos compostos podem sofrer precipitação e tornar o material inacessível aos microrganismos (HIROYOSHI et al., 1999).

O **processo biolixiviativo** deve possuir condições corretas, podendo ser feito de formas diferentes, como em pilhas, colunas ou frascos agitados, sendo que a velocidade de agitação interfere diretamente na disponibilidade de oxigênio, porém velocidades muito altas podem prejudicar a formação do biofilme. Além disso, a relação entre o volume do meio e do material a ser lixiviado devem ser levados em consideração, uma vez que altas concentrações do material no meio podem inibir o crescimento microbiano, afetando a disponibilidade de O₂ e CO₂, a obtenção de nutrientes, luz, além da possibilidade de ultrapassar a concentração letal para o microrganismo (SANTANA, 2016).

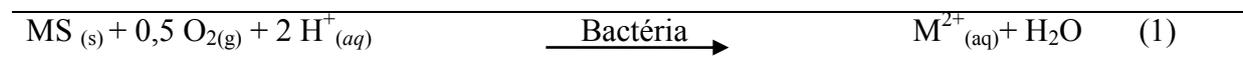
Neste contexto, a biolixiviação pode ser considerada um processo intrincado que envolve interações entre condições biológicas, químicas e físicas que ainda não foram completamente elucidadas (GHASSA et al., 2014; PANDA et al., 2013). Os microrganismos são importantes no processo de dissolução de minerais, que ocorre, por meio de uma grande variedade e reações bioquímicas (YELTON et al., 2013). Vários estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de esclarecer os mecanismos envolvidos nos processos de biolixiviação de metais. A maioria dos autores resumem os processos de biolixiviação em dois tipos de mecanismos de

atividade microbiana: **Direto e Indireto** (CRUNDWELL, 2003).

O mecanismo **direto** consiste no contato sem intermediários, do microrganismo com a superfície do mineral e oxidação do mesmo por meio de reações enzimáticas, já no mecanismo **indireto** os microrganismos regeneram o agente oxidante do mineral mediante a oxidação de íons ferrosos para íons férricos, de acordo com esses mecanismos, os microrganismos atuam como catalisadores ao aumentarem a taxa de dissolução dos minerais de sulfureto (GHASSA et al., 2014).

Como elucidado na Tabela 3, no mecanismo **direto**, a bactéria produz uma enzima que atua, em meio ácido (H^+), diretamente sobre o material (MS), não ocorrendo espécies químicas intermediárias, oxidando o material e liberando o metal oxidado (M^{2+}) com produção de água (SILVERMAN; EHRLICH, 1964).

Tabela 3: Equação do Mecanismo direto de biolixiviação.



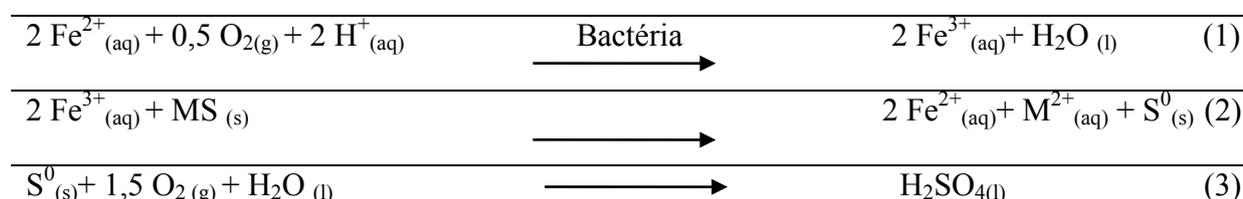
O mecanismo **direto** é subdividido por alguns autores em mecanismo de **contato direto** e mecanismo de **contato indireto** (CRUNDWELL, 2003; HANSFORD; VARGAS, 2001). O mecanismo de **contato direto** consiste em processos onde a bactéria se liga diretamente à superfície do material, principalmente por meio de interações apolares. Como concentrações celulares mais significativas permitem a dissolução de maiores quantidades de metal, a taxa de dissolução nesse tipo de mecanismo estará relacionada à quantidade de bactérias aderidas à superfície do material (HARNEIT et al., 2006).

Alguns gêneros de bactérias biolixivantes, como *Acidithiobacillus*, possuem a habilidade de produzir carboidratos denominados de exopolissacarídeos (polissacarídeo extracelular - EPS).

O EPS interage com o material eletrostaticamente (SAND et al., 2001), proporcionando uma área de interação para onde o microrganismo direciona suas enzimas e realiza a oxidação do material. Assim não há um contato direto do microrganismo com o material e, portanto, o mecanismo é de **contato indireto** (d'HUGUES, 2008).

No mecanismo **indireto, não são as enzimas**, mas as espécies químicas oxidadas que oxidam o material. O íon férrico (Fe^{3+}) atua na dissolução de metais como indicado na Tabela 4.

Tabela 4: Equações do mecanismo indireto de biolixiviação.



Como demonstrado na Tabela 4, o microrganismo oxida o íon ferroso (Fe^{2+}) para obtenção de energia, enquanto aumenta a concentração de Fe^{3+} no meio (1). A presença deste agente oxidante vai aumentar a taxa de lixiviação de sulfetos e outros materiais (MS) passíveis de serem oxidados, restabelecendo o íon Fe^{2+} (que pode ser reutilizado pelo microrganismo) com liberação de metal livre (M^{2+}) e posteriormente enxofre (S^0) (3), quando o enxofre é oxidado por ação microbiana, ocorre a produção de ácido sulfúrico, acidificando o meio (3) (McGORAN; DUNCAN; WALDEN, 1969).

Alguns autores defendem outros tipos de classificação dos mecanismos de biolixiviação. De acordo com Kocaman, Cemek e Edwards (2016), a biolixiviação possuiu três etapas. No primeiro estágio, bactérias se ligam à superfície mineral. Na segunda fase, a ligação bacteriana diminui devido à saturação da superfície, portanto, a concentração de células planctônicas na solução de lixiviação aumenta. Na última etapa, um equilíbrio entre células planctônicas e anexadas é alcançado. As células aderidas a algum tipo de substrato são

denominadas anexadas, enquanto aquelas livres e dispersas no meio são denominadas por planctônicas.

As culturas de *A. ferrooxidans* são ricas em Fe^{3+} , substâncias poliméricas extracelulares (EPS) ligadas a células, e / ou liberadas, e minerais secundários da oxidação de ferro (KURADE et al., 2014). As bactérias *A. ferrooxidans* requerem a presença de íon ferroso como substrato de energia e realiza hidrólise de Fe^{3+} a partir da bio-oxidação de Fe^{2+} , gerando H^+ e conseqüentemente a diminuição do pH do meio para valores próximos de 2,5. Um pH tão baixo propicia a liviação de metais (WONG et al., 2015)

A concentração do resíduo LiCoO_2 (cobaltato de lítio) no meio de crescimento da *A. ferrooxidans* é um fator impactante para o desenvolvimento da biolixiviação. Estudos sugerem que ao aumentar a quantidade do resíduo, há um aumento no processo de biolixiviação, tendendo a uma estabilização máxima. A concentração de cobalto no meio de cultivo aumenta com o aumento da massa de LiCoO_2 adicionada ao meio de *A. ferrooxidans*, mas ao mesmo tempo a extração do cobalto diminui. A concentração máxima biolixiviada ($\sim 1200 \text{ mg L}^{-1}$) é bastante alta sendo capaz de prejudicar a reprodução do microrganismo, mesmo que a *A. ferrooxidans* seja resistente à elevadas concentrações de metais (SANTANA, 2016)

As baterias recarregáveis de íons lítio são formadas por duas partes principais: o ânodo formado por grafite litiado (LiC_6), e o cátodo normalmente formado por LiCoO_2 (cobaltato de lítio) (BUSNARDO; PAULINO; AFONSO, 2007; CALGARO et al., 2012).

Seu princípio de funcionamento baseia-se no processo de intercalação iônica nos materiais de eletrodo, sendo que os íons lítio (Li^+) migram do ânodo para o cátodo espontaneamente no processo de descarga. Quando um Li^+ é intercalado em um dos eletrodos, outro íon Li^+ é extraído do eletrodo oposto. Para manter a neutralidade, um elétron deve sempre acompanhar o íon Li^+ quando este for intercalado, por condução eletrônica e iônica, respectivamente,

ocorrendo desta forma um ciclo de redução e oxidação dos materiais eletródicos (BOCCHI; FERRACIN; BIAGGIO, 2000).

Um método que pode ser utilizado para recuperar e reprocessar o cobalto biolixiviado pelas bactérias, já em solução, é o método pechini. Esse método contribui para a obtenção de óxidos com única fase cristalográfica referente a HT-LiCoO₂ com atividade eletroquímica. O princípio deste método consiste na formação de quelatos entre os cátions metálicos e ácido carboxílico (ácido cítrico) com reação de esterificação entre o quelato formado e um poliálcool (Etilenoglicol), dando origem a um precursor polimérico. A substância formada, após calcinação em temperatura e tempo apropriados, irá produzir um óxido homogêneo após tratamento térmico. O método pechini pode ocorrer em temperaturas baixas, permitindo o controle estequiométrico dos átomos na estrutura cristalina e a obtenção de pós altamente puros, tornando-se um método para obtenção de materiais catódicos (AMARAL et al.; 2015; COSTA et al., 2007) como o LiCoO₂.

A literatura aponta que a biolixiviação com uso de *A. ferrooxidans* na recuperação de metais de fontes secundárias, em especial o cobalto, é uma ferramenta importante na busca de soluções dos problemas ambientais causados pela mineração e utilização de baterias de cátodos íon lítio. Santana (2016) investigou as condições da biolixiviação para recuperação do cobalto presente nas baterias de íons lítio pelo uso de linhagens de *A. thiooxidans* que apresentou taxas menores de biolixiviação máxima de 50% após 24 dias de experimento enquanto a linhagem de *A. ferrooxidans* apresentou taxas superiores à 50% em todos os experimentos, para o mesmo período de investigação. O uso do consórcio das duas linhagens também foi investigado, apresentando resultados similares aos das linhagens individuais, porém com menor tempo para atingir a taxa máxima de biolixiviação. No entanto, a natureza da fonte de energia não foi investigada no trabalho de Santana, premissa do presente trabalho.

1.1 JUSTIFICATIVA

Com o crescente aumento no consumo de aparelhos portáteis, o gasto com suas fontes de energia também se elevou. Assim, muito tem sido investido nessa área, para garantir o aprimoramento das baterias que alimentam esses dispositivos. Dentre os vários tipos de baterias existentes no mercado atual, grande parte é do tipo de íons lítio (ELEMENT ENERGY, 2012). As baterias de íons lítio representam um grande problema ambiental. Devido principalmente ao descarte errôneo e a carência de tratamentos adequados dos resíduos de seus elementos constituintes (REIDLER; GÜNTHER, 2002).

O método de biolixiviação se mostra eficiente para recuperação de metais presentes em aparelhos eletrônicos, que geram resíduos metálicos passíveis de serem recuperados. O cobalto biolixiviado pode ser recuperado do meio de biolixiviação e ser utilizado normalmente na síntese de novos compostos e materiais de interesse econômico, reduzindo o custo de produção e, conseqüentemente, reduzindo o preço final do produto (PRADHAN et al., 2008).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivos gerais

O objetivo do trabalho foi investigar a eficiência da biolixiviação do LiCoO_2 , extraído de baterias íons lítio, pela ação de *A. ferrooxidans*, com ênfase na recuperação do cobalto, e comparando a eficiência da biolixiviação através do uso de FeS_2 e da amostra de mistura mineral, como elevado de teor de ferro, como fonte de energia.

1.2.2 Objetivos específicos

- Extrair o resíduo catódico LiCoO_2 de baterias íons lítio descartadas;
- Estabelecer as condições ideais para o cultivo da linhagem de *A. ferrooxidans*;
- Promover a adaptação e crescimento do microrganismo na presença do resíduo catódico LiCoO_2 ;
- Comparar a eficiência da biolixiviação pela variação das fontes de energia do microrganismo pelo uso de pirita (FeS_2) e uma amostra de minerais;
- Avaliar a influência da adição de pirita e da amostra de minerais como fonte de energia no processo de biolixiviação;
- Avaliar o efeito das variações de:
 - Concentração de fonte de energia;
 - Tempo de biolixiviação;
 - Concentração de resíduo.
- Promover a biolixiviação do resíduo LiCoO_2 por linhagem de *A. ferrooxidans*;
- Avaliar o efeito do monitoramento do pH do meio biolixivante;
- Quantificar o cobalto biolixiviado por Espectrometria de Absorção Atômica;
- Reprocessar o cobalto biolixiviado por síntese Pechini.

2 METODOLOGIA

2.1 Obtenção do resíduo LiCoO_2

O material de cátodo LiCoO_2 (resíduo a ser biolixiviado) foi extraído pela abertura manual de baterias íons lítio, recolhidas no *Campus* Santa Mônica da Universidade Federal de Uberlândia, em projeto de extensão pertinente à conscientização de alunos e profissionais que frequentam o Campus Santa Mônica da Universidade Federal de Uberlândia de descarte correto de pilhas e baterias.

Inicialmente as baterias coletadas foram esgotadas eletricamente e abertas manualmente, utilizando-se alicates de corte e de pressão. As fitas que compõem os eletrodos da bateria (fita de alumínio que contém o cátodo LiCoO_2 e de cobre que contém o anodo grafite litiado) e a fita de polímero que separa os eletrodos (embebida de eletrólito) foram separadas. Por sua vez, o material do cátodo foi separado da fita de alumínio (coletor de corretor) manualmente por raspagem e macerado com auxílio de pistilo em um almofariz para formar um pó homogêneo. Este pó que foi utilizado como resíduo no processo biolixiviativo é composto pela mistura de LiCoO_2 (85 %) + PVDF (fluoreto de polivinilideno) (5 %) + carbon black[®] (10 %).

2.2 Caracterizações dos materiais utilizados como fonte de energia e do material catódico descartado

2.2.1 Caracterização estrutural das fontes de energia

A caracterização estrutural da amostra de Minerais e da FeS_2 (pirita) foi realizada por difratometria de raios X (DRX) utilizando um difratômetro Shimadzu (Modelo 6000, radiação $\text{Cu K}\alpha$ $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ com uma voltagem de 40 kV, corrente de 30 mA, à velocidade de $1 \theta \text{ min}^{-1}$, de 5° a 80° para ambas as amostras. O programa *Unit cell parameter* foi utilizado para a determinação dos parâmetros de célula unitária das fontes de energia investigadas neste trabalho e o programa *PeakFit* foi utilizado para determinar e analisar os picos referentes as amostras.

A amostra de mistura mineral (Amostra de Minerais), com elevado teor de ferro, magnésio e cálcio consiste em um espécime sólido, na forma de pó com coloração bege, granulidade fina e composta por diversos micro e macronutrientes em concentrações diferentes, como é explicitado na Tabela 5. A amostra de minerais possui elevada concentração de ferro, assim essa amostra será utilizada durante o processo de biolixiviação do LiCoO_2 como uma das fontes de energia, em comparação com a pirita.

Tabela 5: Componentes da Amostra de Minerais.

Componentes/ Unidade de Medida de Concentração	Medidas de Concentração (Valores aproximados)/ g Kg⁻¹
Ferro	37
Cálcio	12
Magnésio	2
Manganês	0,85
Sódio	0,36
Zinco	0,08
Cobalto	0,018

2.2.2 Caracterização do material catódico descartado e reprocessado por DRX

O material catódico (LiCoO₂) foi separado do coletor de corrente da bateria descartada por raspagem manual e utilizado para a caracterização estrutural por DRX por Shimadzu (Modelo 6000, radiação Cu K α λ = 1,5406 Å com uma voltagem de 40 kV, corrente de 30 mA, à velocidade de 2 θ min⁻¹, de 10° a 80° para a amostra.

2.3 Investigação da biolixiviação bacteriana por *Acidithiobacillus ferrooxidans*

A biolixiviação do cobalto presente no material catódico das baterias de íons lítio foi feita com a utilização das linhagens de *A. ferrooxidans*, cultivadas por metodologia adaptada do trabalho de Mishra et al. (2008). As cepas de linhagens das bactérias foram cedidas pela Prof^a. Dr^a. Denise Bevilaqua do Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química da Universidade Estadual Paulista (UNESP-Araraquara).

2.3.1 Preparo dos meios de Cultivo das linhagens de *A. ferrooxidans*

A etapa de crescimento bacteriano foi feita com a utilização do meio T&K que apresenta um pH ácido, diminuindo a precipitação de ferro e simplificando as análises posteriores (TUOVINEN; KELLY, 1973). Santana (2016) verificou que o crescimento das linhagens do microrganismo *A. ferrooxidans*, foi favorecido em meio T&K, constatado qualitativamente; apresentando uma melhor adaptação. O meio T&K é formado por 2 soluções diferentes utilizadas em conjunto, como exposto na Tabela 6. A **solução A** é composta por sais necessários ao desenvolvimento dos microrganismos e a **solução B** obtida a partir de compostos utilizados como **fonte de energia** para as bactérias. Para a linhagem de *A. ferrooxidans* foi preparada uma solução de FeS₂ e a solução da Amostra de Minerais a 147,4 g L⁻¹. O pH do meio foi ajustado para 1,8, pois o microrganismo é acidófilo e necessita de pH ácido para se desenvolver (MERUANE; VARGAS, 2003; DONATI; SAND, 2007).

Tabela 6: Composição do meio T&K.

Meio T&K	
Solução A	
Reagentes	Concentração / g L⁻¹
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5
K ₂ HPO ₄	0,5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5
pH ajustado para 1,8 com H ₂ SO ₄	
Solução B	
FeS ₂ e/ou Amostra de Minerais a 147,4 g L ⁻¹ para <i>A. ferrooxidans</i> ,	

2.3.3 Preparação do meio T&K - agarose

O meio T&K - agarose foi utilizado durante o processo de caracterização das colônias microbianas e **padronização do inóculo**. Utilizou-se uma solução de agarose a 0,5 %

acrescentada ao meio T&K, visto que de acordo com Garcia Júnior e Urenha (2001), a agarose apresentou resultados mais satisfatórios do que o ágar. O meio foi produzido com a seguinte concentração de acordo com a Tabela 7:

Tabela 7: Composição do meio T&K-agarose.

Meio T&K - Agarose	
Solução A	
Reagentes	Concentração / g L⁻¹
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,0
K ₂ HPO ₄	0,1
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,0
pH ajustado para 1,8 com H ₂ SO ₄	
Solução B	
FeS ₂ e Amostra de Minerais a 334 g L ⁻¹ para <i>A. ferrooxidans</i> ,	

2.4 Preparações dos inóculos

As linhagens de *A. ferrooxidans* foram incubadas e repicadas, de forma a se proporcionar a multiplicação das células. Os cultivos foram incubados em incubadora orbital à 30 °C e velocidade constante de 130 rpm, utilizando-se concentração de inóculo de 5 % (v/v) por 3 dias em meio T&K (SANTANA, 2016).

Os microrganismos foram repicados na fase exponencial, por meio de verificação das características já citadas e observação em microscópio, garantindo a ocorrência de rápida propagação das células, após uma segunda verificação do crescimento, os cultivos foram submetidos às etapas de adaptação na presença do LiCoO_2 .

2.4.1 Adaptação dos microrganismos à pirita e à amostra de minerais

Os microrganismos inicialmente foram adaptados à FeS_2 e a amostra de minerais como fonte de energia. Para isso, em erlenmeyers de 250 mL, 5 % (v/v) de inóculo foram inoculados em 100 mL de meio T&K, com adição de 0,125 g de pirita e 0,125 g da amostra de minerais.

2.4.2 Adaptação dos microrganismos ao resíduo catódico LiCoO_2

Os microrganismos foram estimulados a se adaptar ao resíduo LiCoO_2 após primeira adaptação à fonte de energia. Para isso, foram acrescentadas quantidades crescentes de LiCoO_2 a solução de crescimento bacteriano. Inicialmente os microrganismos foram inoculados em meio T&K contendo 0,125 g de LiCoO_2 , em erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de meio T&K. Após três dias de adaptação, uma alíquota de 5 mL do meio de

crescimento foi retirada, e inoculada em meio contendo 0,250 g de LiCoO_2 , pelo mesmo procedimento essa quantidade foi aumentada até atingir 1,0 g do resíduo LiCoO_2 .

2.4.3 Padronização do inóculo e cultivos de linhagens de *A. ferrooxidans*

Os microrganismos foram cultivados em meio T&K (TUOUVINEN; KELLY, 1973). Os cultivos foram preparados em erlenmeyers de 250 mL com adição de 100 mL de meio T&K, e inóculo foram preparados na proporção de 5 % (v/v) (para cada 100 mL de meio T&K, utilizou-se 5 mL do inóculo) de acordo com a metodologia de Santana (2016). Os cultivos de *A. ferrooxidans* foram padronizados por contagem em placa usando meio T&K agarose seguindo a metodologia de Oliveira (2014).

O **inóculo** da linhagem de *A. ferrooxidans* foi diluído de forma seriada oito vezes em solução salina (NaCl 0,85 %), onde 100 μL de cada diluição foram semeados em meio T&K - agarose. Para cada diluição, foram feitas três placas de cultivo e outras três placas sem adição de meio bacteriano (**controle**). As placas foram incubadas em estufa à 30 °C por 15 dias. Após este período, foram retiradas da estufa para **contagem das colônias**, sendo determinada pela média entre o número de colônias da última diluição que foi observada a formação de colônias bacterianas.

O cultivo de células bacterianas em meio sólido apresenta dificuldades, assim a concentração de células bacterianas no inóculo também foi determinada por meio de contagem em câmara de Neubauer.

Após a diluição e padronização, o pH inicial foi controlado para 1,8, e a pirita e a amostra de minerais, foram adicionadas como fonte de energia. Após três dias de incubação em um *shaker*, sob agitação constante, e já na fase logarítmica de crescimento bacteriano, verificada pelas características descritas por Mascarin (1999) e Santana (2016) e por observação em

microscópio as células foram ressuspensas em meio T&K, sob as mesmas condições. Este último cultivo, após crescimento, foi utilizado como inóculo nos experimentos de biolixiviação.

2.5 Caracterização morfológica bacteriana por microscopia ótica

A fim de se definir a pureza dos meios, a multiplicação dos microrganismos e a presença de atividade microbiana, o acompanhamento do crescimento das linhagens de *A. ferrooxidans* também foi efetuado por meio de observação em microscópio óptico. As bactérias foram primeiramente coradas com azul de metileno (ANUNZIATO, 2008) e, posteriormente, observadas em um microscópio do tipo BEL Photonics Bio2 LED, utilizando aumento de 1000X em óleo de imersão. Além desse procedimento, a morfologia das colônias crescidas em meio T&K - agarose e líquido foram analisadas.

2.6 Uso de células adaptadas à fonte de energia e ao resíduo para a Biolixiviação do LiCoO_2 .

A biolixiviação foi realizada em erlenmeyers de capacidade volumétrica 250 mL. O microrganismo foi inoculado em 100 mL de meio T&K, com volume 5 % (v/v) de inóculo adaptado às fontes de energia FeS_2 e amostra de minerais, e quantidade de resíduo fixa de 0,125 g e quantidades variadas da fonte de energia (**FeS_2 e amostra de minerais**) foram acrescentadas para verificar a eficiência do processo biolixiviativo.

2.6.1 Variação da natureza e da concentração das fontes de energia

As concentrações das fontes de energia pirita e amostra de minerais foram variadas a fim de investigar sua influência no processo de biolixiviação. Foram utilizados erlenmeyers de capacidade volumétrica 250 mL. Os microrganismos foram inoculado em 100 mL de meio T&K com concentração de inóculo a 5 % (v/v), quantidade de resíduo fixa de 0,125 g de LiCoO_2 , quantidades variadas das fontes de energia, em 3 erlenmeyers adicionou-se 0,250 g de amostra de Minerais e em outros 3 erlenmeyers adicionou-se 0,125 g de amostra de Minerais e 0,125 g de pirita além de mais 3 erlenmeyers contendo apenas 100 ml de meio T&K e 0,125 g de LiCoO_2 sem a adição de microrganismos, como forma de controle. Todos os erlenmeyers foram incubados à 30 °C e velocidade constante de 130 rpm por 30 dias.

2.6.2 Acompanhamento do tempo de biolixiviação

O fator tempo, mensurado em dias, foi investigado a fim de determinar as fases de desenvolvimento dos microrganismos, e o período em que a biolixiviação de LiCoO_2 é mais efetiva. O experimento teve duração de 30 dias e o pH foi monitorado a cada cinco dias. Os microrganismos foram inoculados em frascos com solução T&K, fontes de energia FeS_2 , amostra de minerais e o resíduo cobaltato de lítio.

2.7 Avaliação da eficiência do processo de biolixiviação

A concentração de cobalto biolixiviado foi determinada por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS). As amostras foram inicialmente retiradas dos erlenmeyers com o uso de uma pipeta a cada cinco dias, filtradas com a utilização de filtros de 15 cm de diâmetro e

porosidade de 3 μm e posteriormente estocadas em tubos falcon de 50 mL. Para verificar a atividade bacteriana no processo de biolixiviação, o pH das soluções foi medido a cada cinco dias, utilizando um pHmetro (Digimed, DM-22).

As amostras foram diluídas 100 vezes para que se adequassem a curva de calibração determinada para o cobalto. Utilizando-se tubos falcon contendo 49 mL de água destilada, foram adicionados 0,5 mL de solução contendo as amostras de cobalto biolixiviado e 0,5 mL de ácido clorídrico (HCl). As amostras já diluídas passaram por um processo secundário de filtração, utilizando-se membranas filtrantes de nitrato de celulose, 0,47 μm de porosidade e posteriormente foram medidas no aparelho de AAS, tipo AA, modelo AA-7000 Versão ROM 1.03 e número serial A30945100376.

2.8 Reprocessamento do material recuperado

O Cobalto contido na solução de resíduos do processo biolixiatiivo foi reprocessado para produção de novos materiais de cátodo (LiCoO_2) para uso em baterias.

2.8.1 Recuperação do cobalto em solução via método Pechini

As soluções dos resíduos do processo biolixiatiivo contendo cobalto foram tratadas pelo método Pechini (AMARAL et al., 2015). Para fins de comparação, uma solução de resíduo biolixiviado pelo grupo anteriormente contendo somente pirita como fonte de energia também foi tratada por esse método. Inicialmente o pH das soluções biolixiviadas foi ajustado para 4 para precipitação de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ e separação de ferro (precipitado) e do cobalto (sobrenadante). A **solução de sobrenadante** contendo cobalto foi separada e à ela foi adicionado o ácido cítrico e o acetato de lítio (ALDRICH, P.A.) nas proporções de 1:1 (mol:mol) em relação a

concentração de cobalto dos meios lixiviados. Posteriormente, o pH da solução foi elevado a 7 com a adição de NH_4OH 2.0 mol L^{-1} , ao final foi adicionado etilenoglicol. A **solução resultante** por fim foi aquecida a $140 \text{ }^\circ\text{C}$ até a formação de um gel (precursor polimérico). A proporção entre ácido cítrico e etilenoglicol utilizada foi de 1:4 e entre ácido cítrico e metais 1:1, proporções molares. As proporções molares entre compostos utilizados são mostradas na Tabela 8.

Tabela 8: Proporções molares utilizadas no processo de síntese.

Compostos	Proporções Molares (mol:mol)
Solução biolixiviada de Cobalto: Acetato de Lítio	1:1,2
(metais)	1:1,4
Metais:Ácido Cítrico	1:1
Ácido Cítrico:Etilenoglicol	1:4

Como forma de controle do processo e comparação, foram sintetizados três tipos diferentes de misturas de metais com o intuito de produzir géis semelhantes, utilizando-se diferentes tipos de fontes de cobalto e lítio em proporções iguais ou com excesso de cobalto ou de lítio, de acordo com a Tabela 9. Essas misturas de metais foram maceradas juntamente com ácido cítrico até a formação de soluções homogêneas, utilizando-se a proporção de 1:1 (mol:mol) entre o ácido cítrico e os metais. O pH dessas soluções também foi elevado a 7 com a adição de NH_4OH $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ e, posteriormente, foi adicionado etilenoglicol em proporção entre ácido cítrico e etilenoglicol de 1:4 (mol:mol). A solução resultante também foi aquecida a $140 \text{ }^\circ\text{C}$ até a formação de géis (precursor polimérico).

Tabela 9: Massa e natureza dos precursores dos metais dos géis.

Proporções Molares	Massa de Cloreto de Cobalto e Hidróxido de		Massa de Nitrato de Cobalto e Acetato de		Massa de Acetato de Cobalto e Hidróxido de	
	Lítio /g		Lítio / g		Lítio /g	
Co:Li	Co	Li	Co	Li	Co	Li
1:1	13	2,2926	13	2,9475	13	2,1899
1,2:1	15,6	2,2926	15,6	2,9475	15,6	2,1899
1:1,2	13	2,7511	13	3,5370	13	2,6279

2.8.2 Caracterização dos géis obtidos

Os precursores poliméricos foram caracterizados por Análise térmica diferencial (DTA) e Termogravimetria (TGA) em um equipamento DTG-60H Shimadzu, com aquecimento da temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) até 1000 °C. O aquecimento ocorreu à taxa de 10 °C min⁻¹ utilizando-se atmosfera de N₂.

2.9 Calcinação dos géis obtidos

Os precursores poliméricos obtidos foram calcinados em forno mufla à 800 °C por 24 horas, segundo metodologia otimizada pelo próprio grupo (AMARAL et al., 2015). A temperatura foi elevada gradativamente até 250 °C, com permanência de 30 minutos nesta temperatura, depois à 550 °C com permanência por 30 minutos e, finalmente, mantida por 24 horas à 800 °C. Os géis obtidos a partir da solução resultante da biolixiviação também foram calcinados por 48 h à 800 °C e um dos géis foi calcinado por tempos diferentes, em 6 h e 14 h.

Os sólidos obtidos foram macerados controlando-se o tamanho das partículas até 325 mesh (< 45 μm).

2.10 Caracterização estrutural das amostras calcinadas por DRX

As amostras calcinadas foram caracterizadas por difratometria de Raios-X em um equipamento de Raios-X XRD-6000 (Shimadzu). A análise foi realizada a 2θ por minuto rotacionando a amostra entre os ângulos 10° até 80° . Os gráficos obtidos foram utilizados para o cálculo do FWHM (“FullWidth – HalfMaximum”), dos tamanhos de cristalito e dos parâmetros de célula unitária, que permitem identificar a obtenção do óxido puro. O programa *PeakFit* foi utilizado para identificação e quantificação das fases dos picos referentes as amostras e o programa *Unit cell parameter* foi utilizado para a determinação dos parâmetros de célula unitária dos óxidos.

2.11 Calcinação dos precipitados

Os precipitados de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ obtidos em pH 4 foram mantidos em estufa por 45 minutos a 45°C

2.12 Caracterização estrutural dos materiais reprocessados por DRX

A técnica de difratometria de Raios - X foi realizada em um equipamento de Raios-X XRD-6000 (Shimadzu) para caracterizar: As amostras de resíduo dos meios de cultura reprocessadas; A amostra de LiCoO_2 utilizada como resíduo a ser biolixiviado; Os precipitados de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ do resíduo obtidos em pH 4 e As amostras de LiCoO_2 sintetizadas

por Pechini. As medidas foram realizadas seguindo os parâmetros de radiação Cu $K\alpha$ = 1,5406 Å com uma voltagem de 40 kV, corrente de 30 mA, à velocidade de 2θ min^{-1} , de 10 ° a 80 °. O programa *Unit cell parameter* foi utilizado para cálculo de parâmetro de célula unitária dos óxidos investigados neste trabalho, os picos dos difratogramas adequam-se ao plano θ e obedecem a Lei de Bragg ($2d \cdot \sin\theta = \lambda$) e o programa *PeakFit* foi utilizado para determinar e analisar os picos referentes as amostras, utilizando-se uma função *Pseudo-Voight*, que consiste na combinação das funções *Lorentz* e *Gauss*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização estrutural por DRX dos materiais utilizados como fonte de energia

De acordo com Saravanan et al. (2009), o método de caracterização estrutural por difratometria de raios X (DRX) é fundamentada no processo de interferência construtiva de raios X monocromáticos em um espécime cristalino. Contando que cada tipo de sistema possui um padrão de interferência distinto, o DRX é muito aplicado no reconhecimento e obtenção da estrutura de certos materiais.

As vantagens da utilização da técnica de difração de raios-X na caracterização de fases de materiais são pautadas na facilidade e prontidão do método, a confiabilidade e a capacidade de analisar materiais compostos por diversas fases.

O DRX se baseia no fenômeno que ocorre quando um feixe monocromático de raios X incide em um material e são dispersos em várias direções, a ocorrência interferência construtiva dos mesmo é pautada na Lei de Bragg, representada na Tabela 10, Equação 1, onde

n condiz com a ordem de difração, λ ao comprimento de onda da radiação incidente, d ao espaço interplanar do cristal e θ ao ângulo de difração.

Tabela 10: Equação da Lei de Bragg.

$n \lambda = 2 d \operatorname{sen} \theta$	Eq 1
---	------

Os óxidos de pirita e da amostra de minerais sintetizados quimicamente apresentam fases diferentes pela disposição dos átomos na célula unitária, as quais podem ser analisadas por DRX. Os DRX obtidos para as amostras foram comparadas aos DRX de padrões de fichas cristalográficas já catalogadas para análise da fase formada em cada um dos óxidos.

O difratograma de raios X da **amostra de pirita** e da **amostra de minerais**, utilizadas como fonte de energia das bactérias no processo biolixiviativo foi processado pelo programa *Match! Phase Identification from Powder Diffraction - Version 2.4.7 Build 529*, o mesmo possui números de identificação dos compostos analisados, denominados de “Entry Numbers” e calculados pelo próprio programa com base nos códigos de identificação utilizados por outras fontes, como por exemplo, as fichas JCPDS.

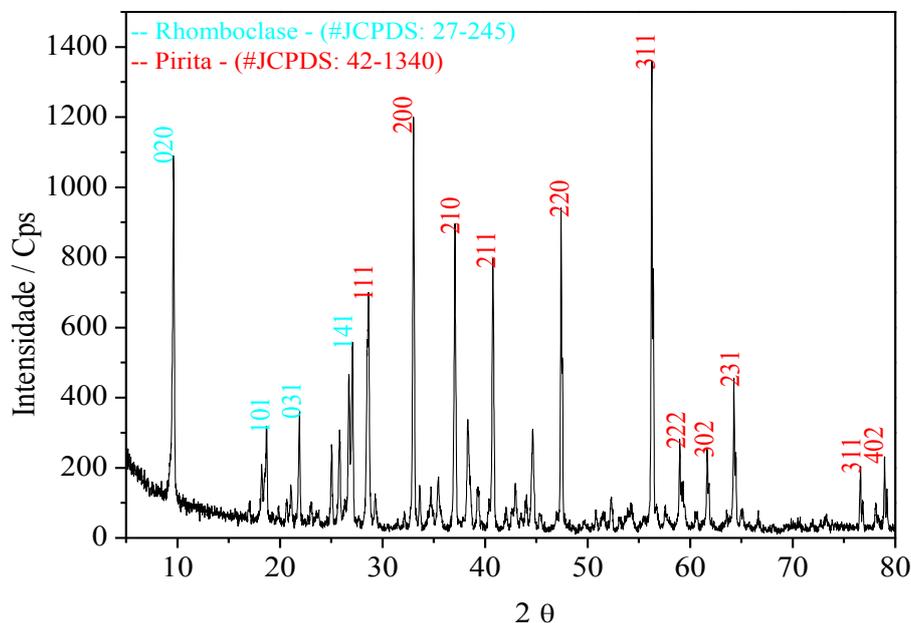
Os resultados demonstraram que a **Amostra de Pirita** apresentou picos de difração bem definidos, podendo ser indexados às estruturas de **Pirita** (FeS_2) contendo aproximadamente **66,9 %**, com sistema cristalino cúbico, grupo espacial P_{2-3} , célula unitária de $a = 5,4166 \text{ \AA}$ e densidade calculada de $5,014 \text{ g/cm}^3$ (Entry Number: 96- 900-0595) (BAYLISS, 1977) e **Rhomboclase** ($\text{Fe H}_{9,384} \text{ O}_{12} \text{ S}_2$) em aproximadamente **33,1 %**, com sistema cristalino ortorrômbico, grupo espacial P_{nma} , célula unitária de $a = 9,7226 \text{ \AA}$ $b = 18,2800 \text{ \AA}$ $c = 5,4270 \text{ \AA}$ e densidade calculada de $2,148 \text{ g/cm}^3$ (Entry number 96-900-0595) (MAJZLAN et al., 2006), além de possíveis áreas indeterminadas de picos em 30,5 %. A Tabela 11 apresenta as

características de cada fase da amostra de pirita, de acordo com a análise feita pelo software *Match!*. A Figura 2 apresenta o gráfico com os picos principais da amostra, indicados com seus respectivos índices de Miller, onde em vermelho são indicados os picos equivalentes a Pirita e em Azul claro os equivalentes a Rhomboclase.

Tabela 11: Características das fases da amostra de pirita detectadas pelo software programa *Match! Phase Identification from Powder Diffraction*.

Amostra de Pirita	
Fase:	
Pirita (FeS₂)	66,9 %
(Entry Number: 96- 900-0595) (BAYLISS, 1977)	
<i>Sistema Cristalino</i>	Cúbico
<i>Grupo Espacial</i>	P_{a-3}
<i>Célula Unitária</i>	a= 5,4166 Å
<i>Densidade Calculada</i>	5,014 g/cm ³
Rhomboclase (Fe H_{9,384} O₁₂ S₂)	33,1 %
(Entry number 96-900-0595) (MAJZLAN et al., 2006)	
<i>Sistema Cristalino</i>	Ortorrômbico
<i>Grupo Espacial</i>	$P_{n m a}$
<i>Célula Unitária</i>	a= 9,7226 Å b= 18,2800 Å c= 5,4270 Å
<i>Densidade Calculada</i>	2,148 g/cm ³

Figura 2: DRX da Amostra de Pirita com índices de Miller relativos a cada fase.



A **Amostra de Minerais** apresentou picos de difração bem definidos que de acordo com as análises pelo software *Match! Phase Identification from Powder Diffraction - Version 2.4.7 Build 529* foram ser indexados às estruturas de **Muscovita** ($\text{Al}_{2,726} \text{Ca}_{0,011} \text{Fe}_{0,03} \text{K}_{0,776} \text{Mg}_{0,02} \text{Na}_{0,181} \text{O}_{11} \text{Si}_{3,15} \text{Ti}_{0,02}$) contendo aproximadamente **82,4 %**, com sistema cristalino triclinico, grupo espacial C^1 , células unitárias $a= 5,2234 \text{ \AA}$ $b= 9,1790 \text{ \AA}$ $c= 20,2353 \text{ \AA}$ $\alpha= 90,000^\circ$ $\beta= 95,834^\circ$ $\gamma= 90,000^\circ$ e densidade calculada de $2,588 \text{ g/cm}^3$ (Entry number 96-901-2887) (TOMITA; SHIRAKI; KAWANO, 1998) **Almandine** ($\text{Al}_2 \text{Ca}_{0,12} \text{Fe}_{2,58} \text{Mg}_{0,27} \text{O}_{12} \text{Si}_3$) em aproximadamente **10,9 %**, com sistema cristalino cúbico, grupo espacial I^{a-3d} , célula unitária de $a= 11,5310 \text{ \AA}$ e densidade calculada de $4,208 \text{ g/cm}^3$ (Entry number 96-900-0234) (NOVAK; GIBBS, 1971) **Magnetita** ($\text{Al}_{0,06} \text{Ca}_{0,01} \text{Fe}_{2,06} \text{Mg}_{0,1} \text{Mn}_{0,02} \text{O}_4 \text{Si}_{0,01} \text{Ti}_{0,73} \text{V}_{0,01}$) em **3,5 %**, com sistema cristalino cúbico, grupo espacial F^{d-3m} , célula unitária de $a= 8,4810 \text{ \AA}$ e densidade calculada de $4,798 \text{ g/cm}^3$ (Entry number 96-900-4156) (STOUT; BAYLISS, 1980)

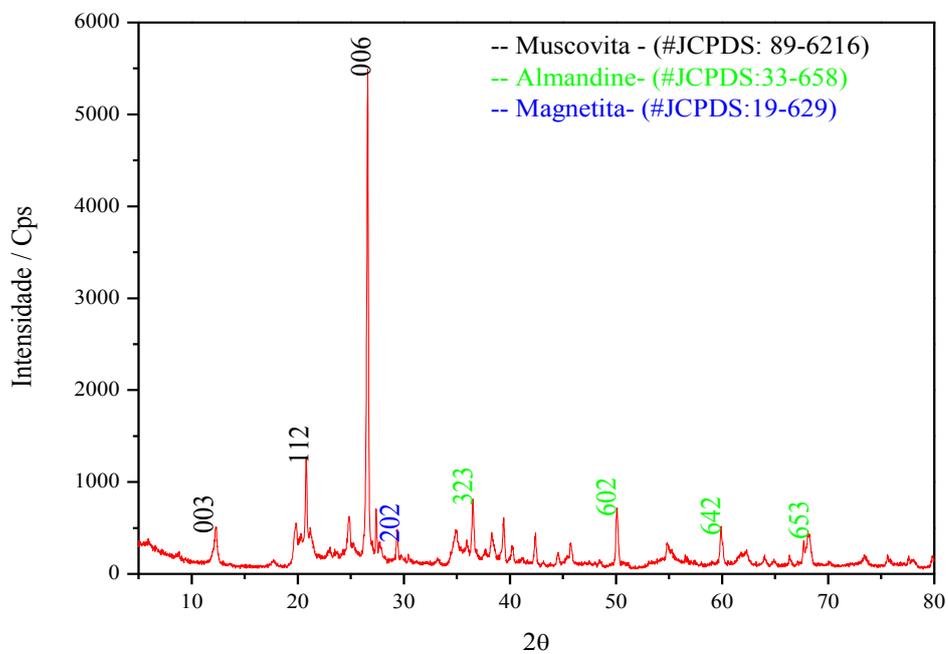
além de possíveis áreas indeterminadas de picos em 30,6 %. A Tabela 12 apresenta as características de cada fase da amostra de pirita, de acordo com a análise feita pelo software *Match!*. A Figura 3 apresenta o gráfico com os picos principais da Amostra de Minerais, indicados com seus respectivos índices de Miller, onde em preto são indicados os picos equivalentes a Muscovita, em Verde claro os equivalentes a Almandine e em Azul os equivalentes a Magnetita.

Tabela 12: Características das fases da amostra de minerais detectadas pelo software programa *Match! Phase Identification from Powder Diffraction*.

Amostra de Minerais	
Fase:	
Muscovita (Al_{2,726} Ca_{0,011} Fe_{0,03} K_{0,776} Mg_{0,02} Na_{0,181} O₁₁ Si_{3,15} Ti_{0,02})	82,4 %
(Entry number 96-901-2887) (TOMITA; SHIRAKI; KAWANO, 1998)	
<i>Sistema Cristalino</i>	Triclínico
<i>Grupo Espacial</i>	C ¹
<i>Célula Unitária</i>	a= 5,2234 Å b= 9,1790 Å c= 20,2353 Å α= 90,000° β= 95,834 ° γ= 90,000 °
<i>Densidade Calculada</i>	2,588 g/cm ³
Almandine (Al₂ Ca_{0,12} Fe_{2,58} Mg_{0,27} O₁₂ Si₃)	10,9 %
(Entry number 96-900-0234) (NOVAK; GIBBS, 1971)	
<i>Sistema Cristalino</i>	Cúbico

<i>Grupo Espacial</i>	I^{a-3d}
<i>Célula Unitária</i>	$a = 11.5310 \text{ \AA}$
<i>Densidade Calculada</i>	$4,208 \text{ g/cm}^3$
Magnetita ($Al_{0,06} Ca_{0,01} Fe_{2,06} Mg_{0,1} Mn_{0,02}$ $O_4 Si_{0,01} Ti_{0,73} V_{0,01}$)	3,5 %
(Entry number 96-900-4156) (STOUT; BAYLISS, 1980)	
<i>Sistema Cristalino</i>	Cúbico
<i>Grupo Espacial</i>	F^{d-3m}
<i>Célula Unitária</i>	$a = 8,4810 \text{ \AA}$
<i>Densidade Calculada</i>	$4,798 \text{ g/cm}^3$

Figura 3: DRX da Amostra de Minerais com índices de Miller relativos a cada fase.



3.2 Crescimento e propagação dos microrganismos

De acordo com Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, SP (CETESB, 1991) e Santana (2016), o crescimento dos microrganismos pode ser constatado por várias características, como por exemplo, a turbidez e a coloração dos meios de cultura, o desenvolvimento de colônias bem definidas em placa e a observação das células em microscópio (óptico ou eletrônico).

As fases de crescimento bacteriano podem ser divididas em quatro fases, a primeira fase, denominada *lag* é considerada como o tempo primordial que a bactéria necessita para se adaptar ao meio, com crescimento lento, nessa fase o pH pode aumentar devido à presença de sulfetos ou Fe^{2+} , espécies químicas que consomem H^+ ao serem oxidadas (BEVILAQUA et al., 2002), *A. ferrooxidans* pode ter sua fase *lag* diversificada durante o processo de biolixiviação de acordo com o minério utilizado e suas características. A segunda fase, de crescimento exponencial apresenta multiplicação acentuada de células, devido à adaptação do organismo ao meio. A terceira fase, estacionária é onde a taxa de multiplicação é igual a de morte celular. A última fase é denominada de morte do microrganismo, onde a maioria das células entra em senescência devido a baixa concentração de nutrientes e oxigênio (SANTANA, 2016).

A adaptação de microrganismos biolixiviantes é influenciada em grande parte pela concentração de nutrientes e O_2 do meio, além disso, o pH também é uma variável importante, uma vez que em valores de pH acima de 2,5 o crescimento desses microrganismos é afetado negativamente, devido ao consumo de prótons do meio influenciar os grupos ionizáveis presentes nas enzimas das bactérias (GÓMEZ; CANTERO, 2005).

3.3 Adaptação aos meios de cultivo investigados

As características dos cultivos bacterianos apresentam características específicas antes e após a etapa de crescimento, de acordo com Mascarin (1999) e Santana (2016), o meio de cultivo de *A. ferrooxidans* deve possuir coloração amarelada ou verde antes do crescimento das culturas e coloração vermelho-tijolo, após o crescimento bem sucedido dos microrganismos, o pH deve ser menor que 1,8 após o processo de crescimento e o meio torna-se turvo.

De acordo com Mejía et al. (2012) a duração da fase lag para *A. ferrooxidans* biolixiviando calcopirita demorou 6 dias quando utilizaram partículas mais grossas e ocorreu em menor tempo, apenas 2 dias, ao se utilizar material pulverizado, já França e Figueiredo (2001) e Santana (2016) observaram crescimento de *A. ferrooxidans* em apenas 3 dias em meio T&K.

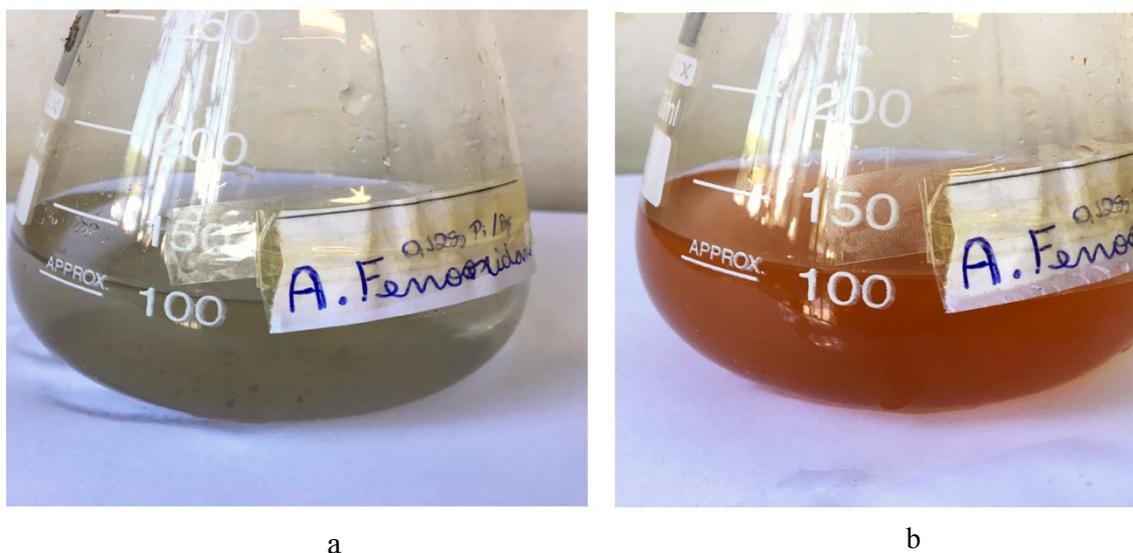
O processo de cultivo dos meios contendo *A. ferrooxidans* após a etapa de crescimento apresentou as características apresentadas na Tabela 11. O meio de cultivo antes do tempo de crescimento possuía uma coloração um pouco esverdeada e após 4 dias de cultivo, o meio finalmente tornou-se vermelho-tijolo, turvo e com pH de $\pm 1,7$. O tempo para atingir a fase de crescimento exponencial demorou 1 dia a mais do que se era esperado, o que pode ser explicado pela utilização de partículas maiores de pirita e amostra de minerais.

Tabela 11: Características dos meios bacterianos após etapa de crescimento.

Característica	<i>A. ferrooxidans</i>			
	Avaliada	Meio	Esperado	Observado
Cor			Vermelho Tijolo	Vermelho Tijolo
pH		T&K	Menor que 1,8	$\pm 1,7$
Turbidez			Turvação do Meio	Turvação do Meio
Tempo mínimo para atingir a fase de crescimento exponencial			3 dias	4 dias

A Figura 4 (B) demonstra que o crescimento de *A. ferrooxidans* em meio T&K ocorreu de acordo com as características enumeradas por Mascarin (1999) e Santana (2016): O meio de cultura que antes era um tom aproximado de verde claro e após 4 dias de cultivo a 30 °C e velocidade constante de 130 rpm, a tonalidade do meio tornou-se avermelhada, o meio ficou turvo e o pH ficou em faixa $\pm 1,7$, evidenciando atividade microbiana.

Figura 4: *A. ferrooxidans* em meio T&K (a) antes e (b) após quatro dias de incubação para crescimento. Cultivos incubados à 30 °C e 130 rpm.



O meio T&K beneficia o crescimento de microrganismos acidófilos além de facilitar a posterior análise da concentração de metais do meio, uma vez que apresenta pH baixo, em aproximadamente 1,8. A elevada concentração de fonte de energia, FeS_2 e/ou Amostra de Minerais a $147,4 \text{ g L}^{-1}$ favoreceu um bom crescimento microbiano e inibiu a formação de precipitados no meio (GARCIA JÚNIOR, 1989).

A posterior observação em microscópio evidenciou que o crescimento de *A. ferrooxidans* em meio T&K foi bastante eficiente, evidenciando que os compostos e concentrações utilizadas favoreceram a multiplicação das células microbianas.

3.4 Avaliação da pureza dos cultivos

3.4.1 Características das colônias crescidas em placa

A. ferrooxidans apresenta dificuldades de crescimento e propagação em meios de cultura sólidos, uma vez que são influenciados por vários fatores do ambiente e necessitam de condições específicas para se desenvolver bem, como por exemplo boa disponibilidade de O₂ e CO₂, mobilidade no meio de cultura (fluidez), boa atividade de água e o uso de meios a base de agarose, uma vez que a agarose permite a criação de um meio mais fluido e, conseqüentemente garante mobilidade e disponibilidade de O₂ e CO₂ (GARCIA JÚNIOR; URENHA, 2001).

O grupo de pesquisa, anteriormente a este trabalho já havia feito o plaqueamento da linhagem de *A. ferrooxidans* utilizada, com o intuito de verificar a pureza do cultivo, proporcionar o isolamento e propagação dos microrganismos e padronizar o número de células do inoculo por meio de contagem em placa em 5 % (v/v). Os cultivos em meio T&K (agarose) foram incubados a 30 °C em pH 1,8 durante 15 dias até a observação de crescimento das colônias microbianas, por meio das características descritas por Mishra, Roy e Mahapatra (1983): O meio de cultura deve mudar a coloração de levemente esverdeado para amarelo, deve ocorrer a formação e colônias bem definidas com coloração vermelha, devido a intensa oxidação de ferro, formando placas em torno das colônias.

Esses microrganismos já plaqueados e, posteriormente, utilizados na padronizados dos inóculos foram utilizados nos ensaios de biolixiviação deste trabalho.

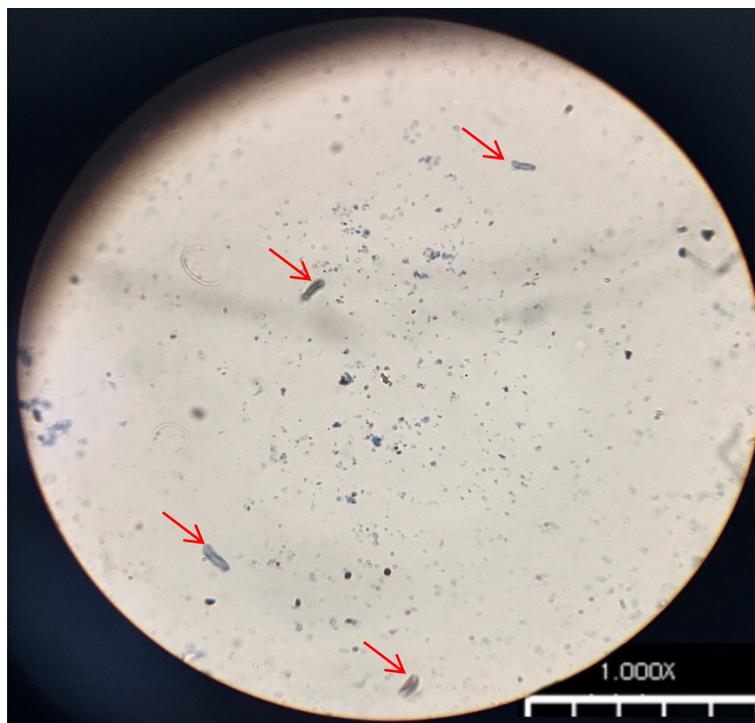
3.4.2 Características das células bacterianas cultivadas

O meio de cultivo T&K do microrganismo *A. ferrooxidans* possui em sua composição diversas partículas em suspensão, principalmente devido a utilização da Pirita e da Amostra de Minerais como fonte de energia e o resíduo de LiCoO_2 , assim a visualização das células é dificultada, já que por possuírem tamanho diminuto e serem móveis ficam alocadas próximas a partículas em suspensão ou “escondidas” entre as camadas do líquido.

Seguindo a metodologia de Anunziato (2008), as lâminas com o cultivo das bactérias foram fixadas e coradas com Azul de Metileno, posteriormente a visualização foi feita em um microscópio óptico com aumento de 1000X e óleo de imersão.

Na Figura 5 é possível observar as células das linhagens cultivadas em meio T&K. As imagens foram obtidas com uma câmera de celular iPhone 6S (12 megapixels, Apple) a partir das amostras visualizadas em microscópio óptico BEL Photonics Bio2 LED com aumento de 1000X e óleo de imersão. Apesar da dificuldade, foram observadas 4 células, indicadas com setas vermelhas, no mesmo frame e imersas em um meio com várias partículas.

Figura 5: Fotos das células de *A. ferrooxidans* observadas em microscópio óptico, coradas com azul de metileno, aumento de 1000X e óleo de imersão.



Como indicado por Mousavi et al. (2006) e Rawlings e Johnson (2007), as células da bactéria *A. ferrooxidans* possuem formato de bastonete, com dimensões de 0,5 à 0,6 μm de diâmetro por 1,0 à 2,0 μm de comprimento, ocorrendo sozinhas ou em pares, raramente em cadeias pequenas, por serem móveis por flagelo polar a contagem utilizando Câmara de *Neubauer* é dificultada, assim seu crescimento e quantidade foram estimados por microscopia e o inóculo foi padronizado por contagem em placa.

3.4.3 Concentração de células no inóculo

O processo de biolixiviação necessita antes de sua implementação que sejam feitas as determinações das concentrações de células de *A. ferrooxidans* e a padronização dos inóculos

a serem utilizados. De acordo com Santana (2016), a utilização de inóculos de *A. ferrooxidans* em proporção de 5 % (v/v) em relação ao meio T&K, apresentaram maiores taxa de biolixiviação, lixiviando mais de 70 % do cobalto adicionado ao meio, dessa forma a mesma proporção foi utilizada neste trabalho, seguindo-se a mesma metodologia.

De acordo com Santana (2016) antes de iniciar os ensaios de biolixiviação é necessário determinar a concentração de células de *A. ferrooxidans* no inóculo e padronizar estes inóculos.

A contagem de células de *A. ferrooxidans* em câmara de Neubauer é dificultada, por estes microrganismos serem móveis e assim nem sempre resulta em um valor real da concentração das células. As placas preparadas com diluições seriadas a partir de um cultivo incubado à 5 dias apresentaram concentrações celulares de 5×10^6 células mL⁻¹ e foram padronizadas e utilizados nos ensaios, por diluição. A posterior observação em microscópio e cultivo em placa, confirmou a atividade dos inóculos utilizados.

3.5 Biolixiviação

O desenvolvimento dos experimentos deste trabalho utilizou concentrações muito baixas de metais nos meios de cultivo, dessa forma é necessária a utilização de um método preciso de detecção e leitura dos metais biolixiviados. O método mais apropriado de se utilizar nesse caso é a Espectrometria de Absorção Atômica (Do Inglês AAS), que torna possível determinar concentrações extremamente baixas de metais, mesmo que sejam apenas traços, em uma solução. O princípio de funcionamento do AAS envolve a medida da absorção da intensidade da radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte de radiação primária, por átomos gasosos em estado estável. A técnica baseia-se na capacidade que átomos livres, em estado estável, têm de absorver a luz à um certo comprimento de onda. Dessa forma, a

especificidade do método está relacionada ao fato de dois átomos não conseguirem absorver energia no mesmo comprimento de onda (SANTANA, 2016).

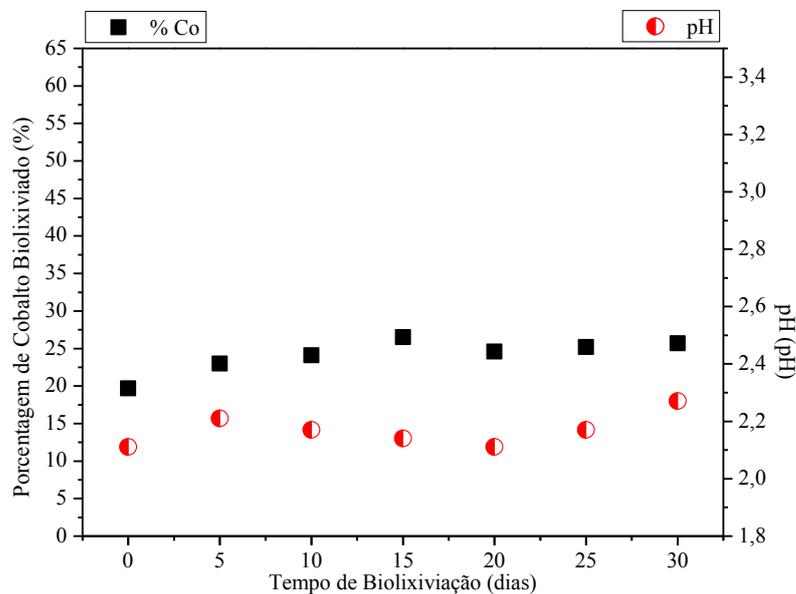
Combinado a leitura do cobalto em solução, também foi monitorada a variação do pH no meio, para verificar a ocorrência da biolixiviação. O processo biolixiviativo está diretamente relacionado à concentração de ácido no meio, uma vez que envolve a dissolução de um óxido (JACKSON, 1986) e como *A. ferrooxidans* é um microrganismo acidófilo, seu metabolismo tende a diminuir o pH do meio, já que ocorre a formação de ácido sulfúrico, H_2SO_4 , assim o pH é uma variável importante deste processo.

3.5.1 Investigação da variação da fonte de energia da bactéria

A utilização de dois tratamentos distintos no processo de biolixiviação, onde em um deles foi utilizada somente a amostra de minerais como fonte de energia de *A. ferrooxidans* e no outro uma mistura da pirita e da amostra de minerais nas mesmas concentrações, teve como propósito investigar a eficiência da utilização dessas amostras como fontes de energia para células no processo biolixiviativo. As amostras diferem entre si em suas constituições, a pirita é constituída por ferro e enxofre, já a amostra de minerais é formada por uma mistura de diversos metais em concentrações diferentes, como explicitados na Tabela 5.

A utilização da pirita como única fonte de energia no processo de biolixiviação utilizando-se *A. ferrooxidans* foi investigada anteriormente pelo grupo de pesquisa. As bactérias foram cultivadas nas mesmas condições deste trabalho, utilizando uma concentração de inóculo de 5 % (v/v) incubados à 30 °C, velocidade constante de 130 rpm em uma incubadora orbital, meio de cultivo T&K e distintivamente utilizou-se somente a pirita. Na Figura 6 são apresentados os resultados desse processo biolixiviativo, a variação das porcentagens de Cobalto biolixiviado (preto) e do pH (vermelho) em função do tempo de biolixiviação.

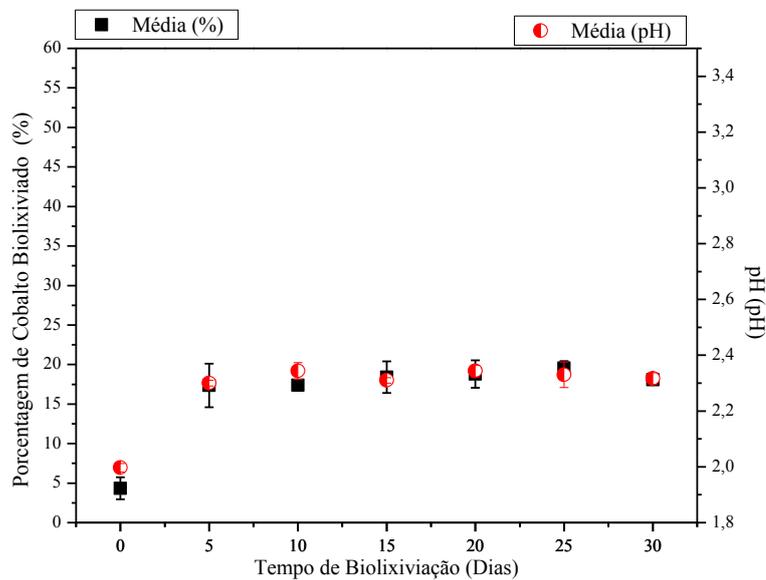
Figura 6: Variação da porcentagem de cobalto biolixiviado e do pH em função do tempo de biolixiviação em meio T&K e uso da pirita como fonte de energia.



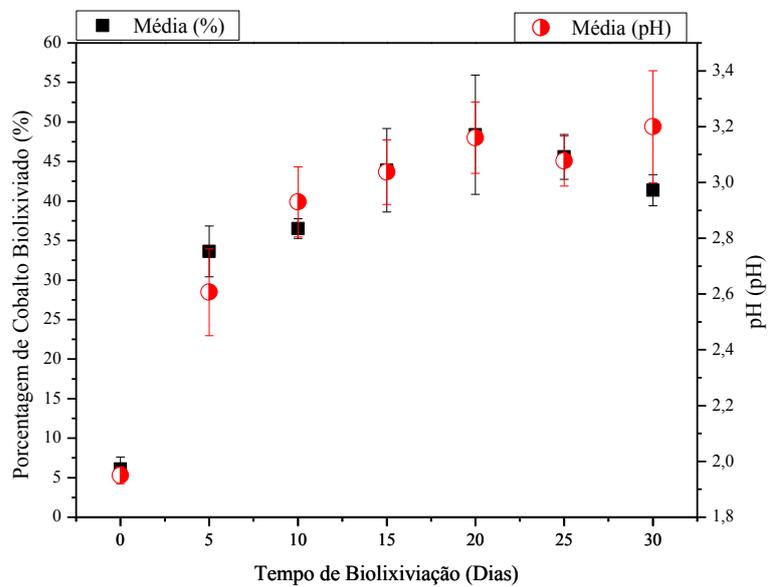
A Figura 6 demonstra que ocorreu maior porcentagem de cobalto biolixiviado, em 27%, no 15º dia do processo, sendo a maior taxa de biolixiviação encontrada até então e foi utilizada para comparar a eficiência das novas fontes de energia.

A fim de comparar o efeito da **Amostra de Minerais** na biolixiviação do cobalto pode-se verificar a quantidade desse metal dissolvido nos tratamentos diferentes. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 7, indicando as porcentagens de cobalto biolixiviado e a variação do pH do meio durante os 30 dias do processo:

Figura 7: Variação da porcentagem de cobalto biolixiviado e do pH em função do tempo de biolixiviação em meio T&K com uso de: (a) 0,250 g de amostra de minerais e (b) 0,125 g de amostra de minerais e 0,125 g de pirita; como fonte de energia.



(a)



(b)

O meio de cultivo da *A. ferrooxidans* possuía a concentração máxima de 1250 mg L⁻¹ do resíduo LiCoO₂, sendo que destes apenas 60% eram cobalto, portando a concentração máxima de cobalto que poderia ser encontrada no meio era de aproximadamente 750 mg L⁻¹.

Como mostrado na Figura 7 no gráfico (A), o tratamento utilizando apenas a **Amostra de Minerais**, apresentou um pico inicial de biolixiviação do cobalto no dia 5 e, posteriormente, ocorreu pouca variação, a maior porcentagem de biolixiviação ocorreu no dia 25 em 19,54% e o pH do meio se manteve quase constante durante todo o processo, sem grande alterações, apesar do aumento inicial entre os dias 0 e 5, consequência do próprio processo de biolixiviação que consome H⁺ do meio.

Já quando utilizado a **Amostra de Minerais** em conjunto com a **Pirita** como fontes de energia (Figura 7 B), os valores de cobalto lixiviados na solução foram crescentes, ocorrendo um aumento considerável entre os dias 0 e 5, sendo que no dia 5 ocorreu 33,6% de biolixiviação do cobalto no meio, não estabilizando e aumentando até o máximo de 48,8% no dia 20, assim pode-se concluir que com maior tempo de biolixiviação a bactéria seria capaz de aumentar a quantidade de cobaltato de lítio biolixiviado.

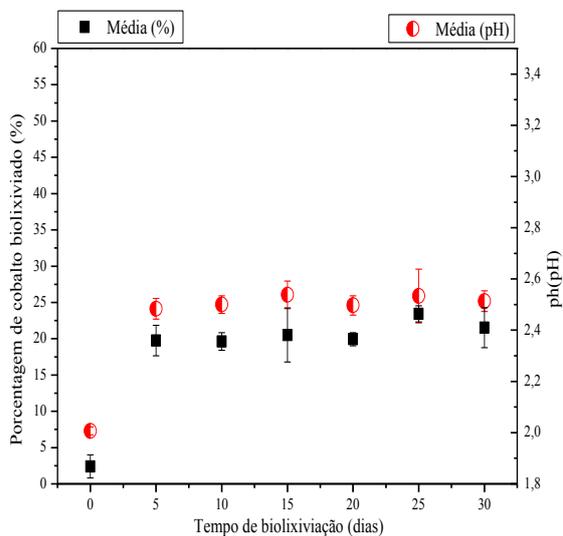
Apesar disso, constatou-se também uma grande variação do pH durante os 30 dias de experimento ao se utilizar as duas fontes de energia em conjunto, ultrapassando o intervalo ideal, entre 1,8 e 2,5, para essa bactéria (DONATI; SAND, 2007; MERUANE; VARGAS, 2003;). A partir do dia 5 o pH alcançou valores de aproximadamente 2,6 e no dia 15, já chegou em aproximadamente 3, apresentando valor máximo de aproximadamente 3,2 no dia 30, esse comportamento pode ser explicado pela mistura das duas fontes de energia, fornecendo energia em tempos e condições distintas.

Considerando-se os picos dos resultados de cobalto dissolvido pode-se constatar pelos gráficos que a bactéria *A. ferrooxidans* atingiu o ápice de biolixiviação no dia 15 para o tratamento apenas com a pirita, em 27% (Figura 7 A), no dia 25 para o tratamento apenas com

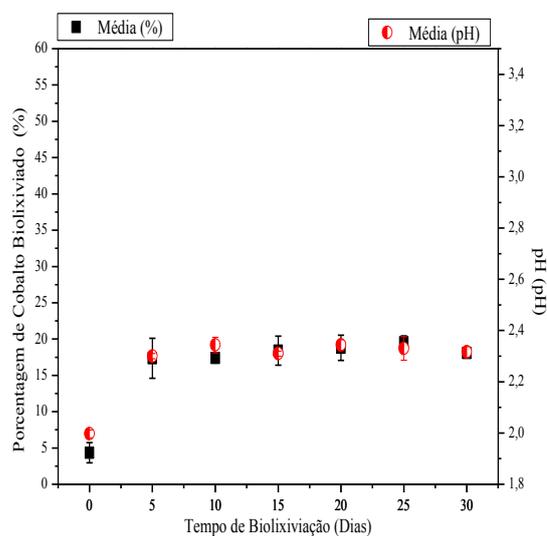
a amostra de minerais, em 19,54 % (Figura 7 A) e no dia 20 para o tratamento das duas fontes de energia em conjunto, em 48,8 % (Figura 7 B). Quanto às porcentagens de cobalto biolixiviado se vê que na presença de ambas a fonte de energia obteve-se os maiores resultados, em 48,8 %, apesar disso os valores de pH ultrapassaram a faixa ideal para a *A. ferrooxidans*, sugerindo que a biolixiviação do cobalto nesse tratamento pode ter ocorrido devido a algum mecanismo não identificado e não por influência direta do microrganismo, uma vez que ao lixiviar o cobalto do meio, *A. ferrooxidans* atua oxidando o resíduo de cobalto indiretamente, por meio da produção de espécies ácidas pelo microrganismo. Se a produção de ácido parar, deveria ocorrer a morte do microrganismo e outra espécie iônica passaria a consumir os H⁺ do meio, conseqüentemente, a biolixiviação seria interrompida (SANTANA, 2016).

Em conjunto com o processo biolixiviativo por uso da *A. ferrooxidans*, o grupo de pesquisa também realizou um ensaio utilizando um cultivo da bactéria *A. thiooxidans* também capaz de biolixiviar o cobalto do meio. As bactérias *A. thiooxidans* foram cultivadas nas mesmas condições do ensaio com *A. ferrooxidans*, utilizando uma concentração de inóculo de 5% (v/v) incubados à 30 °C, velocidade constante de 130 rpm, meio de cultivo T&K e os mesmos tratamentos de uso das fontes de energia: amostra de minerais (0,250 g) e pirita em conjunto com amostra de minerais (0,125 g cada). Na Figura 8 são apresentados os resultados desse processo biolixiviativo, comparando a variação das porcentagens de cobalto biolixiviado (preto) e do pH (vermelho) em função do tempo de biolixiviação entre os dois tipos de microrganismos.

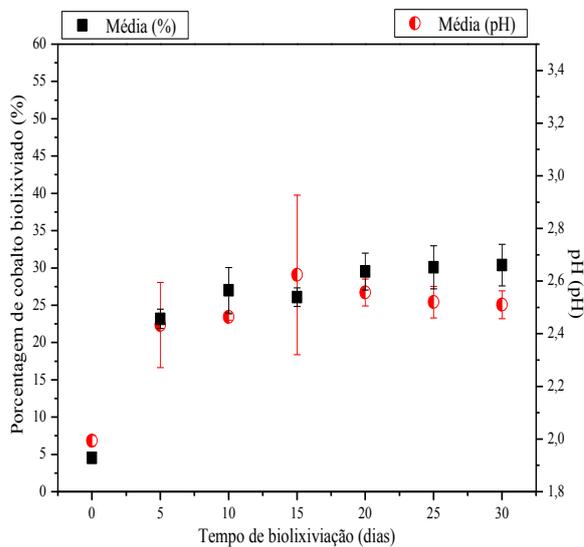
Figura 8: Variação da porcentagem de cobalto biolixiviado e do pH em função do tempo comparando dois meios e dois microrganismos: (A) *A. thiooxidans* em meio de amostra de minerais 0,250 g e (B) *A. ferrooxidans* em meio de amostra de minerais 0,250 g (C) *A. thiooxidans* em meio de amostra de minerais 0,125 g + pirita 0,125 g e (D) *A. ferrooxidans* em meio de amostra de minerais 0,125 g + pirita 0,125 g.



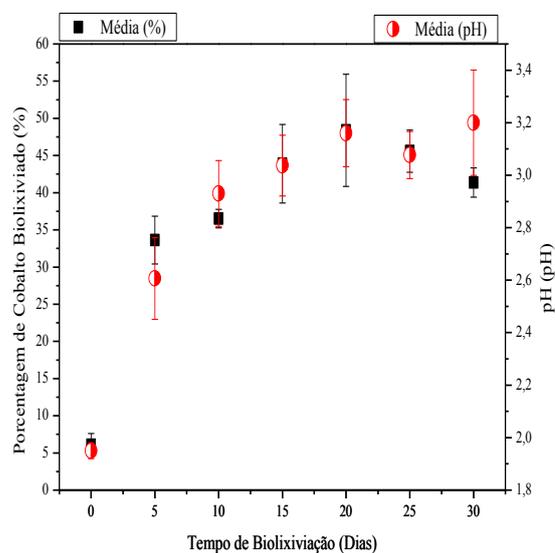
(a)



(b)



(c)



(d)

A Figura 8 demonstra que o cultivo de *A. thiooxidans* também apresentou um pico inicial no dia 5 nas duas concentrações das fontes de energia (Figura 8 A e C), no cultivo com 0,250 g de amostra de minerais (Figura 8 A), este pico inicial foi de aproximadamente 19,74% de cobalto biolixiviado, do dia 10 até o dia 30 a porcentagem de cobalto biolixiviado aumentou pouco, alcançado o pico máximo de biolixiviação do dia 25 em aproximadamente 23,43%. O pH durante o processo se manteve estável na faixa dos 2,5, ocorrendo um aumento inicial entre os dias 0 e 5. Em comparação com o cultivo de *A. ferrooxidans* com 0,250 g (Figura 8 B), o cultivo com *A. thiooxidans* apresentou um comportamento semelhante, apesar de ocorrerem valores maiores de cobalto biolixiviado e pH, os dois se mantiveram em faixas semelhantes. O Cobalto dissolvido em solução apresentou valores crescentes para ambos os microrganismos, não estabilizando, permitindo inferir que com maior tempo de biolixiviação as bactérias seriam capazes de aumentar a quantidade de cobaltato de lítio biolixiviado.

O cultivo de *A. thiooxidans*, assim como o de *A. ferrooxidans*, utilizando-se amostra de minerais e pirita a 0,125 g cada apresentou porcentagens de cobalto biolixiviado maiores em relação ao ensaio com somente a amostra de minerais. De acordo com a Figura 8 C, o ensaio de *A. thiooxidans* com amostra de minerais e pirita, apresentou pico inicial de lixiviação em aproximadamente 23,17% no dia 5, com aumento progressivo das porcentagens até o dia 30, onde a taxa máxima de cobalto biolixiviado durante o processo foi de 30,37%. O pH do meio de cultivo sofreu um aumento inicial no dia 5 e se manteve estável na faixa dos 2,5 durante todo o processo, comportamento semelhante ao cultivo utilizando somente a amostra de minerais e na faixa ideal para essa bactéria (DONATI; SAND, 2007). Comparando-se as variações de pH do meio do processo utilizando *A. thiooxidans* e *A. ferrooxidans* é possível inferir que *A. thiooxidans* foi mais resistente e respondeu melhor a utilização da mistura de minerais como fonte de energia.

A utilização do meio de cultivo T&K com adição da amostra de minerais (0,125 g) e pirita (0,125 g) apresentou taxa de biolixiviação maior para ambos os microrganismos e apesar do pH do meio ter ultrapassado a faixa ideal, o uso da *A. ferrooxidans* alcançou taxa máxima de cobalto biolixiviado do meio em 48,8%, esse valor é maior do que os encontrados por Debaraj et al. (2008), que foi de 20% e próximo das taxas obtidas por Yamane, Espinosa e Tenório. (2013), que a partir dos seus estudos sobre lixiviação bacteriana da sucata eletrônica conseguiram biolixiviar 56% de cobre residual de circuitos eletrônicos.

3.6 Síntese de novos materiais a partir da solução biolixiviada contendo cobalto

Os resíduos dos meios de biolixiviação, contendo a amostra de minerais e piritas foram reprocessadas com o intuito de analisar sua concentração de Cobalto e capacidade de utilização na síntese de novos materiais.

Após o processo de biolixiviação, os meio líquidos restantes foram armazenados em tubos plásticos até o momento de uso no processo de reprocessamento, o meio utilizado neste trabalho contendo amostra de minerais e pirita e um segundo meio utilizado em experimentos anteriores contendo somente pirita, como fontes de energia. Esses meio continham as fontes de energia, o cobalto biolixiviado e todos os outros resíduos de soluções utilizadas no processo de biolixiviação.

Primeiramente foram retiradas 3 amostras das soluções resultantes dos processos de biolixiviação, cada uma contendo cerca de 400 mL e seu pH foi mensurado, duas eram provenientes de uma solução resultante do processo de biolixiviação utilizado neste trabalho, com resíduos da amostra de minerais e pirita como fontes de energia e uma era proveniente de uma solução resultante de um processo de biolixiviação anterior, contendo apenas a pirita, como exemplificado na Tabela 12.

Tabela 12: Soluções resultantes do processo de biolixiviação utilizando *A. ferrooxidans* antes e depois do processo de precipitação de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ e seus respectivos pH, (a) e (b) contendo amostra de minerais e pirita como fontes de energia e (c) contendo apenas pirita como fonte de energia.

Soluções Resultantes do processo de Biolixiviação utilizando *A. ferrooxidans*

Antes do Processo de Precipitação de $\text{Fe}(\text{OH})_3$

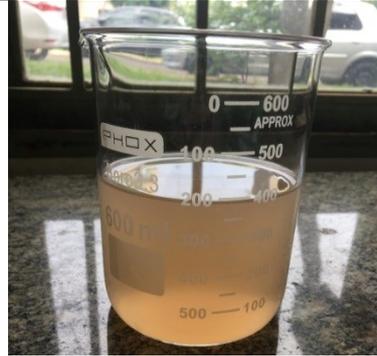
Amostra de Minerais + Pirita (400 mL)

Pirita (400 mL)



a

(pH=1,83)



b

(pH=1,83)

X

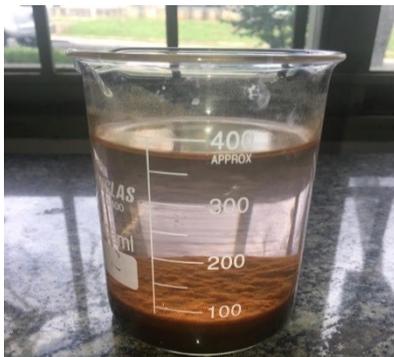
c

(pH=1,45)

Após o Processo de Precipitação de $\text{Fe}(\text{OH})_3$

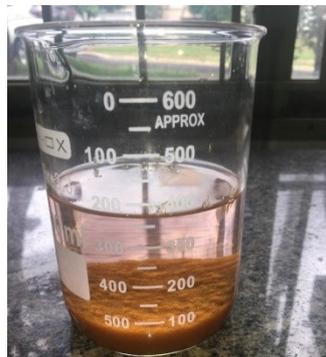
Amostra de Minerais + Pirita (400 mL)

Pirita (400 mL)



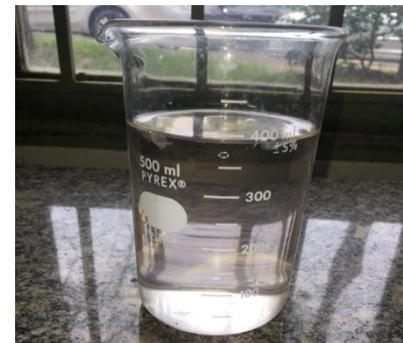
a

(pH=6,63)



b

(pH=4,2)



c

(pH=4,7)

De acordo com a Tabela 12, as soluções A e B antes do tratamento possuíam coloração bege claro homogênea e pH de 1,83, considerado ácido, após o aumento do pH da solução utilizando-se uma solução de NH_4OH $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ a solução A adquiriu pH de 6,63, o sobrenadante adquiriu coloração rosa claro e ocorreu precipitação de corpo de fundo com coloração marrom escuro, apesar deste $\text{pH}=6,63$ ser maior que o indicado de valor 4, onde ocorre a precipitação do ferro, ele foi mantido para fins de comparação.

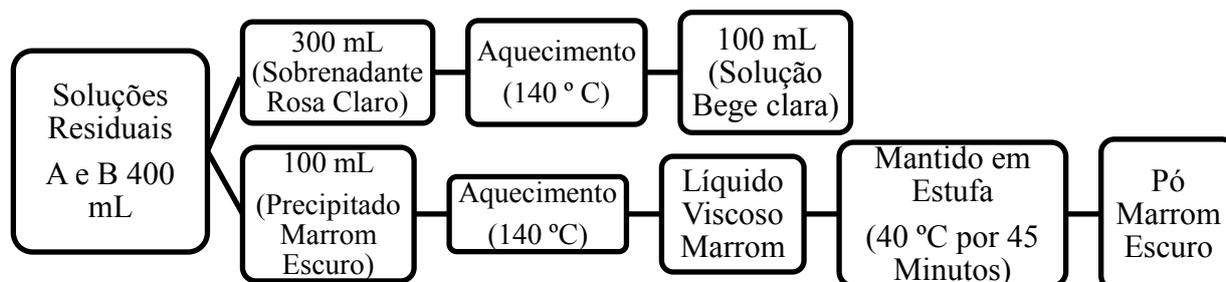
A solução B teve seu pH elevado à 4,2 e ocorreu a precipitação de corpo de fundo de coloração bege escuro. A solução C inicialmente possuía coloração bege escura e pH de 1,45, porém não foi possível registrar em foto, após o processo de precipitação de Ferro da solução, a mesma adquiriu coloração rosa claro e pH de 4,7, na foto não é possível observar a formação de corpo de fundo pois esse processo de precipitação foi feito em um recipiente maior anteriormente, não sendo possível o registro do mesmo, apesar de ter ocorrido a formação de um corpo de fundo de coloração marrom escuro.

Após o processo de precipitação do $\text{Fe}(\text{OH})_3$ das soluções A, B e C, foi efetuado a separação dos precipitados e sobrenadantes. As soluções A e B foram separadas resultando em aproximadamente 300 mL de solução sobrenadante com coloração rosa claro e cerca de 100 mL de precipitado de coloração marrom escuro. A solução C foi utilizada em sua totalidade de aproximadamente 400 mL e seu precipitado não foi utilizado.

As soluções contendo os sobrenadantes foram aquecidas a aproximadamente $140 \text{ }^\circ\text{C}$ em um agitador magnético, como forma de ocorrer à evaporação da água e outros elementos voláteis, deixando-a mais concentrada em cobalto, durante esse tempo as soluções de sobrenadantes A e B sofreram mudança de cor de um rosa claro para uma coloração bege clara, a solução de sobrenadante C não sofreu mudança de coloração, por fim obteve-se aproximadamente 100

mL de solução final de cada uma das três. Todo o processamento das soluções A e B é resumido na Figura 9, em forma de fluxograma.

Figura 9: Fluxograma do processamento das soluções residuais A e B



Os precipitados das soluções A e B foram aquecidos a aproximadamente 140 °C até a formação de um líquido viscoso de coloração marrom escura e posteriormente foram mantidos em uma estufa a 45 °C por 45 minutos, sobre um vidro de relógio com o intuito de diminuir a umidade dos precipitados e facilitar as medidas de DRX. De acordo com a Tabela 13 ocorreu à formação de um pó de coloração marrom escura que foi raspado, macerado e armazenado para posteriores análises da presença de ferro. A Tabela 13 demonstra que o precipitado de pH=6,63 apresentou coloração mais escura que o de 4,2, isso pode ser explicado pela maior concentração de cobalto e outros compostos.

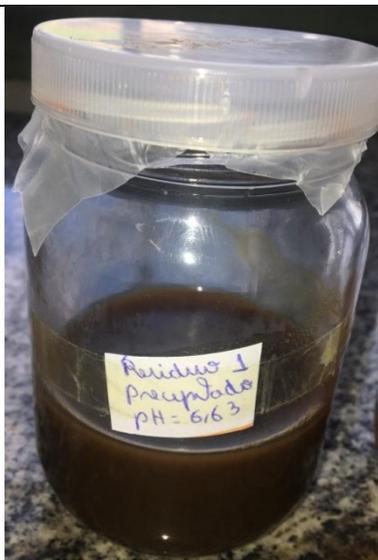
Tabela 13: Soluções de precipitados antes e depois do aquecimento.

Soluções de Precipitados do processo de Biolixiviação utilizando *A. ferrooxidans*

Após precipitação

Resíduo Precipitado A pH=6,63

Resíduo Precipitado B pH=4,2



a



b

Após aquecimento a 140 °C e posteriormente serem mantidos em Estufa a 40 °C por 45

minutos



c



d

As soluções resultantes A, B e C tiveram suas concentrações de cobalto biolixiviado determinadas por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS), antes e depois do processo de precipitação e variação do pH, como exemplificado na Tabela 14.

Tabela 14: Resultados da leitura de AAS das concentrações de cobalto dissolvido nas soluções A, B e C antes e depois do processo de precipitação de $\text{Fe}(\text{OH})_3$.

Concentrações de Cobalto das Soluções Resultantes	
Solução A	
Antes Precipitação (pH=1,83)	Após Precipitação (pH=6,63)
2,5358 mg/L	1,1609 mg/L
Solução B	
Antes Precipitação (pH=1,83)	Após Precipitação (pH=4,2)
2,5358 mg/L	2,0758 mg/L
Solução C	
Após Precipitação (pH=4,7)	
0,6527 mg/L	

De acordo com a Tabela 14, as soluções A e B antes do processo de precipitação apresentaram concentração de cobalto dissolvido idênticas em 2,5358 mg/L, uma vez que são provenientes do mesmo meio. A solução B após a precipitação em **pH=4,2** apresentou concentração maior de cobalto dissolvido em relação as outras, em **2,0758 mg/L**, já a solução A após precipitação em pH=6,63 apresentou concentração de 1,1609 mg/L, concluindo-se que provavelmente na faixa de pH 6,63 parte do cobalto também foi precipitado, por fim a solução C após a precipitação em pH=4,7 apresentou a menor concentração de cobalto dissolvido, 0.6527 mg/L.

Com base nesses resultados, as soluções A e B após precipitação foram misturadas, de forma a se obter uma solução com maior concentração de cobalto dissolvido possível para ser utilizada no processo de síntese de LiCoO_2 .

A solução final, após a mistura das soluções A e B, resultou em uma massa de 129,496 mg de Cobalto dissolvidos em 200 mL, os cálculos estão explícitos na Tabela 15.

Tabela 15: Cálculos das concentrações, massa e número de mols de cobalto nas soluções A, B e Final.

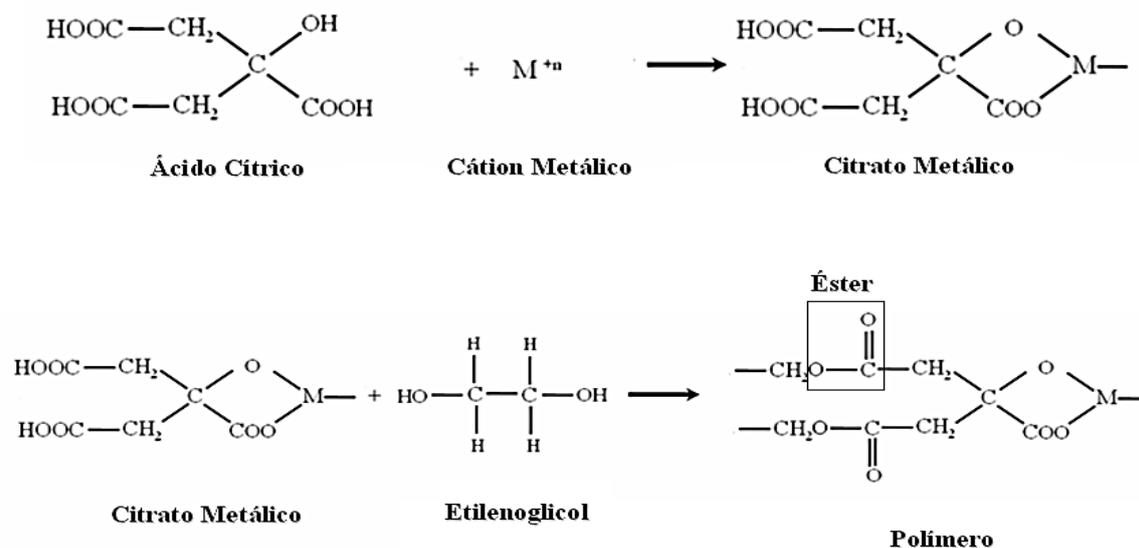
Cálculos de concentração e massa de cobalto na Solução A	
(1)	$2,0758 \text{ mg/L} \times 100 = 207,58 \text{ mg/L}$
(2)	$(207,58 \text{ mg/L} \times 400 \text{ mL}) / 1000 \text{ mL} = 83,032 \text{ mg}$ de Cobalto
(3)	$83,032 \text{ mg} / 1000 = 0,08303 \text{ g Cobalto}$
Cálculos de concentração e massa de cobalto na Solução B	
(1)	$1,1609 \text{ mg/L} \times 100 = 116,09 \text{ mg/L}$
(2)	$(116,09 \text{ mg/L} \times 400 \text{ mL}) / 1000 \text{ mL} = 46,436 \text{ mg}$ Cobalto
(3)	$46,436 \text{ mg} / 1000 = 0,043436 \text{ g de Cobalto}$
Cálculos da massa e número de mols de cobalto na Solução Final (A+B)	
(4)	$0,08303 \text{ g} + 0,043436 \text{ g} = \mathbf{0,129496 \text{ g de}}$ Cobalto
(5)	$0,129496 \text{ g} / 58,933195 \text{ g/Mol} = \mathbf{0,002145921}$ mols de Cobalto

De acordo com a Tabela 15, a concentração de cobalto resultando da leitura em AAS foi inicialmente multiplicada por 100 **(1)**, uma vez que a amostra utilizada no aparelho foi diluída 100 vezes, posteriormente multiplicou-se esse valor por 400, uma vez que esse foi o volume total da onde foram retiradas as amostras para leitura e dividiu-se por 1000 **(2)**, resultando no valor da massa de cobalto total em mg presente na soluções A e B com 400 mL. A massa em mg foi transformada para g por meio da divisão por 1000 **(3)**. As massas de cobalto em g das soluções A e B foram somadas **(4)** e seu resultado foi dividido pela massa molar do cobalto, resultando no número de mols de cobalto presentes na Solução Final (A+B) **(5)**.

A solução final de sobrenadante contendo cobalto (A+B) foi separada e à ela adicionou-se ácido cítrico e acetato de lítio (ALDRICH, P.A.), previamente macerados até a formação de uma mistura homogênea, nas proporções de 1:1 em relação a concentração de cobalto dos meios lixiviados. O ácido cítrico tem a função de complexar os metais em solução formando um quelato (sal ou íon complexo no qual os ligantes se coordenam com o íon ou átomo central através de duas ou mais ligações covalentes), um complexo com os metais em solução (OLIVEIRA, 2013).

Posteriormente, o pH da solução foi elevado a 7 com a adição de NH_4OH 2.0 mol L^{-1} , ao final foi adicionado etilenoglicol, que reage com os quelatos contendo cobalto e lítio, originando um poli álcool por reação de esterificação, além disso a mobilidade dos íons em uma solução contendo etilenoglicol é mais lenta, permitindo um melhor ordenamento da estrutura (OLIVEIRA, 2013). A solução por fim foi aquecida a 140 °C até a formação de um gel (precursor polimérico). A proporção entre ácido cítrico e etilenoglicol utilizada foi de 1:4 e entre ácido cítrico e metais 1:1. As reações químicas desse processo são exemplificadas na Figura 10.

Figura 10: Reações químicas do método de Pechini (OLIVERIA, 2013)



A solução final, de coloração laranja escuro, contendo cobalto, acetato de lítio, ácido cítrico e etilenoglicol, com volume aproximado de 250 mL foi aquecida a 140°C até a formação de um gel viscoso com tonalidade bege claro, Figura 11, e o mesmo foi aquecido na mufla até 250 °C onde permanecendo por 30 minutos para a eliminação da água, depois até 550 °C e permaneceu por 30 minutos com o intuito de promover a eliminação de compostos orgânicos voláteis e posteriormente calcinados por 24 h a 800 °C para ocorrer a cristalização da amostra em LiCoO₂.

Figura 11: Solução Final antes do aquecimento (a) e Gel após aquecimento (b)



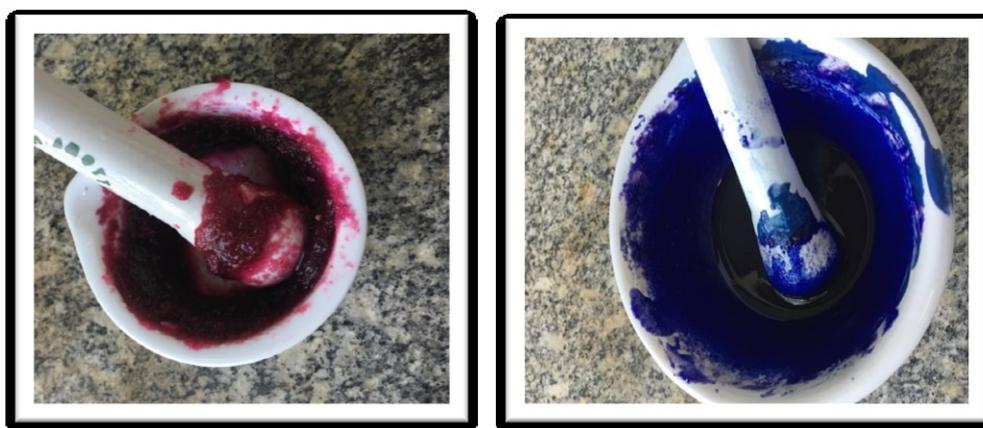
As soluções sintetizadas com diferentes misturas de metais seguiram praticamente a mesma metodologia das soluções utilizando o resíduo de biolixiviação. Para facilitar o entendimento e simplificar a descrição dos resultados das amostras sintetizadas, utilizaram-se siglas para cada tipo de mistura de fonte de cobalto e lítio, como exemplificado na Tabela 16.

Tabela 16: Siglas utilizadas para descrever os três tipos diferentes de misturas de metais utilizados na síntese de LiCoO_2 .

Siglas	Composição
1A	Cloreto de Cobalto e Hidróxido de Lítio
2B	Nitrato de Cobalto e Acetato de Lítio
3A	Acetato de Cobalto e Hidróxido de Lítio

Os diferentes compostos contendo cobalto e lítio foram pesados de acordo com as proporções molares utilizadas e misturados com ácido cítrico até a formação de uma mistura homogênea, como demonstrado na Figura 12, essa mistura apresentava pH muito ácido, em valores de aproximadamente 1, assim foi necessário elevar o pH com a utilização de NH_4OH $2,0 \text{ mol L}^{-1}$, até valores aproximados de $\text{pH}=7$, posteriormente adicionou-se etilenoglicol e as soluções foram armazenadas em béqueres e lacradas com papel filme. As soluções foram aquecidas a $140 \text{ }^\circ\text{C}$, até a formação de géis (percussores poliméricos), durante esse processo ocorreram mudanças de coloração das soluções (Figura 13), já que inicialmente a maioria apresentava coloração roxa escura, mas após certo tempo de aquecimento a cor mudava para rosa escuro ou azul escuro, essas mudanças de colorações provavelmente estão relacionadas à hidratação do complexo e o número de coordenação.

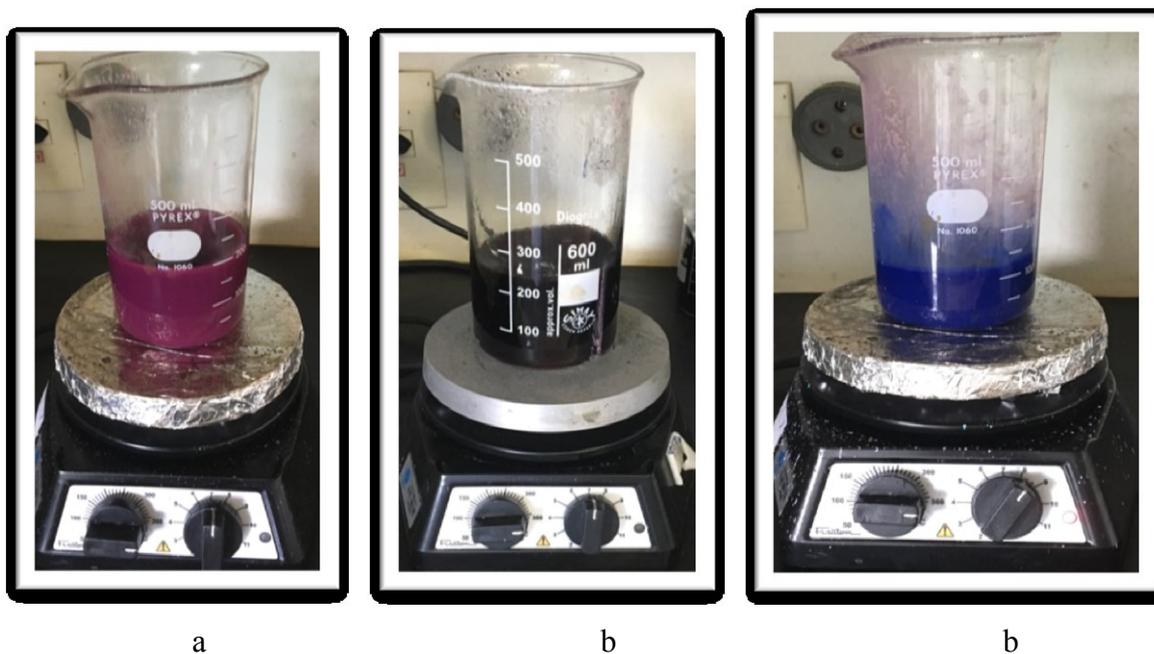
Figura 12: Misturas contendo fontes de cobalto e lítio com ácido cítrico, (a) 3A e (b) 1A.



a

b

Figura 13: Soluções em diferentes estágios de aquecimento, (a) 3A, (b) 2B e (c) 1A.



Após o processo de aquecimento, ocorreu a formação de géis com diferentes colorações e texturas, como exemplificado na Tabela 17, os géis da mistura 3A apresentaram coloração roxo escuro, os da mistura 2B coloração rosa salmão claro e os da mistura 1A coloração roxo claro.

Tabela 17: Fotografias de três tipos de géis após o processo de aquecimento na mesma proporção molar Co:Li (1:1,2)

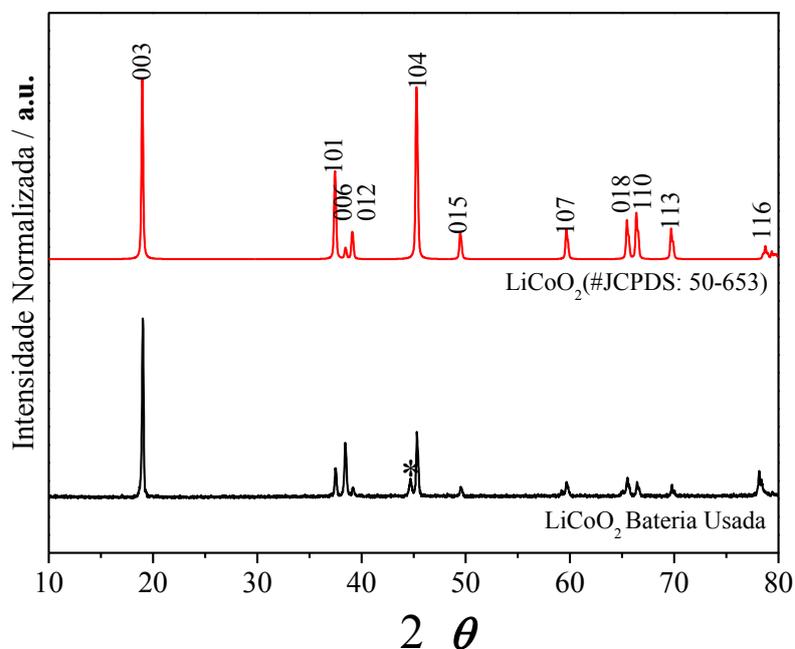
Composição e Proporção Molar (Co:Li)	Foto
3A 1:1,2	
2B 1:1,2	
1A 1:1,2	

3.7 Caracterização estrutural por DRX das amostras sintetizadas e do resíduo de biolixiviação.

Os difratogramas de raios X das amostras utilizadas nesse trabalho foram analisados com a utilização do programa *Crystallographica Search-Match, Versão 2, 1, 1, 1*, comparando seus planos cristalográficos com diversas fichas JCPDS fornecidas pelo banco de dados do programa e analisando suas equivalências.

O material LiCoO_2 raspado do catodo de uma bateria usada, foi utilizado no processo de biolixiviação como resíduo de interesse para extração de cobalto, esse material foi analisado por DRX e a Figura 14 apresenta o difratograma de raios X dessa amostra em comparação com os planos cristalográficos relacionados aos picos de difração do LiCoO_2 da ficha JCPDS #50-653.

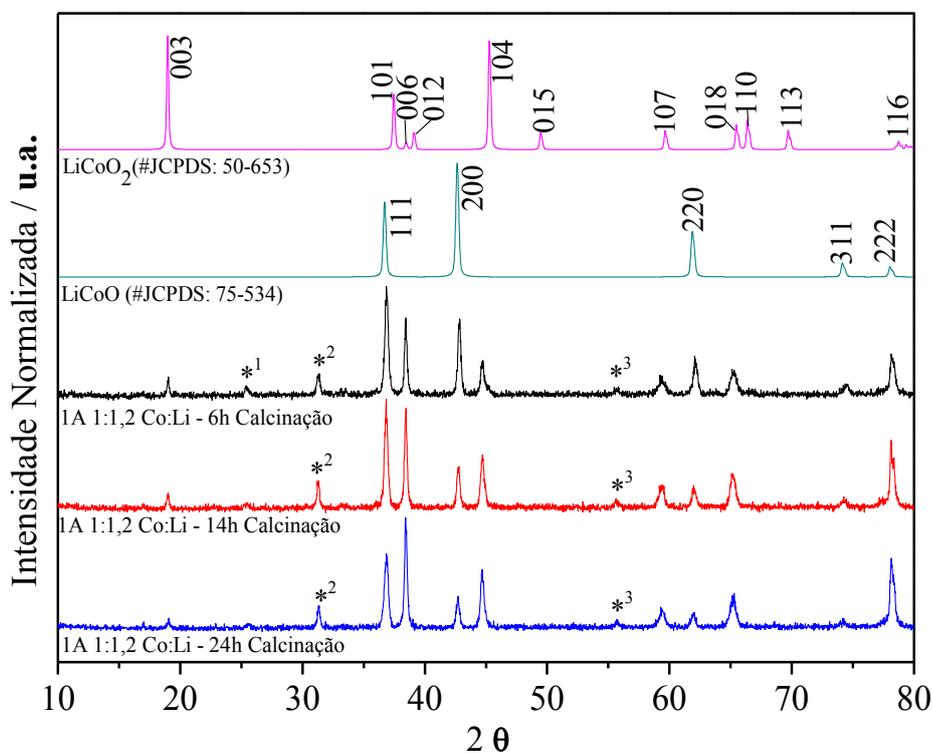
Figura 14: Difratogramas de raios X de matérias catódicos LiCoO_2 de bateria usada (linha preta) e ficha JCPDS #50-653 de LiCoO_2



Os difratogramas da Figura 14 demonstram que o perfil do LiCoO_2 extraído da bateria usada, representado em preto, apresentam picos de difração característicos do HT- LiCoO_2 (sintetizados a temperatura alta, acima de $800\text{ }^\circ\text{C}$) representado pela ficha JCPDS #50-653, em vermelho. O perfil do LiCoO_2 da bateria usada apresentou razões entre as intensidade relativas entre todos os picos principais (003,101,006,012,104,015,107,018,110,113 e 116) diferentes das que são encontradas no material padrão da JCPDS#50-653, indicando a ocorrência de mistura catiônica, ocorreu também aumento da largura dos picos, o que pode ser indicio de mistura de outras fases juntamente com o aparecimento de um pico indicado por (*) próximo ao pico 104. Essas intercorrências são indicativas de que houve distorção anisotrópica na estrutura lamelar do oxido, fenômeno relacionado a perda de atividade eletroquímica (SANTANA, 2016).

A Figura 15 mostra os difratogramas da amostra sintetizada 1A com proporção Co:Li de 1:1,2, ou seja, com 20 % de excesso de Lítio em diferentes tempos de calcinação. A análise dos resultados com utilização do programa *Crystallographica Search-Match* apontou que ocorreu maior combinação dos picos das amostras com a ficha JCPDS #75-534 referente ao LiCoO, uma vez que a figura de mérito (medida utilizada para caracterizar o desempenho de uma método em relação às suas alternativas) foi maior nessa comparação em 42%, apesar disso alguns picos de difração também se relacionam aos da estrutura de HT-LiCoO₂ representado pela ficha JCPDS #50-653, o que pode indicar a ocorrência de uma mistura de fases.

Figura 15: Difratogramas de raios X do material sintetizado 1A na proporção Co:Li em 1:1,2 em diferentes tempos de calcinação, 6 h (linha preta), 14 h (linha vermelha), 24 h (linha azul), ficha JCPDS #50-653 de LiCoO₂ (linha rosa) e ficha JCPDS #75-534 de LiCoO (linha verde).



Em comparação com o difratograma de raios X do LiCoO JCPDS #75-534 (linha verde), o pico 111 apresentou razão entre as intensidade relativas maior nas amostras 1A 1:1,2 calcinadas a 6 h (linha preta) e a 14 h (linha vermelhas) inferindo ocorrência de mistura catiônica, apesar disso em comparação com a calcinada a 24 h (linha azul) a razão entre os picos foi semelhante. O pico 200 apresentou comportamento inverso, quanto maior o tempo de calcinação, maior foi a diferença da razão entre as intensidades relativas. Os picos 220 e 311 apresentaram razões semelhantes entre os diversos tempos de calcinação e no pico 222, quanto maior o tempo de calcinação, maior foi a diferença entre a razão.

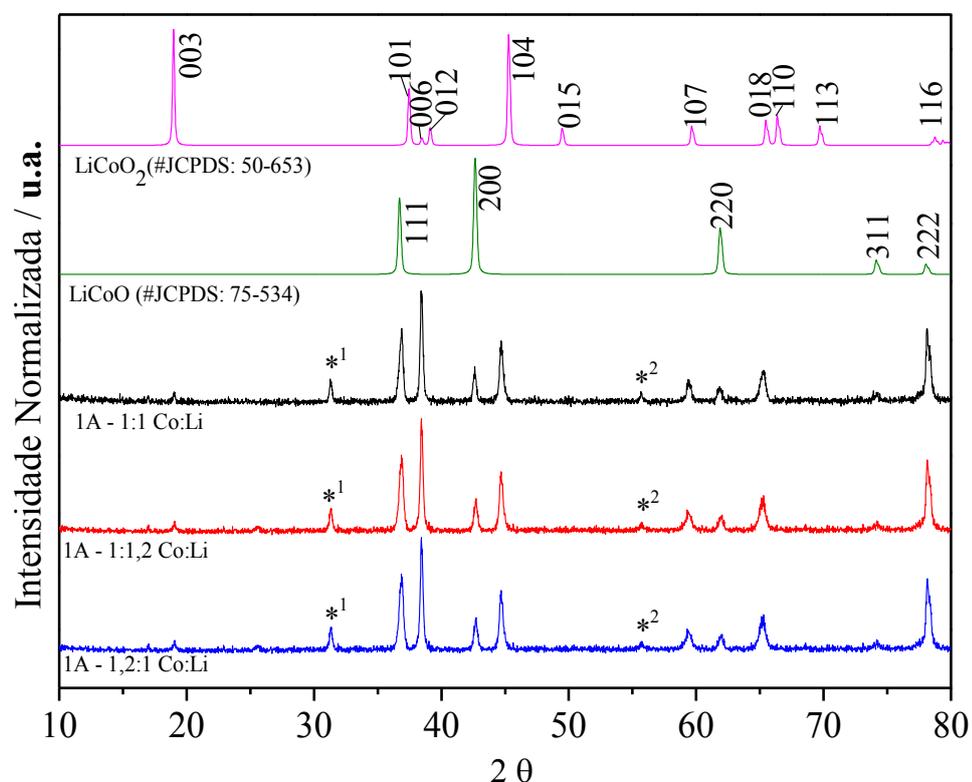
Em comparação com o difratograma de raios X do HT-LiCoO₂ JCPDS #50-653, os picos 003, 006, 104 apresentaram diferença entre a razão entre as intensidades relativas muito altas nas amostras calcinadas, os picos 012, 015, 110 e 113 não aparecem nos difratogramas de raios X das amostras calcinadas e os picos 107 e 018 apresentam diferença entre as razões semelhantes nas amostras calcinadas. O pico 003 relacionado à fase HT-LiCoO₂, diminuiu com o maior tempo de calcinação, sendo maior na amostra calcinada por 6h em comparação com as de 14 h e 24 h.

Em ambas as comparações de LiCoO e LiCoO₂ ocorreu aumento da largura dos picos nas amostras calcinadas, confirmando a mistura de fases, além disso o aparecimento dos picos (*¹), (*²) e (*³) nas amostras também são um indicativo.

As comparações das amostras sintetizadas seguiram o mesmo método, as amostras 1A, 2B e 3A foram calcinadas por 24 h a 800°C, sua síntese foi feita em diferentes proporções molares de Co:Li, 1:1 sempre representado pela linha preta, 1:1,2, excesso de lítio representado pela linha vermelha e 1,2:1, excesso de cobalto, representado pela linha azul. As comparações foram feitas com dois tipos de materiais, o LiCoO de ficha JCPDS #75-534, representado pela linha verde apresentou maior figura de mérito e combinação de picos, já o HT-LiCoO₂ de

ficha JCPDS #50-653 representado pela linha rosa também teve picos representados nas amostras, indicando mistura de fases.

Figura 16: Difratogramas de raios X do material sintetizado 1A, calcinado por 24 h a 800 °C em diferentes proporções molares de Co:Li, 1;1(linha preta), 1:1,2 (linha vermelha), 1,2:1(linha azul), ficha JCPDS #50-653 de LiCoO_2 (linha rosa), e ficha JCPDS #75-534 de LiCoO (linha verde).



A Figura 16 mostra que em relação ao difratograma do LiCoO JCPDS #75-534#75-534 (linha verde), o pico 111 apresentou razão entre as intensidade relativas proporcional nas três amostras de 1A calcinados por 24 h, os picos 200, 220 e 222 apresentaram diferença da razão entre as intensidade relativas proporcional nas três amostras, indicando ocorrência de mistura catiônica. O pico 311 apresentou razão semelhante entre as diversas proporções molares.

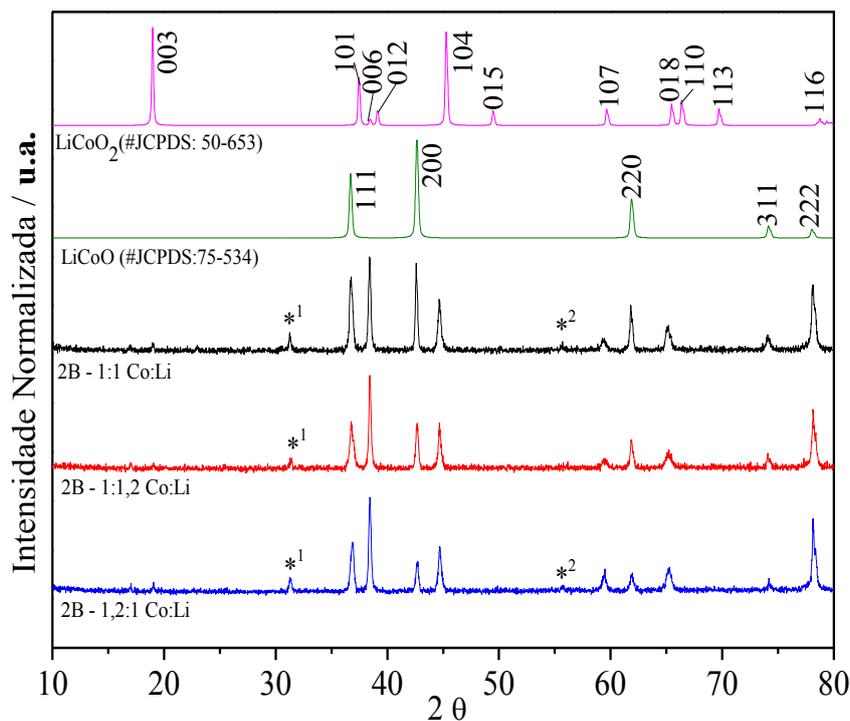
Em relação ao difratograma de raios X do HT-LiCoO₂ JCPDS #50-653, os picos 003, 006, 104 e 116 apresentaram diferença grande entre as razões das intensidades relativas nas amostras, já os picos 107 e 018 exibiram razões semelhantes. Os picos 012, 015, 110 e 113 não apareceram no difratograma de raios X das amostras.

Assim como as amostras em diferentes tempos de calcinação, as em diferentes proporções molares quando comparadas ao LiCoO e LiCoO₂ exibem um aumento da largura dos picos nas amostras calcinadas, confirmando a mistura de fases, além disso o aparecimento dos picos (*¹) e (*²) nas amostras também são um indicativo.

As amostras de 2B calcinadas por 24 h (Figura 17), em diferentes proporções molares são apresentadas na Figura 17, em relação ao difratograma do LiCoO JCPDS #75-534#75-534 (linha verde), o pico 111 apresentou razão entre as intensidade relativas proporcional nas três amostras, os picos 200 e 220 apresentaram diferença da razão entre as intensidade relativas proporcional nas três amostras, nota-se fora da proporção estequiométrica 1:1, esse picos tem maior diferença da razão, indicio de ocorrência de mistura catiônica. O pico 311 apresentou razão semelhante entre as diversas proporções molares e o pico 222 apresentou grande diferença de razão entre as intensidades.

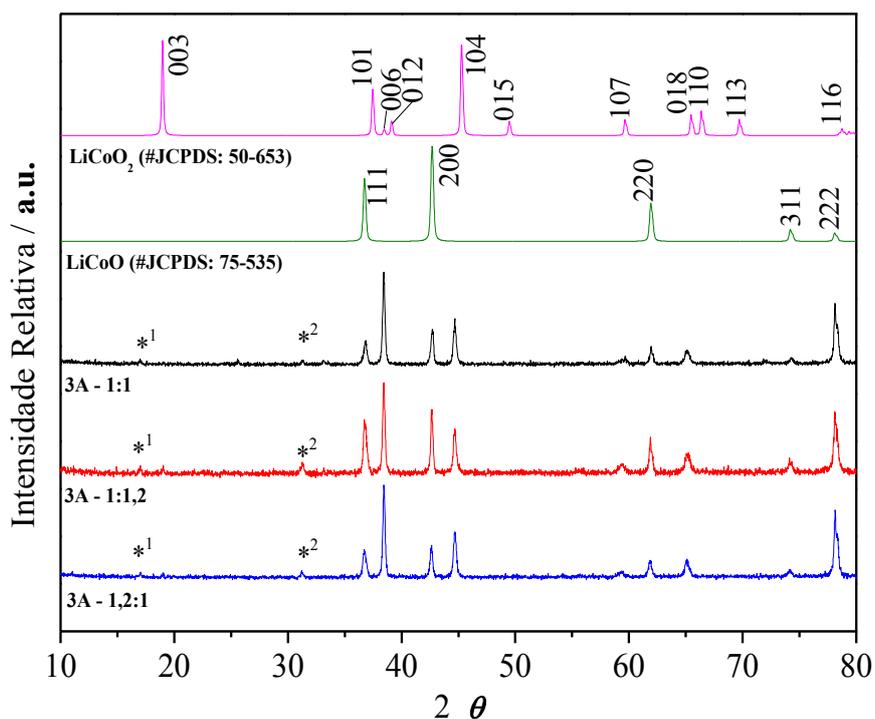
Em relação ao difratograma de raios X do HT-LiCoO₂ JCPDS #50-653, os picos 003, 006, 104 e 116 apresentaram diferença grande entre as razões das intensidades relativas nas amostras, já os picos 107 e 018 exibiram razões semelhantes. Os picos 012, 015, 110 e 113 não apareceram no difratograma de raios X das amostras. Ocorreu aumento da largura dos picos nas amostras, confirmando a mistura de fases, além disso, o aparecimento dos picos (*¹) e (*²) nas amostras também são um indicativo, como citado anteriormente.

Figura 17: Difratogramas de raios X do material sintetizado 2B, calcinado por 24 h a 800 °C em diferentes proporções molares de Co:Li, 1;1 (linha preta), 1;1,2 (linha vermelha), 1,2;1 (linha azul), ficha JCPDS #50-653 de LiCoO_2 (linha rosa) e ficha JCPDS #75-534 de LiCoO (linha verde).



A Figura 18 representa os difratogramas de raios X das amostras 3A, também em diferentes proporções molares, em comparação com o HT- LiCoO_2 JCPDS #50-653, o pico 003 aparece somente na amostra com excesso de lítio, representada pela linha vermelha, porém com uma diferença entre as razões das intensidades relativas proporcionais muito altas. Os picos 107 e 018 possuem razão semelhante nas três proporções molares, os picos 104 e 116 também apresentam diferença entre a razão das intensidades quando comparados com as amostras.

Figura 18: Difratogramas de raios X do material sintetizado 3A, calcinado por 24 h a 800 °C em diferentes proporções molares de Co:Li, 1:1 (linha preta), 1:1,2 (linha vermelha), 1,2:1 (linha azul), ficha JCPDS #50-653 de LiCoO_2 (linha rosa) e ficha JCPDS #75-534 de LiCoO (linha verde).

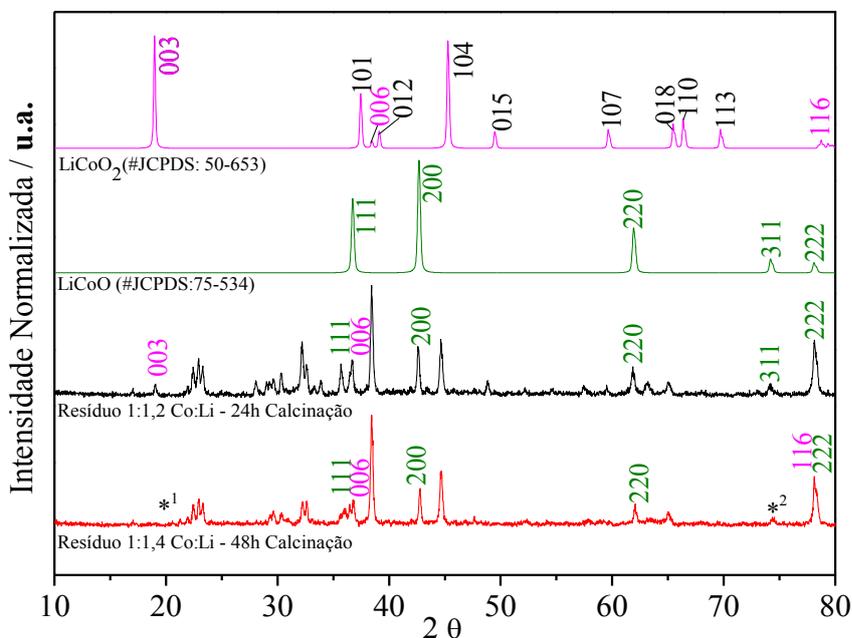


De acordo com as informações dos gráficos de DRX das amostras e a análise dos picos com o software *Crystallographica Search-Match*, infere-se que todas as amostras sintetizadas apresentam perfil de duas fases, LiCoO (JCPDS #75-534) e LiCoO_2 (JCPDS #50-653), sendo que de acordo com o software, a figura de mérito da combinação com o LiCoO foi maior que em relação ao LiCoO_2 , em aproximadamente 42% para as amostras, a não formação de uma fase singular de LiCoO_2 pode ser explicada pela falta de oxigênio durante o processo de calcinação e a necessidade de uma maior tempo de calcinação a 800 °C, acima de 24 h.

A Figura 19 mostra os difratogramas de raios X das amostras dos óxidos reprocessados a partir do resíduo de biolixiviação, as amostras calcinadas por 24 h (linha preta) e 48 h (linha vermelha) apresentaram mistura de fases, referentes ao LiCoO (JCPDS #75-534) e LiCoO_2

(JCPDS #50-653), sendo que de acordo com o software de análise, a figura de mérito foi maior para a combinação com o LiCoO de estrutura cubica. Os pico 003, 006 e 116 referentes ao LiCoO₂ (linha rosa) sofreram aumento da diferença entre as razões das intensidades relativas em ambas as amostras de resíduo, sendo que na amostra de 48h (linha vermelha), o pico 003 desapareceu (*¹). Os picos 111, 200, 220, 311 e 222 referentes ao LiCoO (linha verde), também sofreram aumento da razão das intensidades relativas em ambas as amostras e o pico 311 desapareceu após maior tempo de calcinação em 48h (*²). Os resultados indicam ausência de oxigenação ou insuficiência de tempo e temperaturas de calcinação, dessa forma mais investigações são necessárias.

Figura 19: Difratogramas de raios X do reprocessado a partir do Resíduo, calcinado por 24 h a 800 °C em proporção molar de Co:Li, 1;1,2(linha preta), 1:1,4 e calcinado por 48 h a 800 °C (linha vermelha), ficha JCPDS #50-653 de LiCoO₂(linha rosa) e ficha JCPDS #75-534 de LiCoO (linha verde).



A partir dos difratogramas de raios X com menor teor de mistura de fases, calcularam-se os parâmetros de células unitárias mostrados na Tabela 18, das amostras calcinadas a 800 °C por 24 h em comparação com o padrão da estrutura de LiCoO_2 , de sistema cristalino cúbico. Verifica-se uma tendência de aumento no parâmetro de célula unitária com aumento na proporção de cobalto, concordando o maior raio iônico deste com relação ao lítio. De uma maneira geral, todas amostras calcinadas apresentaram parâmetros de célula unitária semelhantes ao padrão, sugerindo obtenção de proporções estequiométricas de lítio em relação ao cobalto, mesmo pela pequena variação testada entre os metais. As amostras calcinadas a partir do resíduo biolixiviado apresentaram parâmetros de célula unitária semelhantes entre si e aos padrões do método Pechini, indicativos de que houve sucesso na síntese do material a partir da recuperação pelo método biolixiviativo.

Tabela 18: Valores dos parâmetros de célula unitária das amostras sintetizadas e calcinadas a 800 °C por 24 h e valor de referência.

Amostra – Co:Li	Parâmetros de célula unitária
	<i>a</i>
LiCoO (JCPDS #75-535)	4,23600
1A 1:1	<u>4,23682</u>
1A 1:1,2	4,24110
1A 1,2:1	4,24262
2B 1:1	4,23767
2B 1:1,2	4,23809
2B 1,2:1	4,24111
3A 1:1	4,23869
3A 1:1,2	4,23111
3A 1,2:1	4,24044
Resíduo calcinado a 800 °C por 24 h	4,23428
1:1,2	
Resíduo calcinado a 800 °C por 48 h	4,23286
1:1,4	

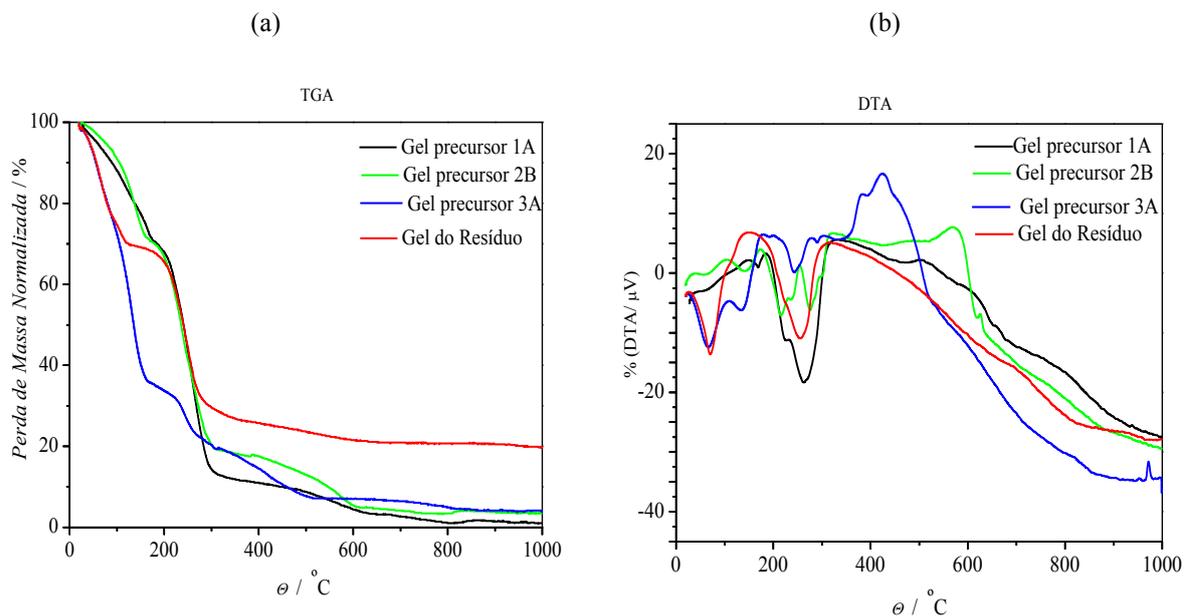
3.8 Caracterização por Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise térmica inclui diversas técnicas que mensuram a variação de uma propriedade física em um espécime submetido a uma programação controlada de temperatura, a análise

termogravimétrica (TGA) é uma das mais utilizadas e mensura a variação de massa de uma amostra durante seu aquecimento de uma temperatura baixa, geralmente ambiente até temperaturas altas, definidas de acordo com o intuito da análise, a perda de massa durante o processo de aquecimento pode ser relacionada a diferentes fenômenos físicos, como a desidratação, sublimação, decomposição, entre outros, que podem servir para diferentes aplicações (PEREIRA et al., 2009). Pode-se observar na Figura 20 que as etapas de decomposição dos géis obtidos pelo método pechini, com proporção molar Co:Li em 1:1,2 em função da temperatura, ocorrem em quatro eventos distintos, sendo a primeira referente à perda de água do material das amostras 3A (linha azul) e do Resíduo (linha vermelha) expressa por um pico endotérmico na curva de DTA (Figura 20, (B)) com consequente perda de massa de acordo com os estudos de Kim, Lee e Kim (2010), já para as amostras 1A e 2B ocorre uma reação exotérmica, que pode ser explicada pela decomposição de seus precursores LiOH e $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$, respectivamente, como inferido nos estudos de Kim, et al. (2000), a segunda refere-se a continuação da perda de água e a formação do quelato por esterificação do etilenoglicol e ácido cítrico (KIM; LEE; KIM, 2010), a terceira pela decomposição da matéria orgânica e, por fim, a quarta compete a transição de fases dos óxidos (AMARAL,2015). Ressalta-se que maiores análises ainda necessitam ser realizadas, para detalhamento das porcentagens de cada fase e a elucidação completa de seus acontecimentos.

Um aspecto importante observado foi a estabilidade térmica semelhante do gel obtido a partir do resíduo quando comparado aos géis obtidos a partir de dois sais precursores utilizados como referência, porém maior estabilidade térmica do óxido formado. A Tabela 19 resume as principais perdas de massa com suas possíveis atribuições referentes às faixas de temperaturas.

Figura 20: (a) TGA e (b) DTA; dos géis obtidos pelo método Pechini, realizados a taxa de 10 °C/ min em atmosfera de N₂.



A partir das curvas termogravimétricas da Figura 20 foram extraídos os principais eventos de perdas de massa com suas respectivas atribuições, mostradas na Tabela 19.

Tabela 19: Perdas de massa com suas possíveis atribuições referentes às faixas de temperaturas. Dados retirados das curvas termogravimétricas das Figuras 20 (a) e (b).

Faixa de temperatura (°C)				Perda de massa (%)				Atribuição de Evento			
Amostras											
1A	2B	3A	Resíduo	1A	2B	3A	Resíduo	1A	2B	3A	Resíduo
27,97- 149,77	19,82 - 105,86	20,09- 109,86	26,4 – 150,58	21,72	29,07	31	29,18	Perda de água			
149,77- 184,49	105,86 – 173,83	109,86 – 179,85	150,58 – 318,54	7,35	19,38	32,51	40,84	Perda de água Formação do quelato			
184,49 - 334,6	173,83 – 328,61	179,85– 279,07	318,54 – 692,19	57,74	58,83	13,05	7,45	Decomposição da matéria orgânica			
334,6 - 1001,2	328,61 - 1001,8	279,07 - 998,7	692,19- 1001,45	11,41	15,39	9,09	1,22	Transição de fases do óxido			

4 CONCLUSÕES

- Os cultivos de *A. ferrooxidans* foram **adaptados** às duas fontes de energia (pirita e amostra de minerais) e ao resíduo catódico LiCoO_2 apresentando bom desenvolvimento e resistência nestes meios.
- A linhagem de *A. ferrooxidans* apresentou maior crescimento em meio de cultivo T&K, utilizando uma concentração de inóculo de 5 % (v/v), resíduo LiCoO_2 fixado em 0,125 g, atingindo a fase de crescimento exponencial após **4 dias de cultivo**, quando o meio tornou-se vermelho-tijolo, turvo e com pH menor que 1,8.
- O cultivo da linhagem de *A. ferrooxidans* atingiu o máximo de biolixiviação em:
 - **25 dias** para o tratamento apenas com a **Amostra de Minerais** (0,250 g), em 19,54 %, com pH constante próximo de 2,3 durante todo o processo.
 - **20 dias** para o tratamento com as **Amostra de Minerais e Pirita** em conjunto (0,125 g de cada) em 48,8 %, com maior variação do pH durante os 30 dias de experimento, ultrapassando o intervalo ideal (entre 1,8 e 2,5) e alcançando valor máximo de aproximadamente 3,2.
- As amostras sintetizadas pelo método de Pechini com diferentes combinações de fontes de Cobalto e Lítio (1A, 2B e 3A) e calcinadas 800 °C, acima de 24 h e 48 h apresentaram mistura de fases: LiCoO (JCPDS #75-534) e LiCoO_2 (JCPDS #50-653), sendo que de acordo com o software *Crystallographica Search-Match*, a figura de mérito da combinação com o LiCoO foi maior que em relação ao LiCoO_2 , em aproximadamente 42%.
- O resíduo reprocessado a partir da solução biolixiviada apresentou mistura de fases cristalográficas, concordante com LiCoO_2 (JCPDS #50-653) e LiCoO (JCPDS #75-534), apresentando maior figura de mérito com o LiCoO em ambos os tratamentos, excesso de 40%

de Lítio e calcinadas por 48 h a 800 °C e excesso de 20% de Lítio e calcinadas por 24 h a 800 °C.

- Os aumentos dos valores de parâmetro de célula unitária sugerem aumento de inserção de íons lítio na estrutura cristalina;
- O termograma do gel do resíduo apresentou estabilidade térmica do gel semelhante aos dos géis obtidos a partir de acetatos utilizados como referência, com maior estabilidade do óxido.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

- AHONEN, L.; TUOVINEN, O. H. Bacterial oxidation of sulfide minerals in column leaching experiments at suboptimal temperatures. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 58, n. 2, p. 600-606, Feb. 1992.
- AMARAL, F. A. et al. Pechini Synthesis of Nanostructured $\text{Li}_{1.05}\text{M}_{0.02}\text{Mn}_{1.98}\text{O}_4$ (M = Al³⁺ or Ga³⁺). **Materials Research**, São Carlos, v. 18, supl. 2, p. 250-259, Dec. 2015.
- ANUNZIATO, P. A. **Efeito do *Thiobacillus ferrooxidans* na corrosão do aço 430**. 2008. 73 f. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuáva, 2008.
- BALDI, F. et al. Leaching of pyrites of various reactivities by *Thiobacillus ferrooxidans*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 58, n. 6, p. 1853-1856, June 1992.
- BAYAT, B.; SARI, B. Comparative evaluation of microbial and chemical leaching processes for heavy metal removal from dewatered metal plating sludge. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 174, n. 1-3, p. 763-769, Feb. 2010.
- BAYLISS, P. Crystal structure refinement of a weakly anisotropic pyrite cubic model. **American Mineralogist**, Washington, v. 62, p. 1168-1172, 1977.
- BEVILAQUA, D. et al. Oxidation of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks. **Process Biochemistry**, London, v. 38, n. 4, p. 587-592, 2 Dec. 2002.
- BHARGAVA, S. K.; POWNCEBY, M. I.; RAM, R. Hydrometallurgy. **Metals**, v. 6, n. 5, p. 122, 2016. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2075-4701/6/5/122/htm>>. Acesso em: 10 nov. 2017.
- BOCCHI, N.; FERRACIN, L. C.; BIAGGIO, S. R. Pilhas e baterias: funcionamento e impacto ambiental. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 11, p. 3-9, maio 2000.
- BOSECKER, K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 20, n. 3-4, p. 591-604, July 1997.
- BRIERLEY, J. A.; BRIERLEY, C. L. Present and future commercial applications of biohydrometallurgy. In: AMILS, R.; BALLESTER, A. (Ed.). **Biohydrometallurgy and the environment toward the mining of the 21st century**: volume 9A. The Netherlands: Elsevier, May 1999. Volume A: Bioleaching, Microbiology. Chapter 1 Bioleaching.
- BUSNARDO, N. G.; PAULINO, J. F.; AFONSO, J. C. Recuperação de cobalto e de lítio de baterias íon-lítio usadas. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 4, p. 995-1000, jul./ago. 2007.

¹ Normatização de acordo com ABNT.

CAICEDO, G. A.; MÁRQUEZ, M. A. Mecanismo de selección de consorcios bacterianos compatibles com *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans* em procesos de biodesulfurización de carbón. **Revista Facultad de Ingeniería**, Medellín, n. 52, p. 88-94, marzo 2010.

CALGARO, O. C. et al. Recuperação de cobalto de baterias íon-lítio através de lixiviação ácida e eletro-obtenção. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v. 5, n. 5, p. 867-874, jun. 2012.

CHIACCHIARINI, P.; DE LA FUENTE, V.; DONATI, E. Pre-treatment of a refractory gold sulfide ore by means of *acidithiobacilli* cells. **Latin American Applied Research**, Bahía Blanca, v. 33, n. 1, p. 33-37, enero 2003.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Norma técnica L5.217. Thiobacillus**: determinação do número mais provável de *Thiobacillus* sp. em água pela técnica dos tubos múltiplos: método de ensaio. São Paulo, dez. 1991. 34 p.

COSTA, A. C. F. M. et al. Avaliação do tamanho da partícula do ZnO obtido pelo método Pechini. **Revista Eletrônica de Materiais de Processos**, [s.l.], v. 2, n. 3, p. 14-19. 2007.

CRUNDWELL, F. K. How do bacteria interact with minerals? **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 71, n. 1-2, p. 75-81, Oct. 2003.

CRUZ, R. et al. An experimental strategy to determine galvanic interactions affecting the reactivity of sulfide mineral concentrates. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 78, n. 3-4, p. 198-208, Aug. 2005.

d'HUGUES, P. Continuous bioleaching of a pyrite concentrate in stirred reactors: Population dynamics and exopolysaccharide production vs. bioleaching performance. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 94, n. 1-4, p. 34-41, Nov. 2008.

DEBARAJ, M. et al. Bioleaching of metals from spent lithium ion secondary batteries using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Waste Management**, v. 28, n. 2, p. 333-338, 2008.

DOSHI, J.; MISHRA, S. D. **Bioleaching of lateritic nickel ore using chemolithotrophic microorganisms (*Acidithiobacillus ferrooxidans*)**. 2007. Thesis (Bachelor of Technology in Chemical Engineering) – Department of Chemical Engineering, National Institute of Technology Rourkela, Rourkela, 2007.

DONATI, E. R.; SAND, W. (Ed.). **Microbial processing of metal sulfides**. La Plata: Springer, 2007.

EHRlich, H. L. Microbes and metals. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 48, n. 6, p. 687-892, Dec. 1997.

ELEMENT ENERGY. **Cost and performance of EV batteries**: final report for The Committee on Climate Change. Cambridge, 2012.

FARIAS, C. E. G.; COELHO, J. M. **Mineração e meio ambiente no Brasil**, [S.l.], out. 2002. Relatório preparado para o CGEE PNUD: contrato 2002/001604.

FRANÇA, R. G.; FIGUEIREDO, F. F. Redução por biolixiviação do teor de metais pesados presentes nos lodos de esgotos digeridos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21., 2001, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Paraíba, 2001. p. 1-9.

FRANCISCO JÚNIOR, W. E.; BEVILAQUA, D.; GARCIA JÚNIOR, O. Estudo da dissolução oxidativa microbiológica de uma complexa amostra mineral contendo pirita (FeS_2), pirrotita (Fe_{1-x}S) e molibdenita (MoS_2). **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1095-1099, out. 2007.

GARCIA JÚNIOR, O. **Estudos da biolixiviação de minérios de urânio por *Thiobacillus ferrooxidans***. 1989. 37 f. Tese (Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Genética) – Universidade de Campinas, Campinas, SP, 1989.

GARCIA JÚNIOR, O.; URENHA, L. C. Lixiviação bacteriana de minérios. In: LIMA, U. A. **Biotecnologia industrial**, São Paulo: E. Blucher, 2001. v. 3.

GERBASE, A. E.; OLIVEIRA, C. R. Reciclagem do lixo de informática: uma oportunidade para a química. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 7, p. 1486-1492, 2012.

GHASSA, S. et al. Bioleaching of high grade Zn–Pb bearing ore by mixed moderate thermophilic microorganisms. **Separation and Purification Technology**, Amsterdam, v. 136, p. 241-249, 5 Nov. 2014 Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S1383586614005279/1-s2.0-S1383586614005279-main.pdf?_tid=85f27c6e-e00a-11e7-97bc-00000aacb361&acdnat=1513172326_aef29142c6e5a3fde160204d4f198d1d>. Acesso em: 13 dez. 2017.

GÓMEZ, J. M.; CANTERO, D. Biooxidación del ión ferroso. In: ACEVEDO, F.; GENTINA, J. C. (Ed.). **Fundamentos y perspectivas de las tecnologías biomineras**. Valparaíso: Ediciones Universitarias de Valparaíso, 2005. cap. 2, p. 25-43.

HANSFORD, G. S.; VARGAS, T. Chemical and eletrochemical basis of bioleaching processes. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 59, n. 2-3, p. 135-145, Feb. 2001.

HARNEIT, K. et al. Adhesion to metal sulfide surfaces by cells of *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 83, n. 1-4, p. 245-254, Sept. 2006.

HIROYOSHI, N. et al. Inhibitory effect of iron-oxidizing bacteria on ferrous-promoted chalcopyrite leaching. **Biotechnology and Bioengineering**, Sapporo, v. 64, n. 4, p. 478-483, Aug. 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO. **A indústria da mineração para o desenvolvimento do Brasil e a promoção da qualidade de vida do brasileiro**. Brasília, DF, 2014. Disponível em: <<http://www.ibram.org.br/sites/1300/1382/00005649.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2017.

JACKSON, E. **Hydrometallurgical Extraction and Reclamation**. Chichester: Ellis Horwood 1986.

KIM, D. S. et al. Effect of pH on the Synthesis of LiCoO₂ with Malonic Acid and Its Charge / Discharge Behavior for a Lithium Secondary Battery. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 21, n. 11, p. 1125–1132, Jun. 2000.

KIM, D. S., LEE, C. K., KIM, H. Preparation of nano-sized LiCoO₂ powder by the combination of sonication and modified Pechini process. **Solid State Sciences**, v. 12, n. 1, p. 45–49, Jan. 2010.

KOCAMAN, A. T; CEMEK, M.; EDWARDS, K. J. Kinetics of pyrite, pyrrhotite, and chalcopyrite dissolution by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Canadian Journal Of Microbiology**, Ottawa, v. 62, n. 8, p. 629-642, Aug. 2016. Disponível em: <<http://web.a-ebSCOhost-com.ez34.periodicos.capes.gov.br/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=1&sid=5c0a24a9-b98a-4ead-addc-ff3c06f685dc%40sessionmgr4007>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

KURADE, M. B. et al. Ferric biogenic flocculant produced by *Acidithiobacillus ferrooxidans* enable rapid dewaterability of municipal sewage sludge: a comparison with commercial cationic polymer. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Barking, v. 96, p. 105-111, Dec. 2014. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0964830514002613/1-s2.0-S0964830514002613-main.pdf?_tid=3f248bb0-e00f-11e7-9198-0000aacb360&acdnat=1513174355_4125e856514989df23f836fd461c2bae>. Acesso em: 13 dez. 2017.

LEDUC, L. G.; FERRONI, G. B.; TREVORS, J. T. Resistance to heavy metals in different strains of *Thiobacillus ferrooxidans*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 13, n. 4, p. 453-455, July 1997.

LEWIS, G. et al. Biohydrometallurgical recovery of metals from Fine Shredder Residues. **Minerals Engineering**, Oxford, v. 24, n. 11, p. 1166-1171, Sept. 2011.

MA, L. et al. Differential fluoride tolerance between sulfur-and ferrous iron-grown *Acidithiobacillus ferrooxidans* and its mechanism analysis. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 119, p. 59-66, 15 Mar. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com.ez34.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1369703X16303497?via%3Dihub>>. Acesso em: 13 dez. 2017

MAJZLAN, J. et al. Thermodynamic properties and crystal structure refinement of ferricopiapite, coquimbite, rhomboclase, and Fe₂(SO₄)₃(H₂O)₅. **European Journal of Mineralogy**, Stuttgart, v. 18, n. 2, p. 175-186, 2006.

MASCARIN, D. B. **Solubilização da calcopirita e da bornita por *Thiobacillus ferrooxidans***. 1999. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, 1999.

McGORAN, C. J.; DUNCAN, D. W.; WALDEN, C. C. Growth of *Thiobacillus ferrooxidans* on various substrates. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 15, n. 1, p. 135-138, Jan. 1969.

- MEJÍA, E. R. et al. Bioleaching of Galena (PbS). In: SALIH, S. (Ed.). **Fourier Transform: Materials Analysis**. Medellín: IntechOpen, 2012. chap. 9, p. 191-205.
- MENDES, A. F.; VIEIRA, F. Gestão ambiental na indústria de mineração no Brasil: Técnicas para minimizar potenciais impactos ambientais na extração do cobre. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 1., 2010, Bauru. **Anais...** Bauru: IBEAS, 2010. p. 1-10.
- MERUANE, G.; VARGAS, T. Bacterial oxidation of ferrous iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the pH range 2.5-7.0. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 71, n. 1-2, p. 149-158, Oct. 2003.
- MISHRA, A. K.; ROY, P.; MAHAPATRA, S. S. R. Isolations of Thiobacillus ferrooxidans from various habitats and their growth pattern on solid medium. **Current Microbiology**, New York, v. 8, n. 3, p. 147-152, May 1983.
- MISHRA, D. et al. Bioleaching of metals from spent lithium ion secondary batteries using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Waste Management**, Elmsford, v. 28, n. 2, p. 333-338, Jan. 2008.
- MORIN, D. et al. BioMinE: Integrated project for the development of biotechnology for metal-bearing materials in Europe. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 83, n. 1-4, p. 69-76, Sept. 2006.
- MOUSAVI, S. M. et al. Influence of process variables on biooxidation of ferrous sulfate by an indigenous *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Part I: Flask experiments. **Fuel**, London, v. 85, n. 17-18, p. 2555-2560, Dec. 2006.
- MUÑOZ, J. A. et al. A study of the bioleaching of a Spanish uranium ore. Part I: A review of the bacterial leaching in the treatment of uranium ores. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 38, n. 1, p. 39-57, May 1995.
- NASCENTE, J. P. C.; FERREIRA, O. M. **Impactos sócio-ambientais provocados pelas ocupações irregulares do solo urbano**: estudo de caso do loteamento serra azul. Goiânia: [s.n], 2007.
- NOVAK G. A.; GIBBS G. V. The crystal chemistry of the silicate garnets sample Al. **American Mineralogist**, Washington, v. 56, p. 791-825, May/June 1971.
- OLIVEIRA, A. L. M. **Síntese e caracterização de pós e filmes finos de SrSn_{1-x}TixO₃**. 2013. 215 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.
- OLIVEIRA, L. E. L. **Identificação e isolamento de bactérias envolvidas na formação de drenagem ácida mineira na região de Jacobina (Bahia) e o seu uso na biolixiviação de cobre**. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

OLSON, G. J.; BRIERLEY, J. A.; BRIERLEY, C. L. Bioleaching review part B: progress in bioleaching: applications of microbial processes by the minerals industries. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 63, n. 3, p. 249-257, Dec. 2003.

PANDA, S. et al. Two step meso-acidophilic bioleaching of chalcopyrite containing ball mill spillage and removal of the surface passivation layer. **Bioresource Technology**, Essex, v. 130, p. 332-338, Feb. 2013. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0960852412019293/1-s2.0-S0960852412019293-main.pdf?_tid=e3c5d004-e008-11e7-ab2b-00000aab0f26&acdnat=1513171624_7f154d9af633b21e1322437c49ceb7ad>. Acesso em: 13 dez. 2017.

PEREIRA, J. G. et al. Termogravimetria: um novo enfoque para a clássica determinação de cálcio em cascas de ovos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 1661-1666, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000600052&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 9 jun. 2018.

PINTO, P. B. Estimativa da drenagem ácida por oxidação química e biológica de geomateriais sulfetados. 2006. 79 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

PRADHAN N, N. K. C. et al. Heap bioleaching of chalcopyrite: A review. **Minerals Engineering**, Oxford, v. 21, n. 5, p 355-365, Apr. 2008.

QU, Y. et al. Bioleaching of heavy metals from red mud using *Aspergillus niger*. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 136, p. 71-77, Apr. 2013.

RAWLINGS, D. E.; JOHNSON, D. B. The microbiology of biomining: development and optimization of mineral-oxidizing microbial consortia. **Microbiology**, Washington, v. 153, pt. 2, p. 315-324, Feb. 2007.

REIDLER, N. M. V. L.; GÜNTHER, W. M. R. Impactos sanitários e ambientais devido aos resíduos gerados por pilhas e baterias usadas. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENTAL, 28., 2002, Cancún. **Anais...** Cancún: Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 2002. 1 CD-ROM.

SAND, W. et al. (Bio)chemistry of bacterial leaching-direct vs. indirect bioleaching. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 59, p. 159-175, 2001.

SANTANA, L. K. de. **Investigação da rota biohidrometalúrgica com *Acidithiobacillus ferrooxidans/thiooxidans* para recuperação do cobalto de baterias de íons lítio descartadas**. 2016. 148 f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/17683/1/InvestigacaoRotaBiohidrometalurgia.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2017.

SANTOS, M. S. **Avaliação da atividade oxidativa do *Acidithiobacillus ferrooxidans* sobre uma mistura composta de diferentes proporções dos sulfetos minerais pirita e calcopirita**. 2011. 66 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual

Paulista, Instituto de Química, 2011. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/87967>>. Acesso em: 12 abr. 2017.

SARAVANAN, K. et al. Storage performance of LiFePO₄ nanoplates. **Journal of Materials Chemistry**, Cambridge, v. 19, p. 605-610, 2009.

SEIDEL, H. et al. Effect of diferente types of elemental súlfur on bioleaching of heavy metals from contaminated sediments. **Chemosphere**, Oxford, v. 62, n. 9, p. 1444-1453, Mar. 2006.

SILVA, J. P. S. Impactos ambientais causados por mineração. **Espaço da Sophia**, Brasília, DF, n. 8, 2007.

SILVERMAN, M. P.; EHRLICH H. L. Microbial formation and degradation of minerals. **Advances in Applied Microbiology**, San Diego, v. 6, p. 153-206, 1964.

STOUT M. Z.; BAYLISS P. Crystal structure of two ferrian ulvospinel from British Columbia. **Canadian Mineralogist**, Ottawa, v. 18, n. 3, p. 339-341, 1 Aug. 1980.

TOMITA, K.; SHIRAKI, K.; KAWANO, M. Crystal structure of dehydroxylated 2M1 sericite and its relationship with mixed-layer mica/smectite. **Clay Science**, Tokyo, v. 10, n. 5, p. 423-441, 1998.

TUOVINEN, O. H.; KELLY, D. P. Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. I. Use of membrane filters and ferrous iron agar to determine viable number and comparison 14CO₂ – fixation and iron oxadation as measures of growth. **Archives of Microbiology**, Berlin, v. 88, n. 4, p. 285-298, 1973.

VAISBICH, S.; MORAES PINTO, M. L.; BORZANI, W. Lixiviação bacteriana de rejeito de minério de cobre de camaquã pela ação de bactéria isolada do próprio rejeito. **Revista Brasileira de Tecnologia**, Brasília, DF, v. 10, n. 4, p. 289-302, 1979.

VEIT, H. M. et al. Recovery of copper from printed circuit boards scraps by mechanical processing and electrometallurgy. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 137, n. 3, p. 1704-1709, Oct. 2006.

VESTOLA, E. A. et al. Acidbioleaching of solid waste materials from copper, steel and recycling industries. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 103, n. 1-4, p. 74-79, June 2010.

VIERA, M.; POGLIANI, C.; DONATI, E. Recovery of Zinc, Nickel, Cobalt And Other Metals By Bioleaching. In: DONATI, E. R.; SAND, W. (Ed.). **Microbial Processing of Metal Sulfides**. La Plata: Springer, 2007. chap. 5, p. 103-119.

WATLING, H. R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides: A review. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 84, n. 1-2, p. 81-108, Oct. 2006.

WONG, J. W. C. et al. Influence of ferrous ions on extracellular polymeric substances content and sludge dewaterability during bioleaching. **Bioresource Technology**, Essex, v. 179, p.78-83, Mar. 2015. Disponível em

<<http://www.sciencedirect.com.ez34.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0960852414015314?via%3Dihub#b0145>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

XIN, Y. et al. Bioleaching of valuable metals Li, Co, Ni and Mn from spent electric vehicle Li-ion batteries for the purpose of recovery. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 116, p. 249-258, 10 Mar. 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com.ez34.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0959652616000056?via%3Dihub>>. Acesso em: 13 dez. 2017

XU, T. J.; TING, Y. P. Fungal bioleaching of incineration fly ash: Metal extraction and modeling growth kinetics. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 44, n. 5, p.323-328, 6 May 2009.

YAMANE, L. H.; ESPINOSA, D. C. R.; TENÓRIO, J. A. S. Lixiviação bacteriana de sucata eletrônica: influência dos parâmetros de processo. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 50-56, jan./mar. 2013.

YELTON, A. P. et al. Comparative genomics in acid mine drainage biofilm communities reveals metabolic and structural differentiation of co-occurring archaea. **BMC Genomics**, London, v. 14, p. 485-499, 2013. Disponível em: <<https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-14-485>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

ZHU, N. et al. Bioleaching of metal concentrates of waste printed circuit boards by mixed culture of acidophilic bacteria. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 192, n. 2, p. 614-619, 30 Aug. 2011.

ZHU, N. et al. Recycling of spent nickel-cadmium batteries based on bioleaching process. **Waste Management**, Elmsford, v. 23, n. 8, p. 703-708, 2003.