



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



**AVALIAÇÃO DOS PROCESSOS DE LIXIVIAÇÃO E BIOLIXIVIAÇÃO PARA A
RECUPERAÇÃO DE COBALTO E LÍTIO DE BATERIAS DE ÍONS DE LÍTIO**

UBERLÂNDIA

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DOS PROCESSOS DE LIXIVIAÇÃO E BIOLIXIVIAÇÃO PARA A
RECUPERAÇÃO DE COBALTO E LÍTIO DE BATERIAS DE ÍONS DE LÍTIO**

Luis Henrique dos Reis Menêzes

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, área de concentração em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos.

UBERLÂNDIA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

M551a Menêzes, Luis Henrique dos Reis, 1991-
2018 Avaliação dos processos de lixiviação e biolixiviação para a recuperação de cobalto e lítio de baterias de íons de lítio [recurso eletrônico] / Luis Henrique dos Reis Menêzes. - 2018.

Orientadora: Juliana de Souza Ferreira.

Coorientadora: Miriam Maria de Resende.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.43>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Engenharia química. 2. Processos químicos. 3. Baterias de lítio. 4. Cobalto. 5. Lixiviação. 6. Lítio. I. Ferreira, Juliana de Souza, 1975-, (Orient.). II. Resende, Miriam Maria de, 1971-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

CDU: 66.0

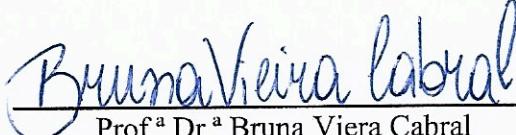
Rejâne Maria da Silva – CRB6/1925

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA COMO PARTE DOS REQUISITOS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM ENGENHARIA QUÍMICA, EM 11 DE JULHO DE 2018

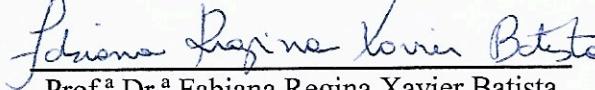
BANCA EXAMINADORA


Prof.ª Dr.ª Juliana de Souza Ferreira
Orientadora
PPGEQ/UFU


Prof.ª Dr.ª Miriam Maria de Resende
Coorientador
PPGEQ/UFU


Prof.ª Dr.ª Bruna Viera Cabral
UFTM


Prof.ª Dr.ª Vicelma Luiz Cardoso
PPGEQ/UFU


Prof.ª Dr.ª Fabiana Regina Xavier Batista
PPGEQ/UFU

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, força, proteção e por ter colocado essas pessoas que fazem a diferença na minha vida.

Aos meus orientadores mais antigos, minha mãe Edione e meu padrasto Berardino, e meu pai Nezivaldo e minha madrasta Arlinda, pelo apoio incondicional, confiança, dedicação e paciência.

Ao meu irmão David e a toda minha família, tios, primos e avós pelos incentivos.

As minhas orientadoras, Prof.^a Juliana Ferreira e Prof.^a Miriam Maria, pela orientação, confiança, ânimo, competência e por todo conhecimento que adquiri nesses últimos 2 anos.

A Prof.^a Vicelma Cardoso pelas sugestões e por ter me apresentado esse projeto.

Aos meus amigos de infância Líniquer Andrade, Rodolpho Richan e Uellis Pereira pelos longos anos de amizade, incentivo e doses de esperança (sic).

A todos os meus amigos/companheiros de mestrado do semestre de 2016.2, em especial Olga Silva, por ter participado de toda minha formação acadêmica, compartilhando dos momentos felizes até outros nem tanto (sic), e também aos que fiz durante todo o período de pós-graduação, Fernanda Arzani e Thais Gomes. Aprendi muito com todos vocês e não existiriam melhores companheiros de jornada.

Aos colegas e amigos do NUCBIO/UFU, por cada conhecimento compartilhado.

Aos amigos que fiz em Uberlândia pelo acolhimento e momentos de distração.

Aos alunos de iniciação científica que me ajudaram na realização dos experimentos, em especial Guilherme Moura e Leonardo Mesquita.

A todos os professores do PPGEQ e técnicos da FEQUI/UFU, pelos ensinamentos e ajuda, contribuindo para minha formação.

A CAPES, CNPq e FAPEMIG, pelo auxílio financeiro.

Muitas vezes só nos damos conta de quantas pessoas especiais nos rodeiam e deram a maior força, na hora de escrever as páginas de agradecimento.

*“Sei que podia ser bem menos complicado
Mas não fosse complicado
Talvez eu nem estive aqui pra ver o que isso iria ser”
(Projota)*

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	<i>i</i>
LISTA DE TABELAS	<i>iii</i>
RESUMO.....	<i>iv</i>
ABSTRACT	<i>v</i>
1 INTRODUÇÃO	<i>1</i>
2 OBJETIVOS.....	<i>4</i>
2.1 Objetivo Geral	<i>4</i>
2.2 Objetivos Específicos	<i>4</i>
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	<i>5</i>
3.1 As Baterias de Íons de Lítio.....	<i>5</i>
3.2 Importância ambiental, econômica e tecnológica da recuperação do lítio e cobalto ...	<i>8</i>
3.3 Política de reciclagem de baterias de íons de lítio no Brasil.....	<i>10</i>
3.4 Processos de Recuperação de Baterias de Íons de Lítio.....	<i>10</i>
3.4.1 Processo mecânico	<i>11</i>
3.4.2 Pirometalurgia.....	<i>13</i>
3.4.3 Hidrometalurgia (Lixiviação)	<i>13</i>
3.4.4 Biohidrometalurgia (Biolixiviação).....	<i>15</i>
3.4.4.1 Histórico da biohidrometalurgia.....	<i>16</i>
3.4.4.2 Os microrganismos utilizados e os avanços na biohidrometalurgia	<i>16</i>
3.4.4.3 Mecanismos de biolixiviação	<i>19</i>
3.4.4.4 Parâmetros que afetam a biolixiviação.....	<i>22</i>
4 MATERIAL E MÉTODO	<i>25</i>
4.1 Material	<i>25</i>
4.1.1 Baterias de íons de lítio	<i>25</i>
4.1.2 Microrganismos.....	<i>25</i>
4.1.3 Reagentes	<i>25</i>
4.2 Metodologia Experimental	<i>26</i>
4.2.1 Manutenção das linhagens microbianas	<i>26</i>
4.2.1.1 Consórcio microbiano.....	<i>26</i>
4.2.1.2 Acidithiobacillus ferrooxidans e Acidithiobacillus thiooxidans.....	<i>27</i>
4.2.1.3 Penicillium oxalicum.....	<i>28</i>
4.2.2 Desmantelamento das baterias.....	<i>28</i>
4.2.3 Ensaios de Lixiviação.....	<i>31</i>
4.2.3.1 Determinação do teor total dos metais Co e Li na amostra.....	<i>31</i>

4.2.3.2 Ensaio de lixiviação: Influência do tipo de ácido orgânico como lixiviente	32
4.2.3.3 Produção de meio lixiviente rico em ácidos orgânicos por fermentação.....	33
4.2.3.4 Ensaios de lixiviação utilizando efluente de fermentação	34
4.2.4 Ensaios preliminares de biolixiviação	34
4.2.4.1 Consórcio microbiano.....	34
4.2.4.2 <i>Penicillium oxalicum</i>	35
4.2.5 Ensaios de biolixiviação	36
4.2.5.1 <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	36
4.2.5.2 <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	37
4.2.5.3 Consórcio microbiano.....	37
4.2.5.4 <i>Penicillium oxalicum</i>	38
4.2.6 Análises	38
4.2.6.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	38
4.2.6.2 Determinação da concentração de metais por Espectroscopia de Absorção Atômica em Chama (EAAC).....	39
4.2.6.3 Determinação de Ácidos Orgânicos e açúcares por HPLC.....	39
4.2.6.4 Determinação do potencial hidrogeniônico (pH)	39
4.2.6.5 Determinação de compostos fenólicos totais	40
4.2.6.6 Determinação de concentração celular	40
4.2.6.7 Concentração de açúcar redutores por DNS.....	41
4.2.6.8 Determinação do potencial de oxidação/redução (ORP)	41
4.2.6.9 Determinação da concentração de ácido sulfúrico.....	42
4.2.6.10 Determinação de metais bioassorvidos (ou bioacumulados) pelos microrganismos .	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 Determinação do teor total dos metais Co e Li na amostra.....	43
I) ENSAIOS DE LIXIVIAÇÃO.....	43
5.2 Influência do tipo de ácido orgânico como lixiviente: puro e em mistura com H_2SO_4	43
5.3 Fermentação de meio lixiviente rico em ácidos orgânicos	47
5.4 Ensaios de lixiviação utilizando efluente de fermentação	50
II) ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO	52
5.5 Ensaios preliminares de biolixiviação.....	52
5.5.1 Consórcio microbiano	52
5.5.2 – <i>Penicillium oxalicum</i>	56
5.6 Ensaios de biolixiviação	59
5.6.1 Consórcio Microbiano.....	59
5.6.2 <i>Penicillium oxalicum</i>	66

<i>5.6.3 Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	68
<i>5.6.4 Acidithiobacillus thiooxidans</i>	72
<i>4.6.5 Considerações finais da Biolixiviação</i>	74
<i>4.6.6 Análise morfológica da amostra biolixiviada pelo consórcio microbiano</i>	75
6 CONCLUSÃO	77
7 ETAPAS FUTURAS	79
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 -Diagrama esquemático do funcionamento de uma bateria recarregável de íons lítio	6
Figura 3.2 - Esquema de funcionamento de uma bateria de íons lítio.	7
Figura 3.3 - Mecanismos de ação da bactéria na biolixiviação	20
Figura 4.1 - Fluxograma dos ensaios de lixiviação e biolixiviação para recuperação de Co e Li de baterias de íon-lítio.....	26
Figura 4. 2 - Desmantelamento da bateria (I) bateria; (II) bateria sem as partes plástica externa e metálica; (III) lâmina de copolímero (IV) eletrodo de cobre (ânodo); (V) eletrodo de alumínio (cátodo).....	29
Figura 4. 3 - Amostras utilizadas nos ensaios: (a) Composta pelo óxido de lítio, que foi raspada da lâmina alumínio. (b) Obtida a partir da moagem da folha de alumínio e cobre juntas.....	30
Figura 4. 4 - Distribuição Granulométrica da amostra obtida a partir da moagem da folha de alumínio e cobre juntas.....	30
Figura 4. 5 - Aparelhagem utilizada no processo de lixiviação	31
Figura 5. 1 - Variação da concentração dos ácidos orgânicos formados (■ ácido láctico, ○ ácido butírico, □ ácido acético e ▲ ácido propiônico) durante as 900 horas de fermentação com permeado do soro do leite para diferentes pHs (a) 5,5 e (b) 6,5.	48
Figura 5. 2 - Variação da (□) concentração do substrato (lactose proveniente do PSL) e do (●) pH durante as 900 horas de fermentação escura com permeado do soro do leite, para diferentes pHs (a) 5,5 e (b) 6,5.	49
Figura 5. 3 - (a) Avaliação da recuperação de (■) lítio e (○) cobalto nas diferentes concentrações de óxido de Li e Co após três dias de biolixiviação. (b) Perfil do consumo da lactose nas diferentes concentrações de óxido após três dias de biolixiviação.	54
Figura 5. 4 - (a) Perfil (▲) da concentração final de lactose e do (●) crescimento celular nas diferentes razões S/L após três dias de biolixiviação e (b) avaliação da concentração de (■) lítio e (○) cobalto.....	54
Figura 5. 5 - Perfil de concentração final do (▲) substrato ((a) lactose proveniente do PSL e (b) dextrose), e do (□) crescimento celular nas diferentes concentrações iniciais dos respectivos substratos após 4 dias de fermentação.....	56
Figura 5. 6 - Variação do consumo de (▲) (a) lactose e (b) dextrose e do (□) crescimento celular nas diferentes razões S/L após 4 dias de biolixiviação.....	57
Figura 5. 7 - Variação da concentração de metais dissolvidos ((■) lítio e (○) cobalto) em função das diferentes razões sólido/líquido para o meio utilizando (a) lactose e (b) dextrose após três dias de biolixiviação.....	58
Figura 5. 8 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 2,5 g/L, 180 rpm, com choque térmico).....	60
Figura 5. 9 - Variação da (▲) concentração de lactose (g/L) e da (●) concentração celular (gSV/L) no ensaio de biolixiviação da amostra contendo o óxido de Li e Co, utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 2,5 g/L, 180 rpm, com choque térmico).	61

Figura 5. 10 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 35 g/L, 180 rpm, com choque térmico).....	62
Figura 5. 11 - Variação da (▲) concentração de lactose (g/L) e da (●) concentração celular (gSV/L) no ensaio de biolixiviação da amostra contendo ambos os eletrodos utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 35 g/L, 180 rpm, com choque térmico).....	63
Figura 5. 12 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 35 g/L, 180 rpm, com choque térmico).....	64
Figura 5. 13 - Variação da (▲) concentração de lactose (g/L) e da (●) concentração celular (gSV/L) no ensaio de biolixiviação da amostra de ambos os eletrodos utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 35 g/L, 180 rpm, sem choque térmico).....	65
Figura 5. 14 - Variação do pH ao longo do tempo de biolixiviação para os três ensaios (□) I, (○) II e (■) III realizados utilizando consórcio microbiano.....	65
Figura 5. 15 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando o <i>Penicillium oxalicum</i> (razão S/L de 40 g/L, 130 rpm, com PSL 100g/L).....	67
Figura 5. 16 - Variação da (▲) concentração de lactose (g/L) e da (●) concentração celular (gSV/L) no ensaio de biolixiviação com a amostra composta pelos eletrodos utilizando o <i>P. oxalicum</i> (razão S/L de 40 g/L, 130 rpm, com PSL)	67
Figura 5. 17 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> (razão S/L de 5 g/L da amostra composta pelos eletrodos, 180 rpm).....	69
Figura 5. 18 - Variação do pH ((□) sem inóculo (■) com inóculo) e do ácido sulfúrico ((○) sem inóculo (●) com inóculo) ao longo do tempo de biolixiviação, utilizando <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> (razão S/L de 5 g/L dos eletrodos), 180 rpm)	70
Figura 5. 19 - Variação do potencial de oxirredução das amostras ((□) sem inóculo (■) com inóculo) ao longo do tempo de biolixiviação, utilizando <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> (razão S/L de 5 g/L dos eletrodos, 180 rpm)	71
Figura 5. 20 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando <i>A. thiooxidans</i> (razão S/L de 5 g/L da amostra contendo os eletrodos, 180 rpm)	72
Figura 5. 21 - Variação do pH ((□) sem inóculo (■) com inóculo) e do ácido sulfúrico ((○) sem inóculo (●) com inóculo) ao longo do tempo de biolixiviação, utilizando <i>A. thiooxidans</i> (razão S/L de 5 g/L dos eletrodos, 180 rpm)	73
Figura 5.22 - Microscopia Eletrônica de Varredura com aumento de 500 vezes, (a e b) e com aumento de 4000 vezes (c e d), antes(a e c) e depois (b e d) do processo de biolixiviação do ensaio II do consórcio microbiano com choque térmico utilizando a amostra contendo ambos os eletrodos.	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Composição do meio sintético para ensaio fermentativo	27
Tabela 4.2 - Composição meio T&K para manutenção do <i>A. ferrooxidans</i> (TUOVINEN; KELLY, 1973).....	27
Tabela 4.3 - Composição meio de cultura 9K para manutenção do <i>A. thiooxidans</i> (SILVERMAN; LUNDGREN, 1959).	27
Tabela 4.4 – Meio sintético seletivo sólido para manutenção do <i>P. oxalicum</i> (PIKOVSKAYA, 1948)	28
Tabela 4.5 - Meio líquido sintético modificado (SAMPAIO et al., 2003)	36
Tabela 5.1 - Teor de Co e Li nas amostras de bateria de íons de lítio por digestão com água régia a 90°C, 300 rpm e 25 g/L	43
Tabela 5.2 - Recuperação (%) de Co e Li em relação ao uso de ácidos orgânicos puros e em mistura com H ₂ SO ₄ como agente lixiviante a 86,5 °C, 300 rpm, 2,5 h e razão S/L de 18,5 g/L para a amostra contendo o óxido de Li e Co	44
Tabela 5.3 - Composição final dos ácidos orgânicos no efluente de fermentação utilizando o consórcio microbiano e permeado do soro do leite em pó	48
Tabela 5.4 - Recuperação (%) de Co e Li em relação do efluente de fermentação em mistura com H ₂ SO ₄ como agente lixiviante a 86,5 °C, 300 rpm, 2,5 h e razão S/L de 18,5 g/L para a contendo ambos os eletrodos	50
Tabela 5.5 - Consumo da lactose proveniente do permeado do soro do leite em diferentes pH iniciais em um tempo de três e sete dias.....	53
Tabela 5.6 - Resultados para todos os processos de biolixiviação utilizados no presente trabalho.	74

RESUMO

O elevado crescimento no consumo de aparelhos celulares resultou no aumento de lixo eletrônico, como as baterias de íons de lítio (LIBs), que causam danos ambientais, em decorrência da liberação de metais pesados. A busca por novos métodos sustentáveis para minimizar esse tipo impacto, pode também ser uma alternativa para a escassez de metais de alto valor comercial, como o Cobalto e o Lítio. Dito isso, essa dissertação teve como objetivo avaliar a recuperação de Co e Li em LIBs. Numa primeira etapa, foi aplicado o método de lixiviação, em que se estudou o potencial de diferentes ácidos orgânicos (láctico, acético, propiônico, butírico e cítrico) como lixiviantes, sendo usados puros (3,4 M) ou em mistura com ácido sulfúrico (sulfúrico:orgânico / 1,25 M:0,75 M), utilizando o permeado do soro de leite, como agente redutor; produção de lixiviante a partir da fermentação de consórcio microbiano rico em ácidos orgânicos e a utilização destes para lixivar os metais em associação com o ácido sulfúrico. Destes ensaios, verificou-se que o ácido láctico em associação com o H₂SO₄ recuperou 94,35% para Li e 90,90% para Co, enquanto que a recuperação de Co e Li foi inferior a 82% e 68%, respectivamente, empregando os demais ácidos orgânicos em associação com o ácido sulfúrico. Com relação ao uso do ácido orgânico puro, novamente, o ácido láctico foi o que apresentou maior potencial, com recuperações em torno de 57% de Co e 64% de lítio, e para os demais, esses índices variaram entre 0,27% a 53%. Na fermentação para obtenção de um meio com potencial para lixiviação, a manutenção do pH a 5,5 com batelada repetida de permeado do soro de leite, permitiu a obtenção de um meio lixiviante rico em ácidos orgânicos que, combinado com H₂SO₄, resultou em uma recuperação de 100% para o Co e 99,87% para o Li. Numa segunda etapa, foram realizados ensaios de biolixiviação com diferentes microrganismos (consórcio microbiano anaeróbio, *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*, e o *P. oxalicum*), incluindo desde as etapas para definição das condições iniciais de razão sólido/líquido, tipo e concentração da fonte de carbono e pH inicial. Na biolixiviação, as bactérias acidófilas se destacaram tanto em termos de recuperação (99% Li e 65% Co) quanto em tempo de processo. Entretanto, teve-se resultados consideráveis com a aplicação do consórcio microbiano anaeróbio, com recuperação de 61,8% e 51,2%, respectivamente, para Li e Co, em 31 dias. Este resultado mostra que o consórcio microbiano é promissor, visto que as condições operacionais são moderadas e de fácil adaptação em diversos meios.

Palavras-chaves: baterias de íons de lítio, cobalto, lítio, lixiviação, biolixiviação

ABSTRACT

The high growth in the consumption of mobile phones has resulted in the increase of electronic waste, such as lithium ion batteries (LIBs), which cause environmental damages, due to the release of heavy metals. The search for new sustainable methods to minimize this impact has been an alternative to the shortage of added-value commercial metals, such as Cobalt and Lithium. Therefore, this study aimed to evaluate the recovery of Co and Li in LIBs. In a first step, it was the leaching method, in which the potential of different organic acids (lactic, acetic, propionic, butyric and citric) as leachate was studied. These organic acids were used pure (3.4 M) or in mixture with sulfuric acid (sulfuric: organic / 1.25 M: 0.75 M), using milk whey permeate as reducing agent. Besides, the production of leachate from the fermentation of microbial consortium in order to obtain high concentration of organic acids was also evaluated. In the sequence this medium was applied in the leaching of the metals in association with sulfuric acid. From these tests, lactic acid in association with H_2SO_4 recovered 94.35% for Li and 90.90% for Co, whereas Co and Li recovery were less than 82% and 68% respectively, employing the other organic acids in association with sulfuric acid. Regarding to the use of pure organic acids, again, the lactic acid presented the best results, with recoveries around 57% Co and 64% lithium, while, the recoveries using other organic acids, varied between 0.27% and 53%. In the fermentation to obtain a medium with potential for leaching, the maintenance of the pH at 5.5 with repeated batch of milk whey permeate, allowed to achieve a leaching medium rich in organic acids that, combined with H_2SO_4 , resulted in a 100% recovery for Co and 99.87% for Li. In a second step, bioleaching experiments with different microorganisms (anaerobic microbial consortium, *A. ferrooxidans* and *A. thiooxidans*, and *P. oxalicum*) were carried out, including the steps for defining the initial conditions of solid / liquid ratio, type and concentration of carbon source and initial pH. In the bioleaching assays, the acidophilic bacteria stood out both in terms of recovery (99% Li and 65% Co) and in process time. Nevertheless, considerable results were obtained with the application of the anaerobic microbial consortium, with recovery of 61.8% and 51.2%, respectively, for Li and Co, in 31 days. This result shows that the consortium is promising, since the operating conditions are moderate and easily adaptable in various environments.

Keywords: Li-ion batteries, cobalt, lithium, leaching, bioleaching

1 INTRODUÇÃO

A utilização de baterias de íons lítio (LIBs) como fonte de energia recarregável em aparelhos eletrônicos aumentou significativamente nas últimas décadas, devido as suas inúmeras características, como: alta densidade energética, longo ciclo de vida, ausência de efeito de memória, segurança e capacidade de serem produzidas em tamanhos reduzidos. Além disso, a crescente aposta do mercado em carros elétricos prevê um aumento exponencial nos próximos anos no consumo dessas baterias (MOSHTEV; JOHNSON, 2000; KANG et al., 2013; ORDONEZ et al., 2016).

Contudo, a constante evolução tecnológica gera uma grande quantidade de LIBs usadas, que pode se tornar um risco potencial ao ambiente e a saúde humana. A falta de políticas públicas de conscientização e fiscalização, faz com que em geral, após o final do seu ciclo de vida, as baterias sejam eliminadas como resíduos e descartadas diretamente no meio ambiente, o que causa sérias preocupações devido aos seus componentes tóxicos, como solventes orgânicos e metais pesados (GRATZ et al., 2014; LI; BUCKTHOUGHT; BAKER, 2016). Desta forma, a recuperação desse tipo de resíduo, com o objetivo de minimizar o impacto ambiental, se faz necessária. Além disso, a presença de metais valiosos como lítio e cobalto pode garantir uma fonte mineral secundária, já que há estudos que indicam que a reciclagem desses metais economizaria 51% dos recursos naturais (BUSNARDO; PAULINO; AFONSO, 2007; HOREH; MOUSAVID; SHOJAOSADATI, 2016).

Dentre os principais processos de recuperação de LIBs relatados na literatura, destacam-se: (1) o processamento mecânico, normalmente utilizado como um pré-tratamento, e pode conter etapas de desmantelamento, moagem, classificação granulométrica, separação magnética e eletrostática; (2) pirometalúrgico, que consiste em tratamento térmico e é empregado industrialmente, porém há um alto consumo de energia e emite grande quantidade de gases tóxicos; (3) o hidrometalúrgico que, apesar de eficiente na recuperação dos metais por lixiviação, utiliza grande volume de reagentes de elevado custo, além de gerar efluentes ambientalmente indesejados; (4) e, por fim, a biohidrometalurgia que promove a lixiviação por ação de microrganismos, e apresenta vantagens de implementação e processamento, consistindo um método mais limpo. Contudo este último, demanda um tempo maior de processo e rendimento menores, limitando sua utilização em larga escala (WATLING, 2006; JHA et al., 2013; MESHRAM; PANDEY; MANKHAND, 2014).

A necessidade de implementação de métodos novos ou o aprimoramento dos processos existentes, com intuito de reduzir os impactos causados pelos componentes tóxicos e aumentar a eficiência de recuperação dos metais contidos nessas baterias que são de alto valor comercial, faz com que seja importante destacar a proposta deste estudo em relação aos trabalhos já desenvolvidos.

Com relação à hidrometalurgia para recuperação de Li e Co de LIBs, de modo geral, os trabalhos realizados utilizaram como lixiviante, principalmente, ácidos inorgânicos (ácido sulfúrico (NAN; HAN; ZUO, 2005; FERREIRA et al., 2009; CHEN et al., 2011), clorídrico (JOULIÉ; LAUCORNET; BILLY, 2014; BARIK; PRABAHARAN; KUMAR, 2017), fosfórico (LEE; RHEE, 2002; CHEN et al., 2017), que geram resíduos que agredem o meio ambiente ou, mais recentemente, ácidos orgânicos puros (ácidos cítrico, málico, succínico) (GOLMOHAMMADZADEH; RASHCHI ;VAHIDI, 2017; LI et al., 2013; ZHANG et al., 2018) que, apesar de serem biodegradáveis, são de alto custo, elevando o orçamento do processo. Como alternativa a reduzir os impactos ambientais causados pelo uso dos ácidos inorgânicos e minimizar os custos pela aplicação dos ácidos orgânicos, neste estudo, propôs-se utilizar como lixiviante o efluente de fermentação de consórcio microbiano, sendo este rico em ácidos orgânicos (ácido láctico, butírico, acético e propiônico), avaliou-se a ação de cada um destes de forma isolada e em combinação com o ácido sulfúrico. As condições de fermentação pelo consórcio microbiano foram investigadas e, em seguida, o impacto dos efluentes resultantes na lixiviação de LIBs foi testado.

Quanto ao tipo de agente redutor, usado para reduzir a valência do íon metálico Co (+3 para +2) e aumentar sua estabilidade em solução, o mais utilizado é o peróxido de hidrogênio (LI et al., 2013; JHA et al., 2013). Entretanto, na literatura há registro do uso de glicose (MESHRAM; PANDEY; MANKHAND, 2014; PAGNANELLI et al., 2014; GRANATA et al., 2016; CHEN et al., 2016; CHEN et al., 2018), sacarose (CHEN et al., 2018), bissulfito de sódio (MESHRAM; PANDEY; MANKHAND, 2015a) e ácido ascórbico (NAYAKA et al., 2016a; PENG et al., 2018). Nesse estudo, foi usado a lactose proveniente do permeado de soro de leite (PSL), uma vez que em trabalho desenvolvido anteriormente (URIAS, 2017) a recuperação na presença de lactose de PSL foi satisfatória em comparação aos testes com H_2O_2 e glicose. O uso de permeado de soro de leite mostra que resíduos ou subprodutos industriais podem ser incorporados ao processo minimizando custos de matéria-prima e redução de impacto ambiental.

Quanto a aplicação da biolixiviação nos últimos anos, as pesquisas desenvolvidas vêm mostrando um impacto promissor no tratamento de resíduos para a recuperação de metais (WATLING, 2006). Entre os principais microrganismos envolvidos nesse processo estão as acidófilas quimiolitolotróficas, como o *Acidithiobacillus ferrooxidans* (MISHRA et al., 2008; BAJESTANI; MOUSAVIDI; SHOJAOSADATI, 2014) e *Acidithiobacillus thiooxidans* (CERRUTI; CURUTCHET; DONATI, 1998), que são empregados em cultura pura ou mista (XIN et al., 2009; HEYDARIAN et al., 2018). Além disso, há pesquisas, em menor número, utilizando espécies de fungos como *Penicillium* e *Aspergillus niger* (HOREH; MOUSAVIDI; SHOJAOSADATI, 2016; RASOULNIA; MOUSAVIDI, 2016; FARAJI et al., 2018). Dito isso, a avaliação da capacidade de biolixiviação de outros microrganismos heterotróficos, mostra-se vantajoso já que os fungos têm uma capacidade maior de tolerar materiais tóxicos, com uma fase de retardamento mais curta, uma taxa de lixiviação mais rápida e crescem em meios alcalinos e ácidos (HOREH; MOUSAVIDI; SHOJAOSADATI, 2016). Nesse estudo, foi avaliado a ação do consócio microbiano proveniente de um efluente industrial e o *Penicillium oxalicum* no processo de biolixiviação, além de averiguar os fatores que podem otimizar a eficiência desse método como substrato, pH, concentração celular, e razão sólido/líquido.

Dessa forma, a partir do breve levantamento anterior, é evidente que a busca por novos processos de recuperação de metais de baterias, bem como o aprimoramento dos métodos estudados possibilitará um desenvolvimento tecnológico para que no futuro a aplicação industrial, tendo em vista a gestão sustentável, seja viável, diminuindo custos, reduzindo o impacto ambiental e a exploração de reservas minerais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho teve como objetivo avaliar os processos de lixiviação e biolixiviação para recuperação de Lítio e Cobalto de baterias de íons de lítio usadas.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a presença de diferentes ácidos orgânicos na composição do lixivante;
- Avaliar a produção de meios lixiviantes, ricos em ácidos orgânicos, resultantes da fermentação de consórcio microbiano;
- Avaliar diferentes agentes microbianos no processo de biolixiviação como *Penicillium oxalicum*, *consórcio microbiano anaeróbio*, *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans*
- Estudar os parâmetros do processo como: razão sólido/líquido (S/L), tipo e concentração substrato, e pH.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 As Baterias de Íons de Lítio

A primeira bateria de lítio surgiu na década de 1970, construída por Michael S. Whittingham, que utilizava este elemento na forma metálica e sulfeto de titânio como eletrodos. Entretanto, essa combinação não era segura, uma vez que a alta reatividade do lítio metálico, origina reações violentas, podendo ocasionar explosões (CHEN et al., 2015).

Mais tarde, nos anos de 1980, uma equipe de pesquisa da *Sony Energetic Incorporation* liderada pelo químico americano John B. Goodenough produziu uma versão mais estável da bateria de lítio recarregável, utilizando lítio na forma iônica, através do emprego de ânodo à base de grafite e de compostos de lítio com características de inserção iônica como cátodo. Então, no início dos anos 90 a *Sony* apresentou comercialmente a primeira bateria recarregável de lítio-íon (LIB), baseada no ânodo de grafite (C) e cátodo de cobaltado de lítio (LiCoO_2) (PESQUERO et al., 2008).

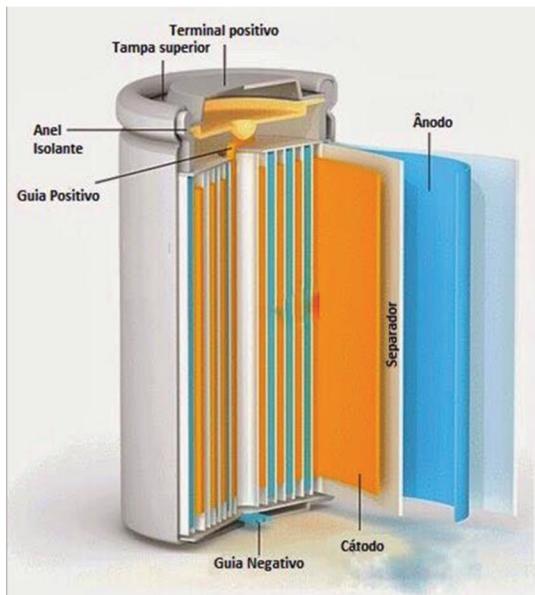
A partir desse momento, ocorreram intensos desenvolvimentos e diversificações tecnológicas com uma gama crescente de aplicações. O uso de LIBs aumentou rapidamente porque, atualmente, elas são amplamente usadas como fontes de energia em telefones celulares, computadores pessoais, câmeras de vídeo e outros aparelhos modernos (NAN; HAN; ZUO, 2005; RA; HAN, 2006).

Além do uso de baterias de íons de lítio nesses diversos eletrônicos, a utilização por carros elétricos é um futuro cada vez mais próximo. A *World Energy Council* estima que, já em 2020, um a cada seis automóveis vendidos será elétrico. Enquanto que a *Volkswagen* acredita que, em 2025, quase 25% de seus carros serão elétricos. Encabeçando essas mudanças está a *Tesla*, que aposta pesado nos veículos elétricos. Uma nova geração de LIBs, juntamente com o aumento dos preços do petróleo e a necessidade de lidar com as mudanças climáticas, provocou uma corrida global para eletrificar o transporte (TOLLEFSON, 2008). A popularização do uso das baterias de íons de lítio é devido às suas características, como elevado tempo de vida útil, tamanho reduzido, peso leve, alta energia, bom desempenho e por não apresentar efeito de memória (PLICHTA et al., 1987; SCROSATI; GACHE, 2010).

Com relação à composição, as LIBS são constituídas por metais pesados, produtos químicos orgânicos e plásticos, em uma proporção de 5-20% de cobalto, 5-10% de níquel, 5-7% de lítio, 15% de produtos químicos orgânicos e 7% de plásticos, podendo variar

ligeiramente dependendo do fabricante (KANG et al., 2010; NAYAKA et al., 2016b). Todos esses materiais formam os 4 principais componentes das baterias: cátodo, ânodo, eletrólito e separador como ilustrado na Figura 3.1.

Figura 3.1-Diagrama esquemático do funcionamento de uma bateria recarregável de íons lítio



Fonte: Adaptada de BRAIN (2018)

O ânodo representa de 15 a 30% do peso total da bateria e é normalmente composto de uma lâmina de cobre que é revestida com uma camada de grafite (ZENG; LI, 2014). A capacidade da bateria é determinada pela quantidade de íons de lítio que podem ser armazenados no ânodo, utilizando um aglutinante inerte, normalmente o fluoreto de polivinilideno (PVF), para auxiliar a aderência junto ao cátodo (ZENG; LI; SINGH, 2014). Além do LiCoO₂ que é comumente utilizado como o material catódico ativo, existem vários outros óxidos, tais como: óxido de manganês de lítio (LMO), fosfato de ferro lítio (LFP), óxido de lítio-níquel-cobalto-alumínio (NCA) e óxido de níquel-manganês-cobalto (NMC) (BUSNARDO; PAULINO; AFONSO, 2007; CHAGNES; POSPIECH, 2013).

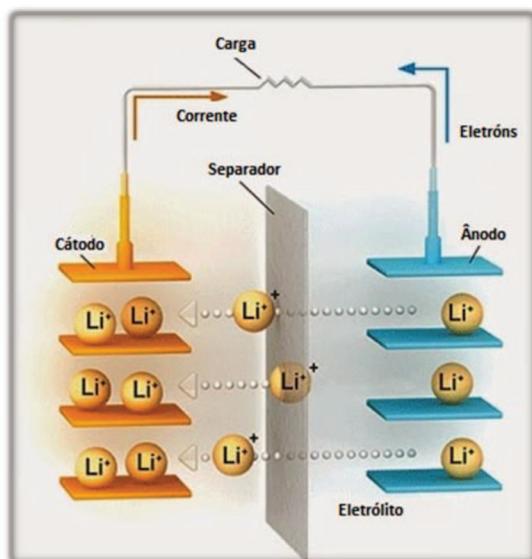
O separador é geralmente feito de polipropileno microporoso ou polietileno que permite a passagem de íons de lítio e contém um eletrólito de sal de lítio em um solvente durante o processo de carregamento/descarregamento (CHAGNES; POSPIECH, 2013; ZENG; LI; SINGH, 2014). Este componente tem a função de garantir a segurança da bateria e é utilizado para impedir o contato direto entre o cátodo e o ânodo, ou seja, que aconteça um curto-circuito, sendo permeável apenas aos íons de lítio. Os sais de lítio comumente utilizados incluem o hexafluorofosfato de lítio (LiPF₆), o perclorato de lítio (LiClO₄) e o hexafluoroarsenato de lítio

(LiAsF₆), e os solventes orgânicos etil-metilcarbonato, dimetilcarbonato, dietilcarbonato, propileno-carbonato e etileno-carbonato (NAN; HAN; ZUO., 2005; RIBIÈRE et al., 2012).

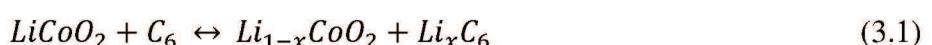
Existe uma grande variedade de eletrólitos com diferentes propriedades que determinam sua estabilidade e quanto bem eles conduzem os íons de lítio entre os eletrodos. O solvente orgânico é vital para aumentar a mobilidade dos íons de lítio e, portanto, um fator chave no desempenho da bateria. O solvente que contém o eletrólito geralmente tem alta permissividade e baixa viscosidade (ARAVINDAN et al., 2011). Gases tóxicos podem ser liberados do eletrólito e do solvente se forem expostos à água na atmosfera (NAN; HAN; ZUO., 2005; RIBIÈRE et al., 2012; SONOC; JESWIET; SOO, 2015).

Durante os processos de carga e descarga, ocorre a intercalação somente dos íons de lítio nas vacâncias existentes no ânodo e no cátodo (IDOTA, 1997). Na Figura 3.2 é possível observar que durante o processo de carga os íons de lítio presentes nas vacâncias do LiCoO₂ são deslocados para o ânodo de grafite litiado (LiC₆). Assim, a energia é armazenada nessas baterias pelo movimento de íons de lítio do cátodo para o ânodo (processo de carga da bateria) ou vice-versa (processo de descarga) de acordo com a Equação 3.1 (DORELLA; MANSUR, 2007). Dessa forma, não ocorre deposição de lítio metálico na superfície do material anódico durante o processo de carregamento da bateria, como ocorria nas baterias de lítio metálico (WHITTINGHAM, 2004), aumentando o tempo de utilização destas baterias.

Figura 3.2 - Esquema de funcionamento de uma bateria de íons lítio.



Fonte: Adaptada de BRAIN (2018)



Apesar das baterias de íons lítio apresentarem grandes avanços com relação às suas predecessoras, elas ainda são prejudiciais ao meio ambiente e à saúde, devido, principalmente, ao descarte incorreto e à falta de um tratamento adequado dos materiais presentes nessas baterias (REIDLER; GÜNTHER, 2002).

3.2 Importância ambiental, econômica e tecnológica da recuperação do lítio e cobalto

Os metais e solventes orgânicos que constituem as LIBs são tóxicos e, quando as baterias são descartadas no meio ambiente, este conteúdo químico tem potencial para se infiltrar no solo e em águas subterrâneas, representando uma ameaça à saúde humana e ao meio ambiente caso esses resíduos não sejam tratados adequadamente (KJELDSEN et al., 2002; DUBEY; TOWNSEND; SOLO-GABRIELE, 2010).

Os metais presentes nas baterias podem exibir diferentes graus de toxicidade para humanos, têm como alvo diferentes órgãos e possuem diferentes mecanismos de ação (TCHOUNWOU et al., 2012). Curiosamente, alguns desses metais (por exemplo, zinco, cobre, níquel) são essenciais ao metabolismo humano, devendo ser ingeridos em teores mínimos por meio de alimentos ou da água potável. No entanto, a partir de determinadas concentrações, estes e outros metais pesados passam a ser altamente tóxicos, trazendo graves prejuízos à comunidade aquática e às pessoas e animais que utilizam de águas contaminadas (BRASIL, 2006).

O lítio tem como alvo principal o sistema nervoso central, razão pela qual ele tem sido usado em doses baixas para tratar alguns distúrbios psicológicos, como o transtorno bipolar (ARAL; VECCHIO-SADUS, 2008). Normalmente, os seres humanos consomem cerca de 2 mg/dia de lítio a partir de alimentos e água potável (LÉONARD; HANTSON; GERBER, 1995). Contudo, com base em estudos com ratos, a partir de 526 mg/kg de compostos de lítio solúvel/peso corporal pode ser letal (ARAL; VECCHIO-SADUS, 2008).

O cobalto é outro elemento comum que pode ser liberado pelas LIBs. Enquanto o cobalto compõe a estrutura da vitamina B12 essencial, o cobalto livre pode gerar desde uma dermatite alérgica, náuseas ou diarreia até um câncer variando com a concentração e o tempo de exposição. Cobre, ferro e níquel têm sido implicados na geração de espécies reativas de oxigênio, que são conhecidas por causar danos no DNA e possível envelhecimento prematuro (MEHTA; TEMPLETON; O'BRIEN, 2006).

Ao interceptar, coletar e tratar adequadamente as baterias de íons de lítio antes que alcancem o ambiente subjacente e circundante, os recursos hídricos subterrâneos são

preservados, protegendo a saúde humana e reduzindo o ônus financeiro das instalações de tratamento de água necessárias para remover poluentes da água e atender aos padrões de concentração de poluentes (DUBEY; TOWNSEND; SOLO-GABRIELE, 2010).

Além da problemática ambiental, a produção das baterias de íons lítio possui um alto custo (WINSLOW; LAUX; TOWNSEND, 2018), relacionado principalmente ao material do cátodo, visto que há dificuldade de obtenção do lítio e do cobalto. Mais de 80% do lítio produzido hoje é extraído de salmouras e salinas. Neste processo, o cloreto de lítio é tratado com soda, resultando na precipitação do carbonato de lítio (Li_2CO_3). Em princípio, o carbonato de lítio também poderia ser produzido a partir da água do mar, mas devido à concentração muito menor, o processo é muito mais intensivo em energia e implica em um custo superior. O lítio restante produzido globalmente se origina de recursos de rochas duras, com custos de produção significativamente maiores em comparação com os lagos de salmoura e as salinas. O consumo de lítio por baterias aumentou significativamente nos últimos anos e continuará a crescer. No ano de 2002, por exemplo, as baterias eram responsáveis por apenas 8% do consumo global de lítio, enquanto em 2020 a previsão dessa participação é de aproximadamente 50% (DEWULF et al., 2010; WINSLOW; LAUX; TOWNSEND, 2018).

O cobalto é uma preocupação séria para a indústria de baterias de íons de lítio e já está qualificado como escasso, por várias razões: (1) O cobalto é um subproduto da extração de níquel e cobre. Como houve queda de preços destes metais, atingindo o seu valor mínimo em 2016, os investimentos nos depósitos se tornam cada vez menos interessante, e, consequentemente, reduziu a produção do cobalto, (2) A maior parte do cobalto hoje é minerado no Congo. No entanto, o país passa por uma série de conflitos referentes ao desrespeito aos direitos humanos e a trabalho infantil. (3) Ao todo, 75% das LIBs produzidas no mundo vêm da China, com expectativa futura de controle de 62% da produção mundial de Co, sendo que 90% do Co é importado do Congo, (4) Com as crescentes expectativas quanto ao desenvolvimento de carros elétricos utilizando as baterias de íons de lítio mais cobalto será necessário para suas baterias, que utilizam aproximadamente 15 Kg do metal. Nesse contexto, as dificuldades de oferta e a crescente demanda, faz com que o preço possa subir consideravelmente, dando mais poder aos donos das mineradoras (BERNARDO, 2017).

3.3 Política de reciclagem de baterias de íons de lítio no Brasil

Desde 30 de junho de 1999, a resolução do CONAMA nº 257, Conselho Nacional do Meio Ambiente, tornou obrigatório que revendedores e importadores de baterias, assim como serviço técnico autorizado, aceitem os produtos usados e os armazenem de maneira adequada, para serem posteriormente enviadas ao fabricante. Também é responsabilidade do fabricante conduzir pesquisas que auxiliem na redução do uso de componentes tóxicos (CONAMA, 1999).

O sistema de coleta de baterias esgotadas para posterior destinação ainda é um problema para a realidade dos processos de reciclagem no Brasil (BERNARDES; ESPINOSA; TENÓRIO, 2003). Contudo, o descarte de pilhas e baterias, é regulamentado pela Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) instituída pela Lei 12.305 de 2010, que estabelece que fabricantes, importadores, distribuidores e comerciantes são os principais responsáveis pela destinação correta destes dispositivos eletroquímicos. Da mesma forma que as resoluções criadas regulamentam as condições de uso e descarte, bem como as penalidades cabíveis para os infratores; também incentivam a reciclagem, o que se acredita ser uma alternativa plausível para reduzir os impactos ambientais (GOMES et al., 2014).

O SISNAMA, Sistema Nacional do Meio Ambiente, e outras organizações ambientais são responsáveis pela fiscalização da conformidade de tais resoluções. Qualquer outra organização ambiental competente pode adotar procedimentos adicionais referentes às atividades envolvidas no processo de logística reversa, como o controle, fiscalização e gerenciamento dos produtos (BOECHAT, 2015).

No Brasil, o processo de reciclagem de todos os tipos de baterias é realizado pela empresa SUZAQUIM, que aplica tanto técnicas de separação mecânica, quanto técnicas hidrometalúrgicas e pirometalúrgicos (SUZAQUIM, 2018)

3.4 Processos de Recuperação de Baterias de Íons de Lítio

As técnicas de recuperação de metais de baterias podem ser classificadas em quatro categorias. A primeira é o processamento mecânico, que é aplicado em todos os outros processos como um pré-tratamento para facilitar a reciclagem, concentrando a fração metálica e eliminando a necessidade de processos de purificação do material lixiviado (WANG; GAUSTAD; BABBITT, 2016).

O segundo método é o pirometalúrgico, único aplicado industrialmente para recuperação de metais de LIBs e envolve tratamento térmico para decompor os componentes das baterias. Entretanto, possui um elevado gasto energético e grande geração de efluentes gasosos (GAINES et al., 2011).

A hidrometalurgia é o terceiro processo e consiste na solubilização de metais através da lixiviação do material em meio ácido ou alcalino que é, posteriormente, purificado para extração dos metais (ZOU et al., 2013).

E a quarta técnica é a biohidrometalurgia, que consiste na solubilização de metais pela utilização de microrganismos específicos que utilizam substratos inorgânicos como fonte de energia, possui baixo custo de implementação e precisa de poucos requisitos industriais.

Além disso, muitas vezes, uma combinação dessas técnicas é usada em sucessão para a recuperação de diferentes materiais. A aplicação do processo híbrido na recuperação de metais pesados como Li e Co é pouco investigado na literatura. A aplicação desse método visa combinar as vantagens dos processos utilizados e diminuir as suas desvantagens (ELLIS; MIRZA, 2016).

3.4.1 Processo mecânico

Diferente de outras baterias, as LIBs podem causar explosões durante o processo de reciclagem, pois há uma oxidação abrupta quando o metal de lítio produzido da sobrecarga da bateria gera um choque mecânico na exposição ao ar. Desse modo, faz-se necessário, uma separação mecânica, realizada antes da recuperação dos metais pesados que compõem as baterias de íons de lítio. Além disso, esse processo é vantajoso, pois reduz o volume de resíduos e separa e enriquece os componentes das baterias (CONTESTABILE; PANERO; SCROSATI, 1999).

O processo mecânico consiste de diferentes etapas como a redução e homogeneização do tamanho de partículas e na separação dos diferentes componentes das baterias de acordo com suas propriedades físicas, como: tamanho da partícula, densidade, condutividade, comportamento magnético, dentre outros (WANG; GAUSTAD; BABBITT, 2016).

Em um primeiro momento, há o desmantelamento que possibilita a separação dos diferentes materiais que compõem as baterias, tais como plástico, cerâmica, papel, metais, baterias e a remoção de produtos perigosos. Em seguida, os componentes podem ser

reutilizados ou encaminhados ao processo de reciclagem (ESPINOSA; TOUMA; TENÓRIO, 2001).

Depois dessa separação, ocorre a cominuição ou moagem, que é uma das primeiras etapas aplicada para recuperação dos metais, e é utilizada para redução e homogeneização do tamanho do material. Os mecanismos de moagem podem variar de acordo com o tipo de moinho utilizado. O moinho de martelo utiliza a pressão e impacto para redução do tamanho das amostras, no de bolas, a moagem ocorre por abrasão e no de facas, a redução do tamanho é resultado do corte (CUI; FORSSBERG, 2004; BERNARDES; ESPINOSA; TENÓRIO, 2004).

A fim de auxiliar no processo de cominação, pode-se também, aplicar temperaturas muito baixas com o auxílio de nitrogênio líquido para que haja congelamento dos resíduos. Desta forma, os materiais se tornam mais frágeis, fazendo com que haja um aumento na eficiência dos moinhos (ANDERY, 1980; LUZ; POSSA; ALMEIDA, 1998).

A concentração dos materiais representa a última etapa do processamento mecânico, sendo utilizadas as separações granulométrica, magnética e eletrostática. A classificação granulométrica tem como objetivo a separação de um material em duas ou mais frações, com partículas de tamanhos distintos. No peneiramento, existe uma separação, segundo o tamanho geométrico das partículas, enquanto que na classificação, a separação é realizada tomando-se como base a velocidade que os grãos atravessam um meio fluido (TRAJANO, 1966).

A concentração dos materiais através da separação magnética é um método muito utilizado. Nesse processo, a separação ocorre através da resposta do material a um campo magnético (chamada de susceptibilidade magnética) e são classificados em três tipos: (1) ferromagnético, em que os materiais são atraídos fortemente pelo campo magnético, (2) paramagnético, no qual os materiais são atraídos fracamente pelo campo e (3) diamagnéticos, em que os materiais são repelidos pelo campo magnético (LUZ; POSSA; ALMEIDA, 1998).

Na separação eletrostática, há a concentração de diversos tipos de materiais baseada nas diferenças de suas propriedades, como: condutividade elétrica, suscetibilidade em adquirir cargas elétricas superficiais, forma geométrica e densidade. A separação nesse caso ocorre através de dois fatores elétricos que são: um campo elétrico de intensidade suficiente para desviar a partícula eletricamente carregada e pela carga elétrica superficial das partículas, ou polarização induzida, que lhes permitem sofrer a influência do campo elétrico (VEIT, 2005).

3.4.2 Pirometalurgia

Este processo normalmente inclui duas etapas. Na primeira, as LIBs usadas são expostas a uma baixa temperatura em um forno para reduzir o risco de explosão e evaporar o eletrólito. Na segunda, todos os polímeros e solventes são queimados a uma temperatura mais alta, e então a partir da queima dos eletrodos há a formação de escória, composta por alumínio, manganês e lítio, usada para materiais de construção, e uma liga metálica constituída de cobalto, níquel, cobre e ferro, que é frequentemente submetido a processamento adicional como processos de hidrometalurgia. (MESHRAM; PANDEY; MANKHAND, 2015b; XIAO; LI; XU, 2017).

Neste método, muitas baterias usadas podem ser tratadas ao mesmo tempo, contribuindo significativamente para os custos de produção em larga escala e simplificando a operação. Atualmente, é o processo mais amplamente utilizado na indústria. Contudo, o elevado consumo de energia devido à operação em alta temperatura e a utilização de equipamentos extras para controle dos gases tóxicos gerados torna esse processo muito caro. Além disso, metais de alto valor comercial como o lítio e o manganês não podem ser reciclados porque estão presos na escória de materiais complexos (SUM, 1991; MESHRAM; PANDEY; MANKHAND, 2015b).

3.4.3 Hidrometalurgia (Lixiviação)

A hidrometalurgia ou lixiviação é o conjunto de operações e processos realizados em meio aquoso, com o intuito de extrair os metais a partir de minérios, resíduos industriais e lixos eletrônicos, como as baterias de celulares. Em comparação aos processos pirometalúrgicos é uma prática recente. A recuperação de metais por essa via consiste basicamente em uma lixiviação ácida ou básica, para posterior extração. (BERNARDES; ESPINOSA; TENÓRIO, 2004).

Os agentes lixiviantes normalmente usados no processo de hidrometalurgia são os ácidos inorgânicos e os ácidos orgânicos. Na natureza, esse processo ocorre lentamente e as concentrações dos metais lixiviados é baixa. Contudo, essa taxa de dissolução dos metais, pode ser acelerada através da variação de alguns fatores que influenciam no processo hidrometalúrgico, como o tempo, a temperatura, a razão sólido/líquido (razão de bateria e lixiviante ou densidade de polpa), agitação, presença e concentração de agente redutor, tipo e concentração de agente lixiviente, dentre outros (ORDOÑEZ; GAGO; GIRARD, 2016; CHEN

et al., 2017). Porém, esse tipo de recuperação, quando empregados reagentes inorgânicos, gera efluentes tóxicos e resíduos sólidos (ZHENG et al., 2018).

Apesar das desvantagens, o processo hidrometalúrgico, aplicado à recuperação de metais em baterias de íons de lítio em comparação ao pirometalúrgico, possui alta seletividade na separação de metais, menor poluição atmosférica, e menores custos, pois há um baixo consumo de energia e possibilidade de reciclagem dos reagentes químicos. A aplicação deste método para a recuperação e reciclagem vem sendo bastante pesquisado devido à presença de metais com alto valor agregado nas baterias (ZHANG et al., 1998; PIETRELLI et al., 2005).

Os ácidos inorgânicos: ácido clorídrico (HCl) (JOULIÉ; LAUCORNET; BILLY, 2014; BARIK; PRABAHRAN; KUMAR, 2017), ácido sulfúrico (H_2SO_4) (NAN; HAN; ZUO, 2005; FERREIRA et al., 2009; CHEN et al., 2011) ácido nítrico (HNO_3) e ácido fosfórico (H_3PO_4) (LEE; RHEE, 2002; CHEN et al., 2017) são geralmente usados como agentes lixiviantes na recuperação de metais a partir de baterias.

A partir do uso de agentes redutores como o peróxido de hidrogênio (LI et al., 2013; ZHANG et al., 2018), glicose (GRANATA et al., 2016; PAGNANELLI et al., 2016; MESHRAM et al., 2016; CHEN et al., 2016; CHEN et al., 2018), sacarose (CHEN et al., 2018), bissulfito de sódio (MESHRAM et al., 2015) e ácido ascórbico (NAYAKA et al., 2016; PENG et al., 2018) alguns autores obtiveram resultados superiores na lixiviação uma vez que metais como Co^{3+} ou Mn^{3+} são reduzidos para Co^{2+} ou Mn^{2+} dissolvendo-os de forma mais eficiente no meio (RHEE, 2002; KANG et al., 2010; LEE; PAGNANELLI et al., 2014).

Li et al. (2010) avaliaram a recuperação de cobalto e lítio de baterias de íons de lítio aplicando ácido cítrico como lixiviante e o peróxido de hidrogênio como agente redutor obtendo uma recuperação de 90% de Co e 100% Li com 1,5M do ácido e 1% (v/v) do agente e uma densidade de polpa de 20 g/L sob agitação a 300 rpm em 30 min a 90 °C.

Nayaka et al. (2016b) aplicaram a hidrometalurgia para recuperar Co de baterias de íon de lítio usadas utilizando glicina como agente redutor e ácido ascórbico como lixiviante. Uma condição para alcançar uma recuperação de mais de 95% de Co foi obtida experimentalmente variando as concentrações de lixiviado e o tempo da reação. A lixiviação com 0,5 M de glicina, 0,02 M de ácido ascórbico e 0,2 g de resíduo por 360 min e a 80 °C.

He et al. (2017) testaram um novo processo envolvendo lixiviação de Mn, Li, Co e Ni, de LIBs, utilizando de ácido L-tartárico ($C_4H_6O_6$) como lixiviante e peróxido de hidrogênio como agente redutor. Em condições de operação ótimas (4% (v/v) de H_2O_2 , 2M $C_4H_6O_6$, 17

g/L de densidade da polpa, a 70 °C e 30 min), as eficiências de lixiviação foram de 99,31% para Mn, 99,07% para Li, 98,64% para Co e 99,31% para Ni.

ZHANG et al. (2018) utilizaram semente de uva como agente redutor para a lixiviação de LiCoO₂ de LIBs usadas e obteve cerca de 92% e 99% na recuperação de Co e Li respectivamente, utilizando 0,6g/g de semente de uva, 1,5mol/L de ácido málico por 180 min e 80 °C, uma razão sólido/líquido de 20 g/L.

3.4.4 Biohidrometalurgia (Biolixiviação)

A biolixiviação, em geral, é um processo descrito como a dissolução de metais de suas fontes minerais por microrganismos que ocorrem naturalmente ou a conversão de metais sólidos em suas formas solúveis pelo uso de microrganismos, facilitando sua extração (BRIERLY, 1978; LUNDGREN; MALOUF, 1983).

A biohidrometalurgia é um processo simples e de baixo custo e ecologicamente correto (entre 1/3 a 1/2 do custo dos procedimentos convencionais) (BOSECKER, 2001; WATLING, 2006; LEE; PANDEY, 2012; KULSHRESHTHA et al., 2014; MOTAGHED et al., 2014).

Assim a implementação desse processo mostra-se promissora, consistindo em um método mais limpo do que o processo pirometalúrgico mais utilizado convencionalmente e ao hidrometalúrgico (WATLING, 2006; PRADHAM et al., 2008) visto que gera menos resíduos tóxicos (RAWLINGS, 1997), necessita de baixa demanda energética (BRIERLEY; BRIERLEY, 1999), mostra-se eficiente na recuperação de metais em baixo teor (BOSECKER, 1997) e gera economia pelo custo reduzido dos insumos utilizados e da implementação e manutenção do processo (BEVILAQUA et al., 2002).

Contudo, em comparação com os outros métodos, a biolixiviação possui algumas desvantagens que incluem sua cinética lenta, a baixa razão sólido/líquido do resíduo a ser tratado e o baixo rendimento de recuperação (KARAVAIKO et al., 1980). A fim de suprir essas desvantagens, desde a década de 1940, muitos pesquisadores têm contribuído para o esclarecimento dos mecanismos de microrganismos específicos utilizados na biossolubilização de óxidos e sulfetos metálicos (MISHRA et al., 2018).

Como a biolixiviação é a técnica mais recentemente pesquisada para aplicação de recuperação de metais, mais especificamente, de baterias de íons de lítio e representa maior parte deste trabalho, a seguir será apresentada uma abordagem mais detalhada dos parâmetros e aspectos envolvidos neste processo.

3.4.4.1 Histórico da biohidrometalurgia

Como em muitos processos biotecnológicos, a biolixiviação pode ter sido aplicada desde 100 - 200 anos A.C. ou, até antes, empregada pelos chineses na biolixiviação de cobre a partir do minério e a precipitação do metal na solução resultante. Além disso, a bioxidação de minérios de sulfeto para a recuperação de cobre tem sido praticada há séculos na Suécia, Alemanha e Espanha (GU et al., 2018).

Contudo, as minas do Rio Tinto no sudoeste da Espanha são consideradas o berço da biolixiviação, onde houve exploração de minérios desde os tempos pré-romanos por conter metais como cobre, ouro e prata (GU et al., 2018). O uso de biohidrometalurgia nessas minas foi iniciado na década de 1890, mas a ação de microrganismos foi confirmada posteriormente. Pilhas de minério de cobre de baixo teor foram formados e deixados de 1 a 3 anos para decomposição natural. Embora as operações de lixiviação industrial tenham sido conduzidas nas Minas do Rio Tinto por várias décadas, a contribuição das bactérias para a solubilização de metais não foi confirmada até 1961, quando o *Acidithiobacillus ferrooxidans* foi descoberto nos lixiviados, sendo o primeiro microrganismo isolado e estudado capaz de promover a solubilização do cobre presente em minérios (JOHNSON, 2001; MISHRA et al., 2005).

Assim, alguns países, atualmente, dentre eles Chile, Peru, Austrália, China, Espanha e EUA, estão utilizando a biolixiviação como forma de reduzir as perdas durante a extração de minérios, como o cobre, que pode ser encontrado naturalmente na forma de sulfeto sendo utilizados por microrganismos como fonte de energia (BARRETT, 1993; FRANCISCO JR; BEVILAQUA; GARCIA JR, 2007).

3.4.4.2 Os microrganismos utilizados e os avanços na biohidrometalurgia

Com o desenvolvimento de novas tecnologias na área, outros microrganismos além do *Acidithiobacillus ferrooxidans* foram descobertos e estudados para aplicação no processo de biolixiviação, como as bactérias quimiolitotróficas pertencentes ao gênero *Bacillus*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* e *Sulfolobus sp* (MISHRA; RHEE, 2014), e os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, sendo os mais estudados *Aspergillus niger* e *Penicillium simplicissimum*, são os fungos que mais solubilizam metais (KREBS et al., 1997; KIM et al., 2016; RASOULNIA; MOUSAVI, 2016; VAKILCHAP; MOUSAVI; SHOJAOSADATI, 2016). Quase todos os estudos apresentados até o momento sobre

biohidrometalurgia tratam de microrganismos quimioautotróficos, enquanto os mecanismos de lixiviação de microrganismos heterotróficos têm sido pouco explorados (BOSECKER, 1997).

A) *Acidithiobacillus*

Dentre as bactérias acidófilas, nos estudos destaca-se o uso do gênero *Acidithiobacillus*. Essas bactérias são Gram-negativas, em forma de bastonetes, que não esporulam e crescem majoritariamente sob condições aeróbicas. Esses microrganismos obtêm energia oxidando compostos de enxofre, como enxofre elementar, sulfetos e tiosulfato, que são doadores de elétrons reduzidos ou parcialmente reduzidos (WIDDEL et al. 1993; BENZ; BRUNE; SCHINK, 1998).

Os *Acidithiobacillus* são espécies quimiolitotróficas que usam CO₂ do ar como fonte de carbono, não precisando de um suplemento de carbono orgânico em operações de biolixiviação. *Acidithiobacillus ferrooxidans* produzem ácido sulfúrico reduzindo o pH do meio para valores extremamente ácidos (HOQUE; PHILIP, 2011).

O *A. ferrooxidans* é a espécie mais importante na biolixiviação, pois, além de extrair energia oxidando compostos reduzidos de enxofre, o Fe²⁺ presente nas baterias é usado como fonte de energia. Na ausência de oxigênio, é capaz de crescer em compostos de enxofre inorgânicos reduzidos usando o íon férrico como um acceptor de elétrons alternativo (HOQUE; PHILIP, 2011).

O *Acidithiobacillus thiooxidans* é filogeneticamente próximo do *A. ferrooxidans*, metabolizando o enxofre como método de obtenção de energia, contudo é incapaz de oxidar ferro (KELLY; WOOD, 2000). Além disso, também é um microrganismo mesófilo normalmente encontrado no solo, tubos de esgoto e nas paredes de cavernas, onde costumam causar corrosão (JENSEN; WEBB, 1995).

Com relação à biolixiviação de resíduo eletrônico na literatura as bactérias acidófilas são amplamente estudadas, sejam em cultura pura (MISHRA et al., 2008; BAJESTANI; MOUSAVI; SHOJAOSADATI, 2014), co-cultura ou consórcio microbiano (XIN et al., 2009; HEYDARIAN et al., 2018), apresentando ou não etapa de adaptação que pode compreender longos períodos de tempo (XIN et al., 2009; NIU et al., 2014). Os resultados mostram altos índices de recuperação como reportados nos trabalhos de Zeng et al., (2012), Xin et al. (2016) e Heydarian et al. (2018) apresentados a seguir.

Zeng et al., (2012) desenvolveram um processo de biolixiviação catalisado por cobre para reciclar o cobalto das baterias de íon-lítio usadas. Investigou-se a influência dos íons cobre na biolixiviação de *LiCoO₂* por *Acidithiobacillus ferrooxidans* e conseguiu recuperar praticamente todo o cobalto (99,9%) após ser biolixiviado por 6 dias na presença de 0,75 g/L de íons Cu, enquanto apenas 43,1% de Co foi obtido após 10 dias sem íons cobre.

Xin et al. (2016) avaliaram a recuperação de metais valiosos como Li, Co, Mn e Ni de baterias de íons de lítio encontrados em veículos elétricos por biolixiviação utilizando uma densidade de polpa de 1%. Os resultados mostraram que a eficiência máxima de extração de Li ocorreu com *Acidithiobacillus thiooxidans*, enquanto que quando utilizando em sistema de cultura mista com o *Leptospirillum ferriphilum* foi melhor para a dissolução de Co, Ni e Mn. Além disso, observou-se que um controle no pH favoreceu o crescimento celular, alcançando recuperações de mais de 95%, para Co e Ni.

Heydarian et al. (2018) estudaram a biolixiviação de LIBs sob duas etapas, com base nas atividades bacterianas de uma mistura de *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans*. Primeiro, obteve-se a melhor concentração de inóculo das duas bactérias acidófilas para a co-cultura. Em seguida, foi realizada uma adaptação do inóculo previamente à biolixiviação, com aumento gradual da razão sólido-líquido que atingiu 40 g/L. A recuperação máxima dos metais foi de cerca de 99,2% para Li, 50,4% para Co e 89,4% para Ni sob condições ótimas, usando 40 g/L de densidade de polpa.

B) Bactérias e fungos heterotróficos

Bactérias e fungos heterotróficos utilizam compostos orgânicos como fontes de energia para manutenção de seu metabolismo. A lixiviação de metais por microrganismos heterotróficos geralmente envolve um processo indireto com a produção microbiana de ácidos orgânicos, aminoácidos e outros metabólitos (BOSECKER, 1997).

Em comparação com as bactérias, os fungos têm mais capacidade de tolerar materiais tóxicos, com uma fase de retardamento mais curta, uma taxa de lixiviação mais rápida e crescem em meios alcalinos e ácidos. Além disso, o mecanismo de biossolubilização dos metais se dá a partir dos metabólitos excretados (HOREH et al., 2016). Em um menor número de trabalhos sobre biolixiviação do que as acidófilas, seguem os fungos, empregados não somente em lixos eletrônicos, mas também em catalisadores usados como nos trabalhos de Amitri et al (2011), Amiri; Mousavi; Yaghmaei (2011) e Horeh et al. (2016).

Amitri et al. (2011) e Amiri; Mousavi; Yaghmaei (2011) apresentaram o primeiro trabalho de biolixiviação de tungstênio pelas linhagens de *P. simplicissimum* e *A. niger*, e mostraram o alto potencial de lixiviação fúngica na recuperação deste metal pesado. Neste estudo a recuperação do W utilizando *P. simplicissimum* foi superior (97.6% de Mo, 45.7% de Ni e 14.3% Al) em comparação ao obtido pelo *A. niger* (90.9% de Mo, 65.8% de Ni e 14.2% de Al).

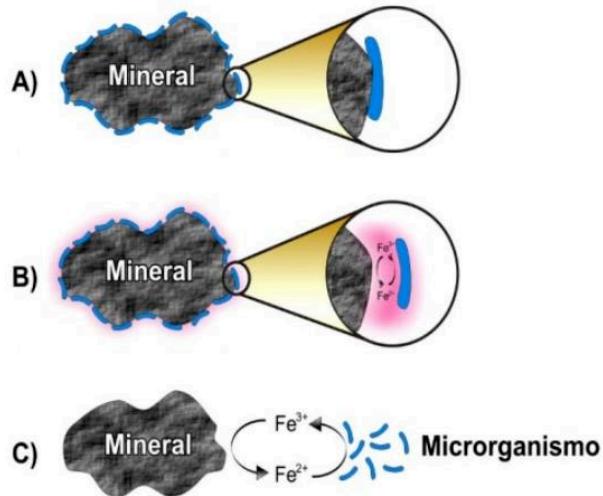
Enquanto isso, Horeh et al. (2016) avaliaram uma rota biohidrometalúrgica baseada na atividade fúngica do *Aspergillus niger* para recuperação de metais como Li, Mn, Al, Co e Ni de LIBs em várias condições de bioxiviação. Obteve-se uma eficiência máxima de recuperação de 100% para Cu, 95% para Li, 70% para Mn, 65% para Al, 45% para Co e 38% para Ni. Além disso, o estudo indicou que o ácido cítrico, em comparação com outros ácidos orgânicos detectados (ácido glucônico, oxálico e málico), teve um papel importante na eficácia da biolixiviação usando *A. niger*.

Na literatura, não há relatos do uso de cultura mista de microrganismos heterotróficos na biolixiviação de resíduos eletrônicos. Desse modo, a avaliação da aplicação dos consórcios na biolixiviação de metais, apresenta potencial, pois além da facilidade de operação para implementação, nesse tipo de cultura há a produção de ácidos orgânicos, como láctico, butírico, propiônico e componentes com ao menos dois grupos hidrofílicos reativos. Este trabalho investiga o potencial do consórcio microbiano na recuperação de metais das LIBs.

3.4.4.3 Mecanismos de biolixiviação

A maioria das bactérias e fungos que ocorrem naturalmente realizam numerosas reações fisiologicamente importantes que permitem seu crescimento e reprodução, apresentando diversos mecanismos, podem ser utilizadas para solubilização de metais, como é expresso na Figura 3.3, podendo ser classificados como mecanismo por contato direto ou indireto, que são restritos às bactérias acidófilas, e o mecanismo indireto (OLIVEIRA et al., 2010).

Figura 3.3 - Mecanismos de ação da bactéria na biolixiviação

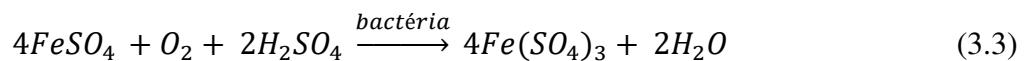


A) Mecanismo de contato direto; B) Mecanismo de contato indireto; C) Mecanismo indireto
(Fonte: Adaptada de Oliveira *et al.* (2010))

A) Mecanismo de contato direto

O mecanismo de contato direto é realizado pelas bactérias acidófilas e ocorre quando o microrganismo adere à superfície do sulfeto durante a dissolução oxidativa do mineral, mediada por enzimas que atuam diretamente em sua estrutura cristalina. Nesse processo, a bactéria obtém energia da troca de elétrons entre o elemento oxidado (Fe^{2+} ou S) e o oxidante (O_2). Os elétrons da oxidação são transportados através de proteínas na membrana das células. A transferência eletrônica fornece energia que é, então, associada à formação de trifosfato adenosina (ATP), responsável pela circulação de energia da célula (TRIBUTSCH, 2001).

Um exemplo deste processo é a oxidação da pirita em $Fe_2(SO_4)_3$ pelo *A. ferrooxidans* de acordo com as reações (Equações 3.2 e 3.3) (MISHRA *et al.*, 2005; SCHMIDT; SCHAECHTER, 2012; RASTEGAR *et al.*, 2016).



A oxidação direta da pirita pode ser explicada também pela reação geral (Equação 3.4).



Além disso, os seguintes sulfetos metálicos não ferrosos podem ser oxidados por *A. ferroxidans* pelo mecanismo de contato direto: covelita (CuS), calcocita (Cu₂S), esfalerita (ZnS), galena (PbS), molibdenita (MoS₂), dentre outros. Portanto, a lixiviação bacteriana direta pode ser descrita de acordo com a seguinte reação, em que o Me é o sulfureto do metal (Equação 3.5) (BOSECKER, 1997).



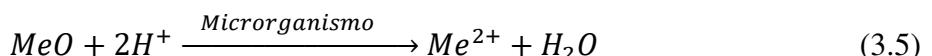
B) Mecanismo de contato indireto

No mecanismo de contato indireto, uma substância exopolimérica é secretada pelas bactérias acidófilas sendo importante na dissolução do minério já que complexa-se ao ferro, conferindo carga positiva à célula, estabelecendo, assim, uma atração eletrostática entre o micro-organismo e a superfície carregada negativamente de alguns minerais (CRUNDWELL, 2003). Apesar da ausência de contato direto, a dissolução é bastante eficiente, visto que a substância exopolimérica fornece um ambiente ideal para o funcionamento das enzimas e a biooxidação (HUGUES et al., 2008).

C) Mecanismo indireto

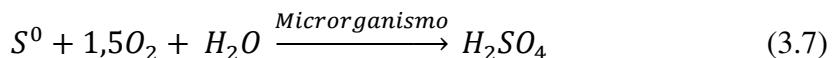
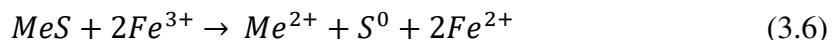
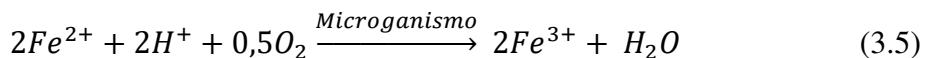
Nesse mecanismo de biolixiviação não é necessário contato físico entre sólidos e os microrganismos. A solubilização de metais acontece a partir de sólidos insolúveis excretados por bactérias e fungos e baseiam-se em três métodos: Secreção de ácidos orgânicos e inorgânicos (formação de prótons), reações redox e secreção de agentes complexantes (BOSECKER, 1997).

No processo de formação de prótons, alguns exemplos incluem a produção de ácido cítrico ou ácido glucônico por *A. niger* e *P. simplicissimum*, e ácido sulfúrico por *Acidithiobacillus*, no qual a geração de ácido é uma reação protônica que enfraquece o vínculo de íons metálicos solubilizando-os, como demonstrado pela reação (Equação 3.5), em que o Me é o óxido de metal.



Os ácidos orgânicos, produzidos pelos microrganismos como oxálico, cítrico succínico, também têm sua ação no mecanismo de recuperação de metal através de complexação para formar complexos metálicos solúveis (BOSECKER, 1997).

E por fim, nas reações de redox exclusivo das acidófilas, há formação de Fe^{3+} da oxidação de Fe^{2+} (MISHRA et al., 2005; RASTEGAR et al., 2016).



Como pode ser observado nas reações (Equação 3.5, 3.6 e 3.7), ao oxidar o íon ferroso (Fe^{2+}) para obtenção de energia, o microrganismo aumenta a concentração de Fe^{3+} no meio. A presença deste agente oxidante vai aumentar a taxa de lixiviação de sulfetos e outros materiais passíveis de serem oxidados, restabelecendo o íon Fe^{2+} (que pode ser utilizado novamente pelo microrganismo) com liberação de metal livre (Me^{2+}) e enxofre (S^0). Que pode ser oxidado por ação microbiana produzindo ácido sulfúrico, essencial para manutenção do pH ácido do meio (McGORAN; DUNCAN; WALDEN, 1969).

3.4.4.4 Parâmetros que afetam a biolixiviação

Existem vários parâmetros que influenciam o desempenho da biossolubilização de metais, sendo necessária a potencialização de várias condições operacionais.

A) Potencial hidrogeniônico (pH)

Um pH apropriado do meio de cultura pode melhorar as atividades dos microrganismos na biolixiviação, a solubilização de metais e a estabilidade de íons metálicos na fase líquida (ASGHARI; MOUSAVI, 2014; YU et al., 2014; FONTI; DELL'ANNO; BEOLCHINI, 2016). Para a biolixiviação de um sulfeto metálico por *A. ferrooxidans* e *A. thiooxidans*, o pH na faixa de 2 a 2,5 foi determinado como valor ótimo, pois em valores superiores, a taxa de biolixiviação diminuiu devido à concentração decrescente de Fe^{3+} como resultado de sua precipitação em jarosita e à fixação de bactérias nesta, levando à diminuição

do desempenho. Para o *Penicillium*, a faixa ótima de pH para o crescimento ampla, entre 2 e 8 (ASGHARI; MOUSAVI, 2014; FONTI; DELL'ANNO; BEOLCHINI, 2016).

Alguns estudos controlaram o pH do meio de cultura. Desta forma, a variação do pH devido aos processos de biolixiviação não foi avaliada corretamente. Em geral, a recuperação de metais em um processo de biolixiviação representa a soma de biolixiviação mais lixiviação química devido ao baixo pH inicial no meio (FONTI; DELL'ANNO; BEOLCHINI, 2016).

B) Oxigênio e dióxido de carbono

O suprimento de O₂ dissolvido na biolixiviação provém da aeração, agitação ou vibração e tem um impacto fundamental nesse processo (GLEISNER; HERBERT; KOCKUM, 2006). Sob limitação de oxigênio, por exemplo, as taxas de reações de oxidação de S⁰ e Fe²⁺ diminuem, resultando em um atraso na produção de ácido sulfúrico e na solubilização do metal. Além das condições aeróbicas para a oxidação do enxofre, alguns microrganismos também são capazes de utilizar Fe³⁺ como oxidante na respiração anaeróbica quando as células são privadas de oxigênio. A redução de Fe³⁺ regenera o Fe²⁺ que é utilizado pelas células aeróbias com acesso ao oxigênio dentro da mesma estrutura de biofilme (SCHMIDT; SCHAECHTER, 2012).

Além do O₂, o CO₂ é extremamente importante porque fornece os requisitos de carbono para o crescimento de bactérias autotróficas. No entanto, o efeito da suplementação do dióxido de carbono no crescimento microbiano é ignorado em muitos casos, porque o CO₂ dissolvido é mensurar do que o O₂ (BOSECKER, 1997; DE KOCK; BARNARD; DU PLESSIS, 2004; FONTI; DELL'ANNO; BEOLCHINI, 2016).

C) Temperatura

A temperatura ideal para ter atividades metabólicas altas de microrganismos mesófilos na biolixiviação é de cerca de 30 a 35 ° C. Em uma temperatura mais alta entre 50 e 80 ° C, deve-se empregar bactérias termofílicas. Como os processos de solubilização de óxido metálico e sulfeto de metal são exotérmicos, o calor pode se acumular o que aumenta a temperatura do meio de cultura indesejavelmente e, portanto, deve ser controlada (BOSECKER, 1997; PRADHAN et al., 2008; FONTI; DELL'ANNO; BEOLCHINI, 2016).

D) Tamanho da partícula

O tamanho de partícula de resíduos sólidos no meio de biolixiviação é outro fator importante na solubilização de metais. Uma maior área de superfície de contato pode acelerar a taxa de reação da dissolução. Um tamanho de partícula menor que 45 µm é geralmente preferido. No entanto, deve-se notar que, às vezes, um tamanho de partícula muito pequeno pode danificar a estrutura das células fúngicas nas comunidades microbianas de biolixiviação e resulta em uma menor biomassa, levando a uma redução na eficiência de biolixiviação (ISLAM; TING, 2009; ASGHARI; MOUSAVI, 2014).

E) Densidade de polpa

A densidade de polpa (isto é, a razão entre a massa sólida para volume líquido) é um dos fatores mais importantes na biolixiviação. Em geral, a eficiência de biolixiviação diminui quando a densidade da polpa aumenta, devido a toxicidade do meio com a presença de metais pesados, que inibem as atividades metabólicas dos microrganismos (PRADHAN et al., 2010; ASGHARI; MOUSAVI, 2014).

Dos parâmetros acima descritos, os mais investigados são densidade de polpa, tamanho de partícula, tipo de microrganismo, tipo de lixiviante.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Material

4.1.1 Baterias de íons de lítio

As baterias de íons de lítio (LIBs) de celulares usadas empregadas neste estudo foram coletadas no Laboratório de Resíduos Químicos (LRQ), situado no Bloco 5J do Campus Santa Mônica da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Todas as baterias foram da marca *Samsung®*.

r

4.1.2 Microrganismos

O inóculo do consórcio microbiano empregado nos ensaios de produção de meio lixiviante e nos ensaios de biolixiviação foi obtido a partir do efluente de um reator anaeróbio utilizado em projetos de pesquisas desenvolvidos paralelamente no NUCBIO/FEQ (MACHADO, 2016).

As bactérias acidófilas, do gênero *Acidithiobacillus*, usadas em ensaios de biolixiviação, foram doadas pela Professora Doutora Denise Bevilaqua do Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química (Laboratório de Biohidrometalurgia) da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"- Campus Araraquara/SP.

O fungo *Penicillium oxalicum* empregado nos ensaios de biolixiviação, foi gentilmente doado pela Fundação Oswaldo Cruz (ATCC 24784).

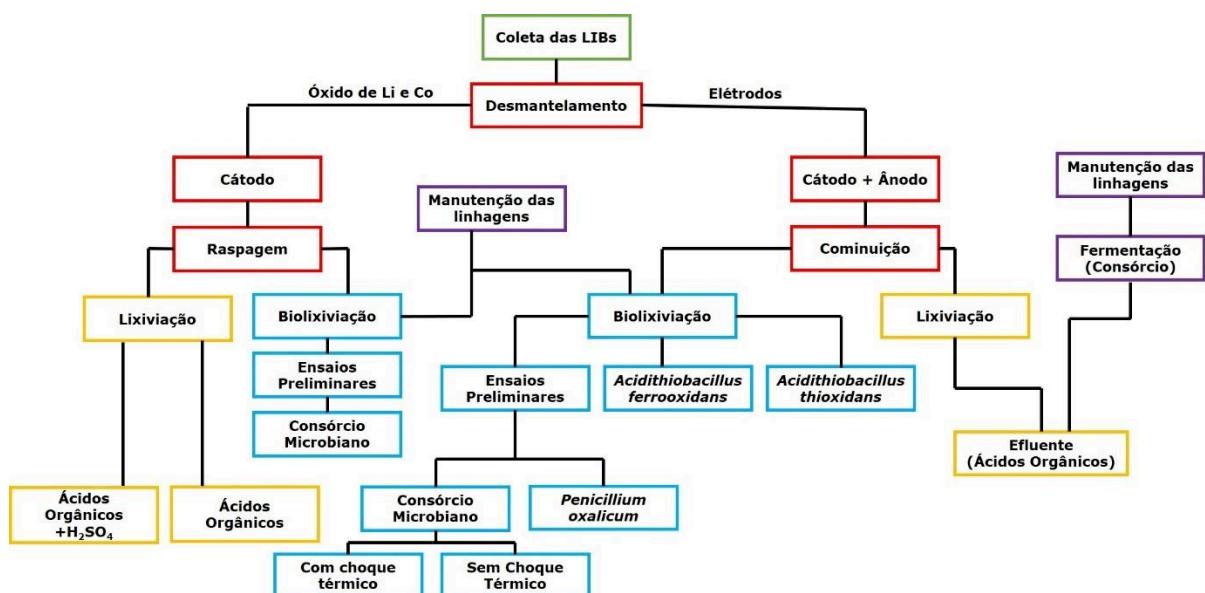
4.1.3 Reagentes

O permeado de soro de leite em pó usado como fonte de carbono nos ensaios, para manutenção do consórcio microbiano e como agente redutor nos testes de lixiviação, foi adquirido da empresa Sooro Concentrado Indústria de Produtos Lácteos Ltda, que foi composto principalmente por lactose (92,97%) e proteína (1,42%) (ROMÃO et al, 2014). Todos os demais reagentes foram de grau analítico. Todas as soluções foram preparadas em água deionizada.

4.2 Metodologia Experimental

Neste estudo foram investigados dois processos para a recuperação dos metais de LIBs, lixiviação e biolixiviação sendo que, em cada um deles, foram abordadas diferentes condições. Portanto, para uma maior compreensão, apresenta-se o esquema das etapas realizadas na Figura 4.1.

Figura 4.1 - Fluxograma dos ensaios de lixiviação e biolixiviação para recuperação de Co e Li de baterias de íon-lítio.



4.2.1 Manutenção das linhagens microbianas

4.2.1.1 Consórcio microbiano

O lodo anaeróbico coletado consistiu de um consórcio microbiano adaptado a um meio sintético com composição apresentada na Tabela 4. 1. Para manter o sistema anaeróbico, utilizou-se a metodologia empregada por Romão et al. (2014) e borbulhou-se nitrogênio, por 5 minutos, após a substituição do meio para retirada do oxigênio dissolvido.

Tabela 4. 1 - Composição do meio sintético para ensaio fermentativo

Reagente	Concentração (g/L)
KH ₂ PO ₄	3
K ₂ HPO ₄	7
MgSO ₄	1
(NH ₄) ₂ SO ₄	1
Extrato de levedura	3
Extrato de carne	1
Lactose*	20

*Proveniente do permeado do soro do leite em pó.

4.2.1.2 *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans*

As culturas foram cultivadas em meio T&K e meio 9K, respectivamente na Tabela 4.2 e Tabela 4.3.

Tabela 4. 2 - Composição meio T&K para manutenção do *A. ferrooxidans* (TUOVINEN; KELLY, 1973).

Reagente	Concentração (g/L)
Solução A	
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5
KH ₂ PO ₄	0,5
Solução B	
FeSO ₄ .7H ₂ O	33,3

Tabela 4. 3 - Composição meio de cultura 9K para manutenção do *A. thiooxidans* (SILVERMAN; LUNDGREN, 1959).

Reagente	Concentração (g/L)
(NH ₄) ₂ SO ₄	3,0
MgSO ₄	0,5
KH ₂ PO ₄	0,5
KCl	0,1
S ⁰	10

Na Tabela 4.2 o meio T&K contém a solução A composta de sais necessários ao crescimento de microrganismos quimiorganotróficos e a solução B composta por FeSO₄.7H₂O utilizado como fonte de energia para o microrganismo. O pH do meio foi ajustado em 1,8 com adição de H₂SO₄ (0,5M). O repique foi repetido a cada 15 dias.

Na Tabela 4.3 o meio 9K também contém sais necessários ao crescimento do microrganismo e enxofre elementar utilizado como fonte de energia pelo *A. thiooxidans*. O pH do meio foi ajustado em 2,8 com adição de H₂SO₄ (0,5M). Para cultivo dos microrganismos foi utilizado uma concentração de inóculo de 10% (v/v) incubados à 30 °C em uma estufa. A manutenção ocorria a cada 21 dias, aproximadamente.

4.2.1.3 *Penicillium oxalicum*

Para manutenção e crescimento do *Penicillium oxalicum* foi necessário realizar o repique ao menos uma vez ao mês e então foram cultivados em placas de Petri contendo meio sintético seletivo sólido, como apresentado na Tabela 4.4 por um período de 4 a 7 dias a 27 ± 3°C para observação do desenvolvimento da cultura.

Tabela 4.4 – Meio sintético seletivo sólido para manutenção do *P. oxalicum*
(PIKOVSAYA, 1948)

Reagente	Concentração (g/L)
C ₆ H ₁₂ O ₆	10
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5
MgSO ₄	0,1
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5
FeSO ₄	0,0001
MnSO ₄	0,001
KCl	0,2
Extrato de levedura	0,5
Ágar	15

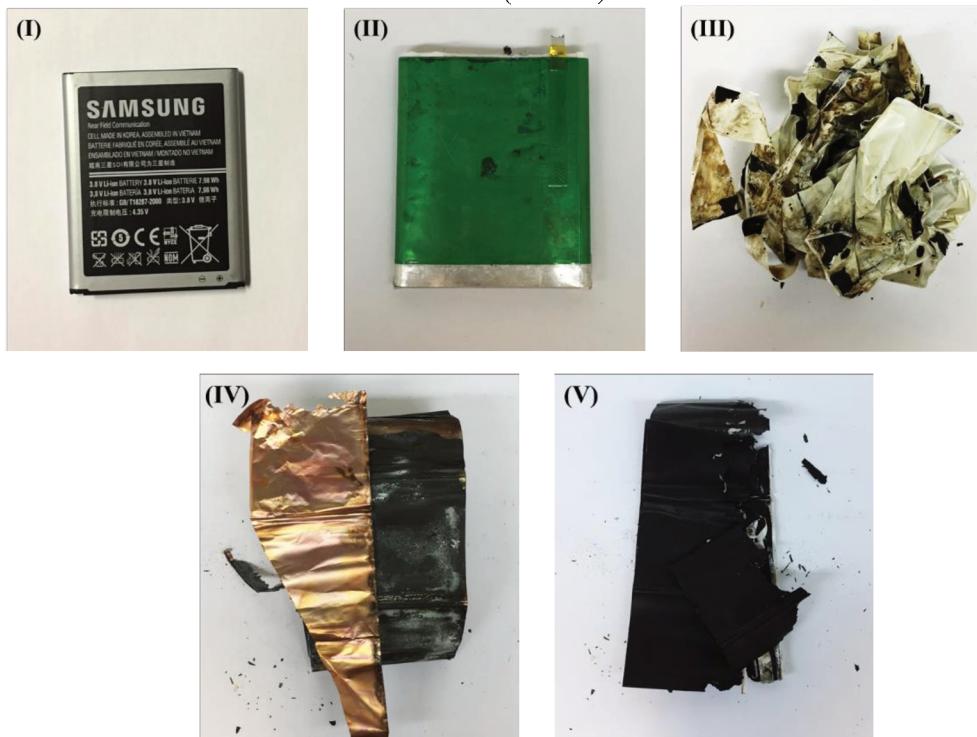
4.2.2 Desmantelamento das baterias

As baterias foram desmanteladas manualmente em capela de exaustão, com o auxílio de alicates e equipamentos de segurança individual como: luvas de látex, jaleco, óculos de

segurança, máscara de gás e avental, uma vez que o contato prolongado dos materiais que compõem a bateria com a pele pode causar irritações. Além disso, há um desprendimento de gases nocivos à saúde quando o invólucro metálico que protege a bateria é rompido. Esses gases possuem um odor muito forte que rapidamente irritam as vias respiratórias, justificando a realização do procedimento dentro de uma capela (DORELLA; MANSUR, 2007).

A parte plástica foi retirada previamente para que, assim, realizasse a abertura da carcaça metálica utilizando os alicates. Em seguida, seus principais componentes como plástico externo, carcaça metálica, plástico interno e lâmina de copolímero, foram separadas manualmente da folha de alumínio e da folha de cobre, como demonstrado na Figura 4.2.

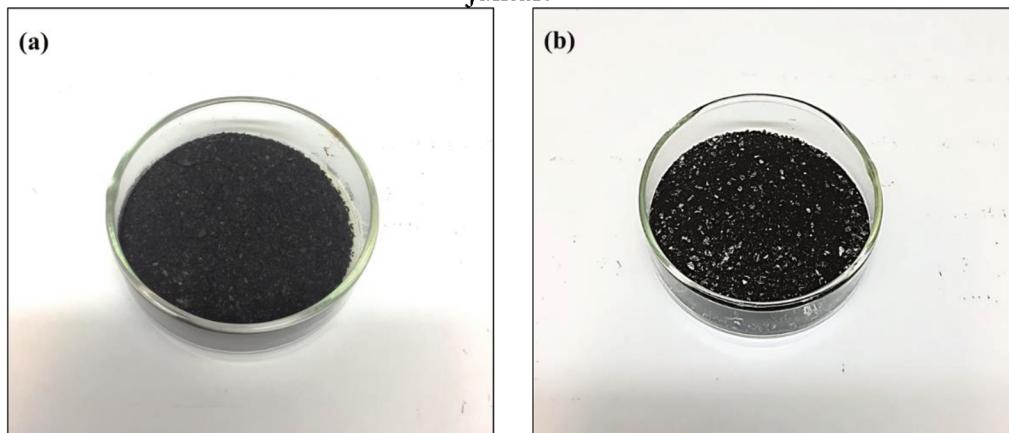
Figura 4. 2- Desmantelamento da bateria (I) bateria; (II) bateria sem as partes plástica externa e metálica; (III) lâmina de copolímero (IV) eletrodo de cobre (ânodo); (V) eletrodo de alumínio (cátodo)



Fonte: O autor (2018)

Após o desmantelamento, duas amostras diferentes foram preparadas: a primeira contendo apenas o óxido de lítio e cobalto, que foi raspada com o auxílio de uma espátula da lâmina de alumínio, e a segunda foi obtida a partir da cominuição em um moinho de martelos (Astecma, modelo MDM 20/20) da folha de alumínio e cobre juntas (Figura 4.3).

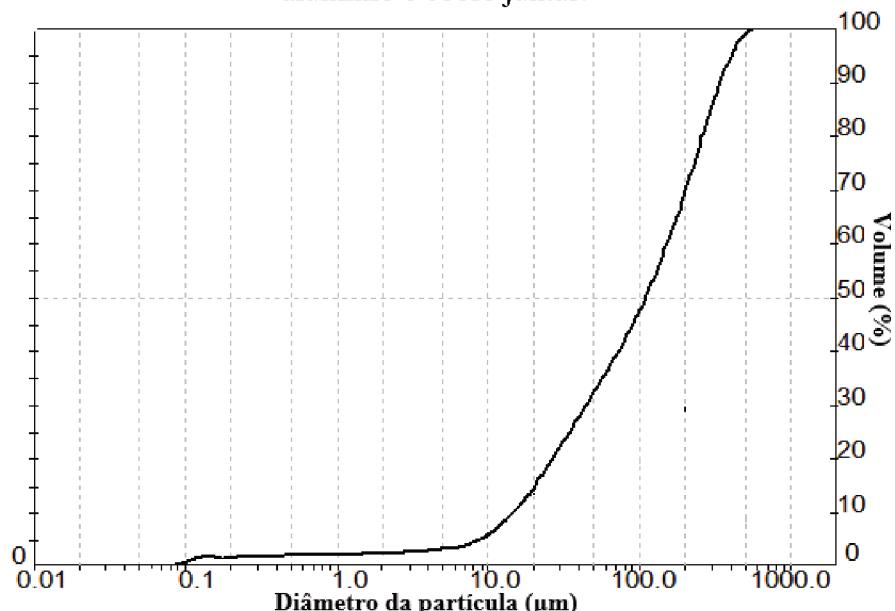
Figura 4. 3 - Amostras utilizadas nos ensaios: (a) Composta pelo óxido de lítio, que foi raspada da lâmina alumínio. (b) Obtida a partir da moagem da folha de alumínio e cobre juntas.



Fonte: O autor (2018)

A distribuição granulométrica das partículas é apresentada na Figura 4.4 e foi realizada no equipamento Malvern Mastersizer Microplus (Laboratório de Controle Ambiental do DEQ/UFSCar), através da técnica de espalhamento de luz laser de baixo ângulo (LALLS), que consiste na medição dos ângulos de difração do raio laser, que são relacionados ao diâmetro da partícula. O valor do diâmetro médio da amostra obtida a partir da moagem da folha de alumínio e cobre juntas é de 108,49 μm , conforme o gráfico da Figura 4.4.

Figura 4. 4 - Distribuição Granulométrica da amostra obtida a partir da moagem da folha de alumínio e cobre juntas.

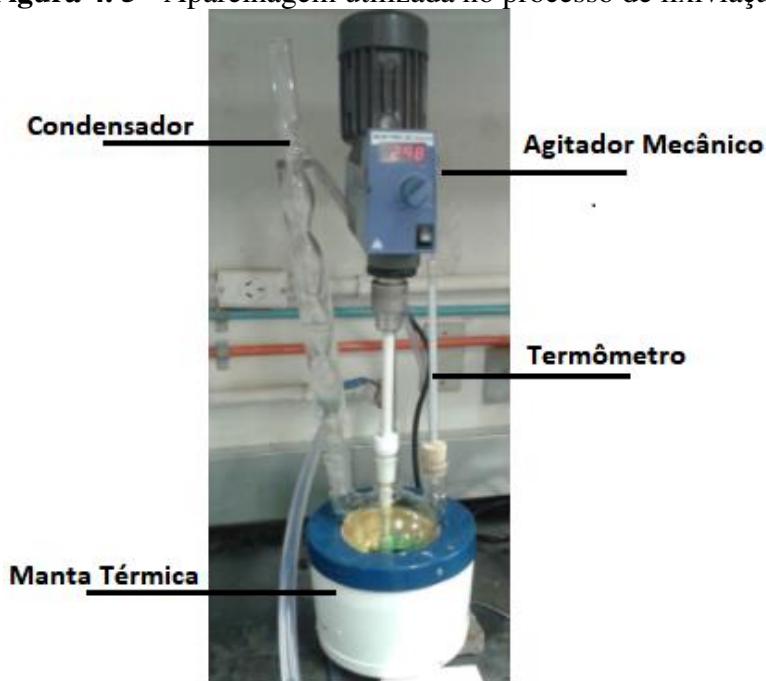


Os componentes restantes das baterias que não foram utilizados nos ensaios foram dispensados e novamente enviados ao LRQ/UFU.

4.2.3 Ensaios de Lixiviação

Para os ensaios de lixiviação foi utilizada uma manta térmica como sistema de aquecimento, um termômetro para controle de temperatura, um condensador (para evitar a evaporação da solução ácida, diminuindo a variação na relação sólido/líquido, além de diminuir os riscos de intoxicação), um agitador mecânico e um balão de fundo redondo com três bocas de 100 mL, conforme apresentado na Figura 4.4.

Figura 4. 5 - Aparelhagem utilizada no processo de lixiviação



Fonte: URIAS (2017)

4.2.3.1 Determinação do teor total dos metais Co e Li na amostra

O teor total dos metais Co e Li das amostras (a) e (b) foi determinado por digestão em água régia, que é uma mistura de ácido nítrico (65% w/w) e ácido clorídrico (36% w/w) concentrados na proporção de 1 para 3 (GRANATA et al., 2012; URIAS, 2017).

A solução de água régia foi preparada e o material foi adicionado na proporção de 1 g em 40 mL de água régia sob agitação de 300 rpm a 90 °C durante 2 horas. Após o resfriamento

da solução, o lixiviado foi filtrado utilizando-se papel de filtro quantitativo Whatman (sem cinzas, grau 42, diâmetro 125 mm, 2,5 µm, taxa de fluxo lenta) e mantido a 4 °C até ser analisado por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (EAAC) (GRANATA et al., 2012; ARSHADI; MOUSAVI, 2015; URIAS, 2017).

4.2.3.2 Ensaio de lixiviação: Influência do tipo de ácido orgânico como lixiviente

Os ácidos utilizados como lixiviente foram acético, láctico, propiônico, butírico e cítrico. Dois tipos de lixiviantes foram avaliados. O primeiro composto somente de um ácido orgânico na concentração de 3,4 M. O segundo lixiviente é a mistura de um ácido orgânico (0,75 M) com ácido sulfúrico (1,25 M). Urias (2017) investigou o potencial lixiviente desse efluente proveniente de ensaio de fotofermentação contendo ácidos orgânicos com molaridade de 0,75M e H₂SO₄ (1,25 M) e efluente de fotofermentação com a adição dos principais ácidos orgânicos ajustando o valor do pH para 2, atingindo uma molaridade total de 3,4 M (ácido láctico 1,47 M, ácido acético 0,94 M, ácido butírico 0,72 M e ácido propiônico 0,28 M).

Todos os ensaios foram realizados em duplicata sob agitação de 300 rpm, a temperatura de 86,5°C, durante um tempo de agitação de 2,5h e utilizando a lactose proveniente do permeado do soro do leite em uma concentração de 0,09M como agente redutor. Estas condições de lixiviação foram obtidas previamente por Urias (2017).

Vale ressaltar que o uso de um agente redutor é necessário para ocorrer a redução do Co³⁺ presente nas baterias para Co²⁺, tornando-o mais solúvel do que as porções não reduzidas (MESHRAM; PANDEY; MANKHAND, 2015a). E o uso de lactose proveniente do permeado de soro de leite como redutor representa uma redução nos custos de matéria-prima, visto que o permeado de soro do leite é um subproduto da indústria de laticínios, rico em lactose (cerca de 85%), e que é produzido em larga escala.

Logo após o processo, a solução foi filtrada, para garantir suspensões isentas de partículas e armazenada a 4°C para posterior análise. As concentrações de íons metálicos dissolvidos, Co e Li, foram determinadas por EAAC.

A porcentagem do metal (Li ou Co) presente na amostra é dada pela Equação 4.1 e as porcentagens de recuperação de Co e Li foram calculadas com relação ao teor do metal determinados no ensaio de digestão por água régia (Item 4.2.2.1) de acordo com a Equação 4.2 (URIAS, 2017).

$$\text{Quantidade do metal na amostra (\%)} = \frac{C \left(\frac{mg}{L} \right) \cdot V (L)}{m (mg)} \times 100 \quad (4.1)$$

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{Quantidade do metal na amostra (\%)}}{\text{Teor total do metal na amostra (\%)}} \times 100 \quad (4.2)$$

Em que C é a concentração (g/L) do metal (Li ou Co) determinada pelo EAAC, V o volume (L) do meio e m a massa (g) da amostra utilizados no processo de lixiviação.

4.2.3.3 Produção de meio lixiviente rico em ácidos orgânicos por fermentação

A partir da análise do potencial dos ácidos orgânicos como lixiviente avaliados no Item 4.2.3.3, fez-se necessário investigar a melhor condição de fermentação, empregando o consórcio microbiano, para a produção de um efluente rico em ácidos orgânicos, principalmente naquele de maior potencial de lixiviação para, em seguida, ser testado como lixiviente no processo de recuperação dos metais. Esta análise vislumbra a possibilidade de integrar o tratamento de efluente com o processo de lixiviação.

O inóculo foi tratado previamente por choque térmico por 30 min a 97°C para eliminar os microrganismos menos resistentes, permanecendo apenas os formadores de esporos (MOREIRA et al., 2017).

O teste de fermentação foi conduzido em duplicata em erlenmeyers de 250 mL, empregando-se um volume reacional de 125 mL e 1,6% (v/v) de inóculo, uma concentração inicial de 0,5 g de células/L, em condições anaeróbicas, à temperatura de 30°C, sem exposição a luz, e agitação de 130 rpm em *shaker*. O substrato foi alimentado ao sistema sempre que a concentração de lactose fosse menor que 1 g/L. Para manter o sistema anaeróbio, borbulhou-se nitrogênio por 5 minutos após a inoculação do meio para retirada do oxigênio dissolvido, contudo para que houvesse liberação dos gases produzidos na fermentação foi empregado um sistema de mangueiras conectado em um recipiente com água, para que não houvesse entrada de O₂ (ROMÃO, 2014; MOREIRA et al., 2017).

Para o ensaio avaliou-se 2 condições de pHs distintos, o primeiro foi mantido em 5,5 para favorecer o desenvolvimento de bactérias lácticas e prevenir o crescimento de bactérias que degradam proteína e produz o ácido butírico (MEESKE et al., 2002). O segundo pH foi mantido em 6,5 assim como MOREIRA et al. (2017).

Periodicamente, uma alíquota do meio de fermentação foi coletada para a quantificação da concentração celular por espectrofotometria, da lactose consumida e ácidos orgânicos produzidos por *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

4.2.3.4 Ensaios de lixiviação utilizando efluente de fermentação

A partir das concentrações finais dos ácidos orgânicos presentes no item 4.2.2.3 foram propostos ensaios para avaliação do potencial lixiviente para os diferentes pHs (5,5 e 6,5) nas condições apresentadas a seguir. Como a concentração final de ácido acético no efluente não foi elevada, e a fim de avaliar a ação deste ácido, uma vez que este é comumente obtido por fermentação por bactérias anaeróbias, uma alíquota do ácido foi adicionada aos lixiviantes 2 e 4, compostos pelos meios obtidos no Item 4.2.2.3, até que a concentração final do lixiviente fosse aproximadamente 2 M.

- Lixiviente 1: Efluente obtido fixando o em pH 5,5 com concentração final de 1,24 M de ácidos orgânicos + 0,76 M de ácido sulfúrico;
- Lixiviente 2: Efluente obtido fixando o em pH 5,5 com concentração final de 1,41 M de ácidos orgânicos + 0,59 M de ácido sulfúrico;
- Lixiviente 3: Efluente obtido fixando o em pH 6,5 com concentração final de 1,21 M de ácidos orgânicos + 0,79 M de ácido sulfúrico;
- Lixiviente 4 Efluente obtido fixando o em pH 6,5 com concentração final de 1,28 M de ácidos orgânicos + 0,72 M de ácido sulfúrico.

Todos os ensaios foram realizados em duplicata sob agitação de 300 rpm, a temperatura de 86,5°C, durante um tempo de agitação de 2,5h e utilizando permeado do soro do leite em uma concentração de 0,09M como agente redutor.

4.2.4 Ensaios preliminares de biolixiviação

4.2.4.1 Consórcio microbiano

I - Avaliação do pH inicial

Os testes foram realizados em frascos de penicilina de 50 mL com 37,5 mL do meio sintético Tabela 4.1 e 10% (v/v) de inóculo que foi submetido previamente a um choque térmico por 30 min a 97 °C, com uma concentração inicial de 3g de células/L, que foram mantidos sob agitação de 180 rpm em um *shaker* a temperatura ambiente, durante 3 e 7 dias. Avaliou-se a adaptação do inóculo em diferentes pHs iniciais: 2; 2,5; 3,5; 4,5; e 5,5, através da análise de consumo de lactose por DNS. Nestes ensaios, utilizou-se apenas a amostra contendo o óxido de Li e Co.

II - Avaliação da melhor razão sólido/líquido (S/L)

Após definição do melhor pH inicial, sob as mesmas condições, testou-se diferentes razão S/L (m/v): 1; 2; 2,5; 3; 4; e 5 g/L para a amostra contendo o óxido de Li e Co, e diferentes razão S/L (m/v) para a amostra contendo os eletrodos: 1; 2; 2,5; 3; 4; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 20; 25; 30; 35 e 40 g/L da bateria de Li-íon. Para determinar a melhor condição, fez-se o monitoramento do consumo de lactose, da concentração celular por gravimetria (massa de sólidos voláteis (SV) por volume) e da concentração de lítio e cobalto recuperados por Espectrometria de Absorção Atômica ao final de 3 dias.

4.2.4.2 *Penicillium oxalicum*

I - Avaliação do melhor substrato em diferentes concentrações

Após 4 dias de cultivo em meio sólido (Item 4.2.1.3) o fungo foi então raspado da superfície do meio usando solução salina (9 g/L NaCl) e espátula esterilizadas. O número de esporos foi contado em microscópio utilizando câmara de Neubauer e então diluída com água deionizada até à concentração desejada de suspensão igual a 10^7 esporos/mL (SANTHIYA; TING, 2005; YU; TING, 2009; AMIRI; MOUSAVI; YAGHMAEI, 2011; AMIRI et al., 2012)

Foram realizados testes em erlenmeyers de 250 mL, utilizando um volume de 100 mL, composto pelo meio (Tabela 4. 5) e 1 mL do inóculo preparado com o microrganismo para fermentação líquida e avaliou-se a adaptação do inóculo em 2 diferentes açúcares (Dextrose, e Lactose proveniente do soro de leite em pó) nas concentrações de 10, 30, 50, 75 e 100 g/L. Ao final de 4 dias tal avaliação foi feita pela análise de consumo do substrato e da produção de

ácidos orgânicos por HPLC, além de pH e da concentração celular por gravimetria (massa de sólidos voláteis (SV) por volume).

Tabela 4.5 - Meio líquido sintético modificado (SAMPAIO et al., 2003)

Reagente	Concentração (g/L)
MgSO ₄	0,1
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5
FeSO ₄	0,0001
MnSO ₄	0,001
Extrato de levedura	0,5

II - Avaliação da melhor razão sólido/líquido (S/L)

Após a definição da melhor concentração de substrato avaliou-se diferentes S/L (m/v) utilizando a amostra contendo ambos os eletrodos: 10; 20; 30; 40; e 50 g/L da LIB. Fez-se o monitoramento do consumo de lactose, da concentração celular por gravimetria (massa de sólidos voláteis (SV) por volume) e da concentração de lítio e cobalto recuperados por Espectrometria de Absorção Atômica no final de 4 dias.

4.2.5 Ensaios de biolixiviação

Para avaliação da eficiência de cada microrganismos na biolixiviação de Co e Li, foram preparados, paralelamente, amostras sem a adição de inóculo, apenas com o meio e o material a ser lixiviado, a fim de verificar ação isolada do consórcio microbiano no processo de biolixiviação. Todas as medidas foram realizadas retirando amostras de dois frascos em intervalos de tempo diferentes.

A amostra contendo apenas o óxido de Li e Co foi utilizada para um ensaio com o consórcio microbiano. Para todos os outros microrganismos investigados, aplicou-se a amostra contendo os eletrodos depois da moagem.

4.2.5.1 *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Em erlenmeyers de 250 mL foi preparado 90 mL de meio basal (Tabela 4.2) devidamente fechados com rolhas de algodão e gaze esterilizados em autoclave por 20 minutos

a 1 atm e 121°C e 10 mL de inóculo com concentração inicial de 10^7 células/mL medida por câmara de Neubauer. A linhagem de *A. ferrooxidans* foi incubada por 3 dias, até que a coloração do meio fosse alterada de branco esverdeado para vermelho tijolo (XIAN et al., 2009). Então adicionou-se 0,5 g da amostra contendo os eletrodos (5 g/L de razão sólido/líquido).

A biolixiviação foi realizada em fracos de sacrifício e para controle avaliou-se a potência de oxirredução (ORP), concentração de Fe^{2+} e Fe^{3+} por espectrofotometria (HARVEY; SMART; AMIS, 1995), pH, concentração de Co e Li por EAAC, concentração celular por gravimetria (massa de sólidos voláteis (SV) por volume) e volume de ácido sulfúrico por titulação com NaOH (0,25 M).

4.2.5.2 *Acidithiobacillus thiooxidans*

Assim como *A. ferrooxidans*, foram preparados erlenmeyer de 250 mL com 90 mL de meio basal Tabela 4. 3 devidamente fechados com rolhas de algodão e gaze e esterilizados em autoclave por 20 minutos a 1 atm e 121°C e 10 mL de inóculo com concentração inicial de 10^7 células/mL medida por câmara de Neubauer. A avaliação do crescimento do *A. thiooxidans* é mais sutil do que a do *A. ferrooxidans* sendo a diminuição do pH do meio o principal indício de crescimento, caindo de 2,8 para próximo de 1 (XIAN et al., 2009). Então adicionou-se 0,5 g da amostra contendo os eletrodos (5 g/L de razão sólido/líquido).

A biolixiviação foi realizada em frascos de sacrifício e para controle avaliou-se o pH, a concentração de Co e Li por EAAC, a concentração celular por gravimetria (massa de sólidos voláteis (SV) por volume) e o volume de ácido sulfúrico por titulação com NaOH (0,25 M).

4.2.5.3 Consórcio microbiano

Para a biolixiviação com o consórcio preparou-se frascos de penicilina de 50 mL, assim como nos ensaios preliminares, sendo realizados nas mesmas condições estabelecidas anteriormente a partir da definição da melhor razão sólido líquido. O acompanhamento do ensaio foi feito até que as concentrações de metais estivessem constantes.

A fim de avaliar o desempenho do consórcio, foram determinadas a concentração da lactose proveniente do permeado do soro do leite por DNS, a concentração celular por gravimetria (massa de sólidos voláteis (SV) por volume), e a recuperação (%) de Li e Co pelas Equações (4.1) e (4.2), semelhante aos ensaios de lixiviação.

Foram propostos 3 ensaios diferentes com o consórcio microbiano:

- 1) Com choque térmico por 30 min a 97 °C e utilizando a amostra composta pelo óxido de Li e Co.
- 2) Com choque térmico por 30 min a 97 °C e utilizando a amostra contendo os eletrodos pós moagem;
- 3) Sem choque térmico e utilizando a amostra contendo os eletrodos pós moagem.

4.2.5.4 Penicillium oxalicum

Foram preparados erlenmeyers de 250 mL com 99 mL de meio basal (Tabela 4.5) com uma concentração de lactose definida em ensaios preliminares (Item 4.2.4.2). Os erlenmeyers foram devidamente fechados com rolhas de algodão e gaze, e esterilizados em autoclave por 20 minutos a 1 atm e 121°C. Logo após, foi adicionado uma alíquota contendo 1 mL de inóculo com concentração inicial de 10^7 esporos/mL medida por câmara de Neubauer. O cultivo do microrganismo durou 3 dias até que estivesse preparado para a adição da amostra composta pelos eletrodos na melhor razão sólido/líquido determinada nos testes preliminares realizados no (Item 4.2.4.2).

A fim de avaliar o desempenho da biolixiviação, foram determinadas a concentração da lactose por DNS, o pH, a concentração celular por gravimetria (massa de sólidos voláteis (SV) por volume), as concentrações de metais por EAAC e a recuperação (%) de Li e Co pelas Equações (4.1) e (4.2).

4.2.6 Análises

4.2.6.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras, antes e após os processos de lixiviação, foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) *Carl Zeiss* modelo EVO MA 10, com o intuito de identificar as variações na morfologia da amostra durante os tratamentos de lixiviação e biolixiviação

4.2.6.2 Determinação da concentração de metais por Espectroscopia de Absorção Atômica em Chama (EAAC)

As alíquotas dos processos de lixiviação, digestão em água régia e biolixiviação foram analisadas por EAAC Shimadzu modelo AA-7000 Series.

Todas as amostras foram diluídas em água deionizada e o pH corrigido para 5 utilizando NH₄OH (6,0 M) para não danificar o equipamento. O NH₄OH foi escolhido a fim de evitar a adição de outros metais no sistema (DORELLA; MANSUR 2007). A análise foi realizada neste pH como uma condição ideal entre a remoção de impurezas e perda de metal alvo. O aumento do pH para 6,5 ocasionaria perda significativa de metais alvo, enquanto o pH igual 5 evita a precipitação dos metais desejados (Li e Co) (GRANATA et al., 2012; URIAS, 2017).

4.2.6.3 Determinação de Ácidos Orgânicos e açúcares por HPLC

A quantificação da concentração dos ácidos orgânicos e dos açúcares presentes no meio de fermentação por consórcio microbiano e por *Penicillium oxalicum* foi obtida por meio da cromatografia líquida de alto desempenho HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu modelo LC-20A Pronience, equipado com coluna SUPELCOGEL C-610H, com detector ultravioleta no comprimento de onda de 210 nm para ácidos orgânicos e detecção por índice de refração para os açúcares. As amostras para leitura foram diluídas, filtradas (porosidade 0,22 µm) e injetadas no equipamento. A fase móvel utilizada foi uma solução de ácido fosfórico à 0,1 % (v/v), a vazão da bomba foi 0,5 mL/min, a temperatura do forno foi 32 °C e o volume de injeção 20 µL. As áreas obtidas nos cromatogramas para cada composto foram convertidas em concentrações em g/L por meio de curvas de calibração previamente estabelecidas.

4.2.6.4 Determinação do potencial hidrogeniônico (pH)

O pH foi medido através do pHmetro Gehaka PG-2000 de bancada, previamente calibrado.

4.2.6.5 Determinação de compostos fenólicos totais

Teor de fenólicos totais (TPC) foi quantificado pelo método colorímetro de Folin Ciocalteau (SWAIN; HILLIS, 1959). Uma alíquota do efluente de fotofermentação escura foi diluída em água deionizada na proporção de 1:5 m/v. 0,5 mL do efluente foi adicionado a um tubo de ensaio, seguido pela adição de 2,5 mL de uma solução a 10% de reativo para fenol Folin-Ciocalteau. Passados três minutos foram adicionados 2 mL de uma solução a 7,5% de carbonato de sódio. Para calibrar o espectrofotômetro foi feito o branco com água deionizada. As amostras foram protegidas de luz durante 1 h (MAGALHÃES; CARDOSO; REIS, 2018).

A leitura da absorbância foi feita a 760 nm em um espectrofotômetro (Shimadzu mini 1240, Japão). Para o cálculo do teor de compostos fenólicos totais, utilizou-se uma curva de calibração padrão utilizando ácido gálico como padrão, sendo as concentrações pertencentes a faixa de 0,5 a 100 $\mu\text{gGAE mL}^{-1}$ (GAE: Equivalente em ácido gálico) (MAGALHÃES; CARDOSO; REIS, 2018).

4.2.6.6 Determinação de concentração celular

I) Contagem em câmara de Neubauer

O número de células pode ser determinado por contagem no microscópio da marca Nikon modelo Eclipse E200-LED, utilizando-se uma câmara de Neubauer, também conhecida como Hemacitômetro ou Câmara de Contagem.

II) Concentração celular por gravimetria (massa de sólidos voláteis (SV) por volume) e espectrofotometria

As concentrações de células na ausência de baterias (iniciais) foram medidas por leitura de densidade óptica a 660 nm e relacionada por curva de calibração para obtenção da concentração em $\text{g}_{\text{sv}}/\text{L}$. E o método gravimétrico foi aplicado para a determinação de concentração celular na presença de amostra (durante a biolixiviação).

A concentração celular (densidade microbiológica) foi determinada pela razão entre a massa de sólidos voláteis (SV) por volume. Essa foi obtida pela centrifugação (centrífuga da marca Beckman J-25 com rotação igual 8000 rpm – 12.096 g) de um volume conhecido da amostra, em que o sobrenadante era reservado para análises posteriores e o corpo de fundo era

resuspendido com água destilada e colocado em recipiente previamente tarado, seguida da introdução do sistema (recipiente + células) em estufa a $105 \pm 1,0$ °C.

Após 24 horas, o recipiente foi acondicionado em dessecador com sílica gel até resfriamento e, posteriormente, foi pesado. Este procedimento foi repetido até a verificação de peso constante para a medida da massa celular seca.

Para a determinação de sólidos suspensos voláteis (SV), fez-se a calcinação em cadinhos de porcelana por 30 minutos a 550 °C na mufla. Após o procedimento, transferiu-se para o dessecador de sílica gel, e aferiu-se o peso. A diferença da massa depois da estufa e da calcinação correspondeu à massa de células voláteis presente no volume de suspensão celular.

4.2.6.7 Concentração de açúcar redutores por DNS

A determinação lactose foi realizada por DNS. O método consiste na redução do ácido 3,5-dinitrosalicílico e utiliza os seguintes reagentes: ácido 3,5-dinitrosalicítico, sal de Rochelle e hidróxido de sódio, cada um com uma função específica (SANTOS et al, 2017).

Para a determinação da concentração de açúcares redutores, 0,5 mL da amostra diluída foi acrescentada a 1,0 mL de reagente DNS em um tubo de Folin-Wu e levada para um banho de água em ebulição por 5 minutos. Após este tempo, resfriavam-se os tubos em banho com gelo e completava o volume a 12,5 mL com água destilada, os quais eram homogeneizados e a seguir realizada a leitura da absorbância a 540 nm, em espectrofotômetro Thermo Spectronic modelo Genesys 10 UV, 9 utilizando cubetas de vidro. A calibração do zero no aparelho era feita utilizando um teste em branco, onde 0,5 mL de água destilada substituía a amostra, seguindo o mesmo procedimento. A curva de calibração do método do DNS, foi determinada utilizando soluções de glicose na faixa de 0,0 a 1,0 g/L, com intervalo de 0,1 g/L. Durante os ensaios foram obtidas curvas de calibração para toda solução de DNS preparada (MILLER, 1995).

4.2.6.8 Determinação do potencial de oxidação/redução (ORP)

O potencial de oxidação foi medido de maneira direta através do potenciômetro S220 SevenCompact™ pH/Ion de bancada da marca Metter Toledo, previamente calibrado.

4.2.6.9 Determinação da concentração de ácido sulfúrico

A concentração de ácido sulfúrico foi determinada através de titulação ácido/base, utilizando como reagentes, NaOH (0,25M) padronizado e solução de fenolftaleína seguindo metodologia aplicada por (ROSSI, 1990).

4.2.6.10 Determinação de metais bioassorvidos (ou bioacumulados) pelos microrganismos

Ao final dos testes de biolixiviação, o resíduo foi seco a 80 °C, até apresentar massa constante e transferido para um béquer de 250 mL contendo 50 mL de uma solução de HNO₃ (5% v/v) em *shaker* orbital a temperatura ambiente por 2 horas. Em seguida foi aquecido até 80°C e mantido nessa temperatura por 30 min em banho ultrassônico posicionado dentro da capela, com condensador para prevenir evaporação do ácido nítrico (SANTHIYA; TING, 2006).

O extrato obtido foi filtrado em papel Whatman 42, e diluído em água deionizada para análise de concentração de metais no EAAC. As amostras do experimento controle (branco, sem inóculo) foram sujeitas a mesma análise.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação do teor total dos metais Co e Li na amostra

Como apresentado anteriormente (Figura 4.1) foram utilizadas dois tipos de amostras: a primeira contendo somente o óxido de Li e Co raspado da lâmina alumínio (cátodo) e a segunda foi obtida da moagem dos dois eletrodos. Os resultados da digestão em água régia de ambas as amostras, cujos resultados estão expostos na Tabela 5.1.

Tabela 5. 1 - Teor de Co e Li nas amostras de bateria de íons de lítio por digestão com água régia a 90°C, 300 rpm e 25 g/L

Amostra	Co (%)	Li (%)
Óxido de Li e Co	47,85	3,73
Eletrodos	23,63	4,17

Pode ser observado na Tabela 5.1 que a concentração de cobalto em ambas as amostras é superior que a do lítio, o que corrobora com o que é apresentado por Jha et al. (2013), Li et al. (2014), e Nayaka et al. (2016a), no qual afirmam que as LIBs são constituídas de 5 – 20% (m/m) de cobalto e de 5-7% (m/m) por lítio.

A diferença do teor de Co e Li nas amostras se deve à presença de sais de lítio no eletrólito como LiPF₆, LiBF₄, LiClO₄ ou LiSO₄ (NAN; HAN,; ZUO, 2005; RIBIÈRE et al., 2012), o que faz que a utilização dos dois eletrodos aumente a concentração de Li e do Co diminua, já que não há presença deste no cátodo.

I) ENSAIOS DE LIXIVIAÇÃO

5.2 Influência do tipo de ácido orgânico como lixiviante: puro e em mistura com H₂SO₄

Em trabalho anterior (URIAS, 2017), o uso do lixiviante composto de ácido sulfúrico (1,25 M) e o efluente de fermentação (0,75 M, em ácidos orgânicos) favoreceu a obtenção de altos índices de recuperação dos metais. Portanto, neste estudo, os testes iniciais de lixiviação tiveram o objetivo de averiguar o efeito de cada um dos ácidos orgânicos presentes no efluente de fermentação sobre a recuperação de Li e Co, de forma isolada tendo como concentração de

ácido orgânico 3,4 M, ou juntamente com o ácido sulfúrico usando uma relação de 1,25 M: 0,75M do ácido inorgânico para o ácido orgânico.

Os ácidos orgânicos encontrados em maior quantidade no efluente de Urias (2017) e, portanto, empregados nestes ensaios foram os ácidos láctico, butírico, acético e propiônico. Além dos ácidos presentes no efluente de fermentação, avaliou-se também o feito do ácido cítrico, uma vez que ele é o ácido orgânico que tem sido mais estudado em processos de lixiviação e produzido por diversos fungos filamentosos (MA et al., 2013, LI et al., 2013, CHEN et al., 2016, RIBEIRO et al. 2018, YU et al., 2018).

A Tabela 5.2, apresenta o resultado da lixiviação da amostra contendo o óxido de Li e Co utilizando dois tipos de lixiviante, primeiramente, um composto de H₂SO₄ (1,25M) e um ácido orgânico (0,75M) e, em seguida, um lixiviante composto de apenas ácido orgânico em uma concentração de 3,4 M. O ensaio foi realizado utilizando 0,09M de lactose proveniente do PSL, em uma temperatura de 86,5 °C, durante 2,5 h, S/L de 18,5 g / L e 300 rpm.

Tabela 5.2 - Recuperação (%) de Co e Li em relação ao uso de ácidos orgânicos puros e em mistura com H₂SO₄ como agente lixiviante a 86,5 °C, 300 rpm, 2,5 h e razão S/L de 18,5 g/L para a amostra contendo o óxido de Li e Co

Lixiviante	%Co	%Li
H₂SO₄ (1,25 M) + Ácido Orgânico (0,75 M)		
Ácido Lático	90,90%	94,35%
Ácido Acético	82,07%	68,77%
Ácido Propiônico	78,46%	61,02%
Ácido Butírico	80,69%	68,35%
Ácido Cítrico	67,20%	51,57%
Ácido Orgânico (3,4 M)		
Ácido Lático (pH 1,6)	56,59%	64,43%
Ácido Acético (pH 2,5)	0,95%	12,57%
Ácido Propiônico (pH 2,25)	0,46%	6,18%
Ácido Butírico (pH 2,40)	0,27%	4,44%
Ácido Cítrico (pH 1,80)	50,91%	53,41%

A análise da Tabela 5.2 indicou que o uso de apenas o ácido orgânico puro (3,4 M) levou à baixa recuperação de metais utilizando ácido láctico (56,59% de Co e 64,43% de Li) e ácido cítrico (50,91% de Co e 53,41%), enquanto que para os ácidos butírico, acético e

propionílico, a recuperação de Co foi desprezível e para o Li foi de 4,44 % a 12,57%. O baixo pH apresentado pelos ácidos láctico e cítrico pode ter contribuído parcialmente para a maior recuperação.

Quando o lixiviante foi composto pela mistura de ácido sulfúrico (1,25 M) com um desses ácidos orgânicos, exceto para os ensaios com ácido cítrico, a recuperação foi consideravelmente superior e aumentou na seguinte sequência de ácidos cítrico, propionílico, butírico, acético e láctico, sendo que para este último, a recuperação de Li e Co foi superior à 90%.

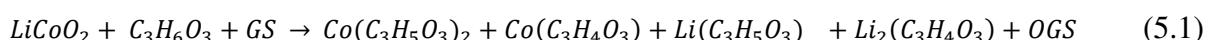
Para interpretar a influência dos ácidos sobre a lixiviação, deve-se levar em consideração os diversos fenômenos envolvidos no processo que, de maneira geral, pode ser dividido nas seguintes etapas: (1) transferência de massa dos íons da camada líquido/resíduo, (2) difusão da superfície do resíduo até os metais, (3) reação química com LiCoO_2 , (4) difusão do produto pela camada de resíduos, (5) transferência do produto através do filme líquido para a solução lixiviente (ZHENG et al., 2017).

Em relação aos ácidos orgânicos, além da ação do ácido nesses fenômenos, deve-se considerar a ação quelante, de formação de complexos seguido de precipitação e ainda ação redutora que estes ácidos podem apresentar e que aumentam a eficiência da recuperação dos metais por lixiviação. A discussão abaixo esclarece as diferenças nas capacidades de solubilização dos metais com base nestas características para os ácidos orgânicos já estudados em lixiviação.

No estudo de Nayaka et al. (2016b), os autores abordaram tanto a capacidade de agente quelante como de redutor na solubilização dos metais a partir da matriz do óxido. Estes autores verificaram que, quando o ácido iminodiacético (IDA) foi usado como lixiviante, os espectros UV-Vis da solução dissolvida mostraram que os complexos Co (III)-IDA e Co (II)-IDA foram formados a 560 nm e 380 nm, respectivamente, enquanto que, quando se empregou o ácido maleico (MA) como lixiviante, houve formação de apenas Co (III)-MA a 512 nm na solução. O resultado indicou que o ácido iminodiacético atuou como agente quelante e redutor e, por isso, para se obter uma maior recuperação utilizando ácido maleico foi necessária a adição do agente redutor ácido ascórbico.

Os maiores resultados de recuperação pelo ácido láctico usado puro (56,59%, Co e 64,43%, Li) ou em combinação com o ácido láctico (90,90%, Co e 94,35%, Li) em comparação aos demais ácidos orgânicos testados, pode ser justificado por ele ser um ácido alfa-hidroxiácido (AHAS). De acordo com Li et al. (2017), o ácido láctico ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$) é de um grupo

de substâncias naturais encontradas em alguns alimentos que constituem uma família de ácidos orgânicos e contém um grupo carboxílico adjacente a um grupo hidroxila. A presença de um grupo α -hidroxila aumenta a acidez em comparação com a de um ácido monobásico médio. A reação de lixiviação entre os metais e o ácido láctico é uma reação multifásica, que pode ser explicada em duas etapas: (1) conversão de Co^{3+} a Co^{2+} na presença do agente redutor (GS-semente de uva) e a subsequente dissolução de LiCoO_2 na solução ácida, e (2) a quelação de Co^{2+} e Li^+ com ácido láctico. A reação de lixiviação pode ser representada como na Equação (5.1) (ZHANG et al., 2018).



Assim como neste presente estudo, Li et al. (2013) também alcançaram diferentes eficiências de recuperação dependendo do tipo de ácido orgânico usado. Todos os ensaios foram realizados a 90 °C. Para o ácido cítrico (1,25 M), o tempo de lixiviação foi de 30 min, o volume de H_2O_2 foi de apenas 1% (v/v) e a relação sólido/líquido foi de 20 g/L. As condições usando ácido málico (1,5 M) tiveram que ser ligeiramente superiores (40 min, H_2O_2 2% (v/v), relação S/L 20 g/L) e com ácido aspártico (1,5 M), as condições foram mais severas (120 min, H_2O_2 5% (v/v), relação S/L de 20 g/L). O ácido cítrico e o ácido málico permitiram uma recuperação superior a 90% de Co e Li, sendo que a recuperação pelo ácido aspártico foi menor. Os autores enfatizaram que, na presença de H_2O_2 , o processamento de LIB por ácidos orgânicos ocorreu em duas etapas, primeiro há a redução de Co (III) para Co (II), seguida pela dissolução da matriz de óxido na solução ácida e, posteriormente, há a quelação de Co (II) e Li com o citrato, malato ou aspartato.

Os resultados superiores obtidos por Li et al. (2013) e Golmohammadzadeh, Rashchi e Vahidi (2017) aos do presente trabalho, podem ser justificados pelo pré-tratamento (térmico e químico) das amostras, facilitando a solubilização pelos ácidos.

Comparando os resultados com o trabalho de Urias (2017) que avaliou duas situações em condições próximas das aplicadas neste estudo (90°C por 2h): (1) o meio lixiviante composto de H_2SO_4 (1,25 M) e efluente de fermentação contendo, principalmente, os mesmos ácidos avaliados neste trabalho, e (2) o lixiviante do efluente enriquecido com estes ácidos até atingir a concentração de 3,4 M (pH 2), observa-se que a recuperação dos metais obtida na situação (2) foi consideravelmente maior, 88,56% para Co e 96,47% para Li, usando lactose P.A. como reagente redutor. E para a condição (1), os resultados deste estudo, são superiores

aos de Urias (2017), somente para a mistura H₂SO₄ (1,25 M) e ácido láctico (0,275 M), sendo que a autora obteve índices de 83,52 % de Co e 85,94 % de Li, e também usou permeado de soro de leite como agente redutor. Essa comparação indica que pode haver um sinergismo entre os ácidos orgânicos. Ademais, o efluente resultante dos microrganismos heterotróficos contém também compostos com grupos reativos hidrofílicos, como grupos fenólicos que auxilia o deslocamento do metal iônico da bateria (matriz), além de formar quelatos e complexos metálicos solúveis que favorecem o processo de lixiviação (BOSECKER, 1997).

Assim, a utilização de um efluente de fermentação rico em ácidos orgânicos que são biodegradáveis, torna possível reduzir o volume de ácidos inorgânicos como ácido sulfúrico no uso como lixiviantes e minimizar suas desvantagens, pois, além de não serem biodegradáveis, causando um impacto ambiental maior, os ácidos inorgânicos lixiviam todos os metais e não são seletivos em relação à recuperação da folha de alumínio (GAO et al., 2018). Além disso, os custos de produção de um ácido orgânico para ser utilizado como lixiviante são reduzidos, integrando-a à estação de tratamento de efluentes.

5.3 Fermentação de meio lixiviante rico em ácidos orgânicos

Os ensaios de lixiviação com diferentes ácidos orgânicos aliados com os dados da literatura mostram que a produção de um meio rico nestes ácidos por fermentação deve ser considerada, principalmente, rico em ácido láctico, uma vez que esse ácido possuiu maior potencial como lixiviante seja usado puro (3,4 M) ou em associação com o ácido sulfúrico comparado aos demais ácidos testados (Tabela 5.2).

Portanto, a etapa seguinte deste trabalho, foi a avaliação de duas condições de pH (5,5 e 6,5) mantidos constantes durante a fermentação com adição do meio (Tabela 4. *I*) dissolvido em uma solução de NaOH (0,25 M), para verificar qual levaria a produção de um meio que tivesse a maior formação do ácido láctico. Além disso, houve alimentação repetida de permeado de soro sempre que a lactose se esgotava (MOREIRA et al., 2017).

As análises da concentração dos ácidos orgânicos formados estão apresentadas na Figura 5.1 e o perfil de consumo do substrato na Figura 5.2 para ambos os pHs. Além disso, a composição final do efluente de fermentação está apresentada na Tabela 5.3.

Figura 5.1 - Variação da concentração dos ácidos orgânicos formados (■ ácido láctico, ○ ácido butírico, □ ácido acético e ▲ ácido propiônico) durante as 900 horas de fermentação com permeado do soro do leite para diferentes pHs (a) 5,5 e (b) 6,5.

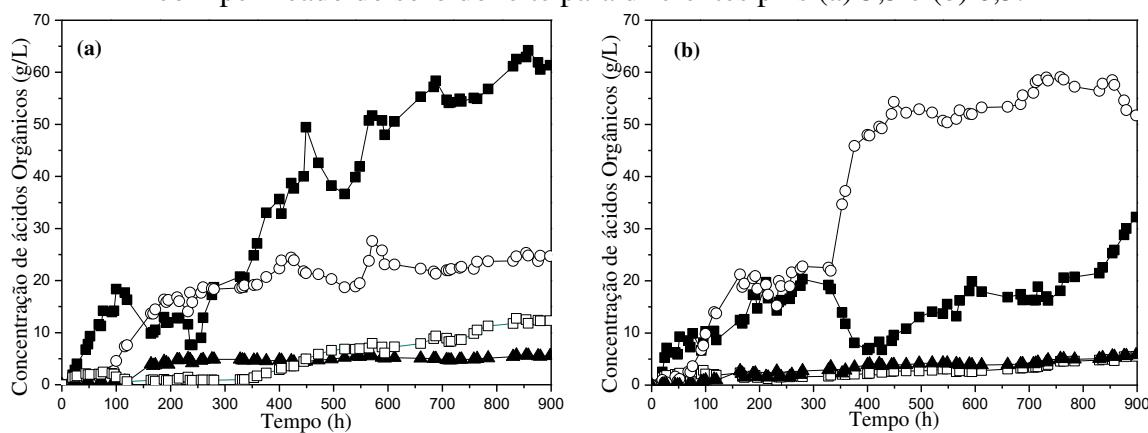


Tabela 5.3 - Composição final dos ácidos orgânicos no efluente de fermentação utilizando o consórcio microbiano e permeado do soro do leite em pó

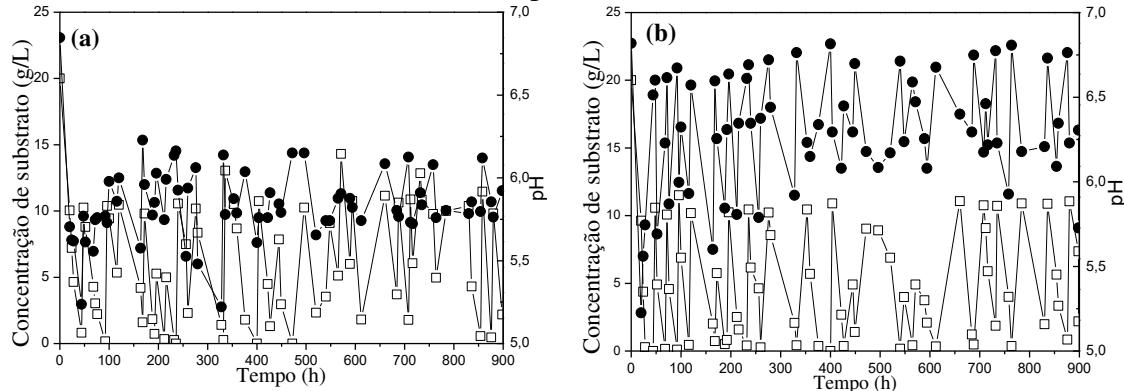
	Concentração (mol/L)	
	pH 5,5	pH 6,5
Ácido Láctico	0,68	0,36
Ácido Butírico	0,28	0,59
Ácido Acético	0,20	0,09
Ácido Propiônico	0,08	0,08
Total	1,24	1,12

Pelos perfis de concentração ilustrados nas Figuras 5.1 e Tabela 5.3, observa-se que o ácido láctico apresentou uma concentração final de 0,68 M para o pH de 5,5, o que corresponde a 1,89 vezes maior do que a do butírico, enquanto que no pH de 6,5 houve uma produção maior de ácido butírico (0,59 M) sendo que a concentração de ácido láctico atingiu somente 0,36 M. Houve também a formação de ácido acético e propiônico em proporções menores, chegando em um valor médio final de 0,20M e 0,074 M respectivamente após 784 horas de fermentação para o pH de 5,5.

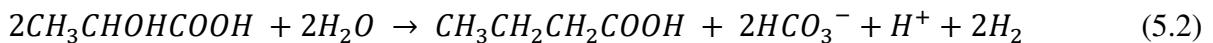
Desta maneira, esses resultados comprovaram que as condições do meio adotadas neste ensaio, assim como o controle do pH a 5,5 e a batelada repetida de permeado de soro de leite mostraram-se eficientes para a obtenção de um meio rico em ácido láctico (0,68 M) e ainda com presença de outros ácidos orgânicos em concentrações menores, totalizando 1,24 M. Este resultado indica que o efluente em questão tem potencial para ser usado na solubilização dos metais, como demonstrado na Tabela 5.2 e pelo trabalho de Urias (2017), que continha 0,28 M

de ácido láctico, dentre os 0,75 M total de ácidos orgânicos, usados juntamente com ácido sulfúrico.

Figura 5. 2- Variação da (□) concentração do substrato (lactose proveniente do PSL) e do (●) pH durante as 900 horas de fermentação escura com permeado do soro do leite, para diferentes pHs (a) 5,5 e (b) 6,5.



Ao examinar as Figuras 5.1 e 5.2, percebe-se que na falta do substrato o consórcio tende a consumir o ácido láctico e assim produzir o ácido butírico, o que ocorreu entre os tempos de 350 a 450 h para o ensaio com o pH 6,5. Essa mesma tendência também foi observada por Moreira et al. (2017) em testes de produção de H₂ por fermentação usando o mesmo consórcio microbiano anaeróbio, e é indicada pela Equação 5.2, sendo que bactérias do consórcio microbiano podem converter o ácido láctico em butírico. Fato comprovado pelo valor do pH, que aumentou para próximo de 6 à medida que falta substrato, devido ao consumo do ácido em questão e reduzido para 5 quando houve produção deste. Conclui-se, portanto, que para a produção do ácido láctico, faz-se necessário um controle constante da quantidade de lactose disponível no meio de fermentação.



Além disso, foi determinada a concentração de compostos fenólicos do meio lixiviante obtido. De acordo com Bosecker (1997), a lixiviação pode ser favorecida pela presença de compostos quelantes e fenóis, que são excretados pelos microrganismos anaeróbios no efluente. A concentração de fenólicos verificada foi de 124 µgGAE mL⁻¹.

5.4 Ensaios de lixiviação utilizando efluente de fermentação

Para se testar o potencial dos meios produzidos por fermentação como lixiviantes, ensaios de lixiviação, desta vez empregando a amostra contento tanto cátodo como ânodo da LIB, foram realizados utilizando o efluente de fermentação a partir do consócio microbiano misturado com H₂SO₄. Para efeito de comparação com os testes realizados com os ácidos puros e com o trabalho de Urias (2017), manteve-se a concentração total de ácidos igual a 2 M, porém, inverteu-se a proporção entre a concentração total de ácidos próxima de 1,25 M e de ácido sulfúrico próxima a 0,75 M.

Além disso, mesmo que o ácido acético empregado isoladamente no meio lixiviante não tenha se mostrado efetivo na recuperação, foram feitos ensaios com adição ou não do ácido acético (0,105 M para o ensaio 2 e 0,210 M para o ensaio 4) (Tabela 5.4), ajustando sua concentração para 10 g/L, visto que é um ácido comumente obtido por fermentação ou vinculado ao efluente de tratamento de águas residuárias. De acordo com Zhu et al. (2013), esse ácido orgânico é um lixiviador ecológico (biodegradável) e de baixo custo eficiente na lixiviação de metais valiosos em baterias chumbo-ácido com poluição mínima e baixo consumo de energia. Já Gao et al. (2018), determinou que as taxas de lixiviação de Ni, Co, Mn e Li aumentaram com a concentração de ácido acético (3,5 M), e Li foi mais facilmente lixiviado do que outros metais. Enquanto que nos lixiviantes 1 e 2, a composição final foi mantida e apenas adicionado o ácido sulfúrico.

O ensaio foi realizado utilizando 0,09M de lactose proveniente do PSL, em uma temperatura de 86,5 °C, durante 2,5 h, S/L de 18,5 g/L e 300 rpm, e os resultados são apresentados na Tabela 5.4.

Tabela 5.4 - Recuperação (%) de Co e Li em relação do efluente de fermentação em mistura com H₂SO₄ como agente lixiviante a 86,5 °C, 300 rpm, 2,5 h e razão S/L de 18,5 g/L para a contendo ambos os eletrodos

Ensaio	Lixiviante	%Co	%Li
1	H ₂ SO ₄ (0,76 M) + Efluente* pH 5,5 (1,24 M)	100,00%	99,87%
2	H ₂ SO ₄ (0,59 M) + Efluente* pH 5,5 (1,41 M)	88,60%	89,57%
3	H ₂ SO ₄ (0,79 M) + Efluente* pH 6,5 (1,21 M)	92,25%	84,17%
4	H ₂ SO ₄ (0,72 M) + Efluente* pH 6,5 (1,28 M)	99,46%	86,08%

*Efluente gerado a partir da fixação do pH no ensaio de fermentação.

A análise da Tabela 5.4 confirma a tendência observada nos testes com ácidos orgânicos puros, cujos resultados são apresentados na Tabela 5.2., comprovando que o uso do efluente da fermentação produzido a pH 5,5 levou a uma alta recuperação dos metais, mesmo reduzindo a proporção de ácido sulfúrico em relação aos testes com o ácido orgânico puro, principalmente do lixiviante 1, que contém a maior quantidade de ácido láctico (100% de Co e 99,87% de Li)

Com relação ao ensaio 2, em que se obteve a menor recuperação dos metais (88,60% de Co e 89,57% de Li), pode ser justificado, pois, para se obter o ajuste da concentração de ácido acético para 0,305M, e manter a concentração total de 2 M, a concentração do ácido inorgânico adicionado foi de 0,59 M, menor que nos demais ensaios.

Para os ensaios 3 e 4, verifica-se que a adição do ácido acético, promoveu um aumento de cerca de 7,25% e 2,22 % na recuperação de cobalto e de lítio, respectivamente, indicando que pode ter ocorrido interação entre o ácido acético 0,305 M e o ácido butírico 0,59 M, os principais presentes neste ensaio.

Os resultados com o lixiviante 1 foram superiores ao encontrados por Zhang et al. (2018) e Li et al. (2013). Zhang et al. (2018) utilizaram um ácido málico puro como lixiviante e como agente redutor a semente de uva, que é um resíduo, para a lixiviação do material LiCoO_2 . Cerca de 92% de Co e 99% de Li foram lixiviados nas condições otimizadas (0,6 g/g de semente de uva, ácido málico a 1,5 M, 180 min, 80 °C e razão S/L de 20 g / L). Enquanto que Li et al. (2013) utilizaram ácidos cítrico (1,25 M) e málico (1,5 M) na recuperação de cobalto e lítio com uma razão S/L de 20 g/L, 90 °C, 2M de H_2O_2 e 40 min, obteve mais de 90% para os metais. Ambos os autores, utilizaram um pré-tratamento para a aplicação da hidrometalurgia, e Li et al. (2013) empregaram um agente redutor inorgânico (H_2O_2) e de valor comercial alto.

Vale ressaltar que os resultados foram também superiores aos obtidos por Urias (2017) que usou uma maior proporção de ácido sulfúrico (1,25 M) do que de efluente (0,75 M) na lixiviação do óxido de lítio, empregando as mesmas condições de agitação, tempo de processo e concentração de permeado de soro de leite como redutor (83,52% Co e 85,94% de Li). Isso indica que o efluente produzido nas condições utilizadas neste trabalho favoreceu a recuperação dos metais, permitindo reduzir o volume de ácido sulfúrico.

Na análise dos resultados foi possível mostrar que um meio rico em ácidos orgânicos resultante da fermentação utilizando consórcio microbiano apresentou potencial para ser usado em ensaios de lixiviação com eficiência para recuperação de Li e Co, sendo que o meio

contendo com alta concentração de ácido láctico permitiu a recuperação superior a 99% para Li e Co.

Diante deste resultado, conclui-se que a produção de meio contendo este ácido deve ser explorado, de modo a aumentar não somente a sua concentração, mas de outros ácidos e, consequentemente, poder reduzir o consumo de ácido sulfúrico ou qualquer outro ácido inorgânico em processos de lixiviação.

II) ENSAIOS DE BIOLIXIVIAÇÃO

5.5 Ensaios preliminares de biolixiviação

A fim de abordar o processo de biolixiviação foram realizados testes preliminares para os microrganismos empregados, como o consórcio e o *Penicillium oxalicum*, avaliando as melhores densidades de polpa (razão S/L), pH inicial e o uso em diferentes substratos.

Os meios usados para a biolixiviação tiveram a mesma composição dos meios em que os inóculos foram mantidos (Tabela 4. **1** (Consórcio) e Tabela 4. **5** (*P. oxalicum*)), alterando pH ou a fonte de carbono quando necessário.

5.5.1 Consórcio microbiano

I - Avaliação do pH inicial

Na Tabela 5.5 encontra-se a variação do consumo da lactose (20 g/L) proveniente do soro do leite em diferentes pH iniciais para o ensaio preliminar utilizando o consórcio microbiano com uma concentração inicial de 3g de células/L, que foi mantido sob agitação de 180 rpm em um *shaker* a temperatura ambiente, durante 3 e 7 dias. Nestes ensaios, utilizou-se apenas a amostra contendo o óxido de Li e Co., e pode-se observar que na faixa de 2 e 2,5 não houve consumo da lactose, ou seja, indicando que esta condição não é favorável ao desenvolvimento celular. Para valores superiores de pH, ocorreu consumo sendo que no pH de 5,5 observou-se o maior valor, 50% após os 7 dias de ensaio.

Tabela 5.5 - Consumo da lactose proveniente do permeado do soro do leite em diferentes pH iniciais em um tempo de três e sete dias.

Tempo (dias)	pH				
	2,0	4,5	3,5	4,5	5,5
3	0%	0%	3%	18%	35%
7	0%	0%	12%	35%	50%

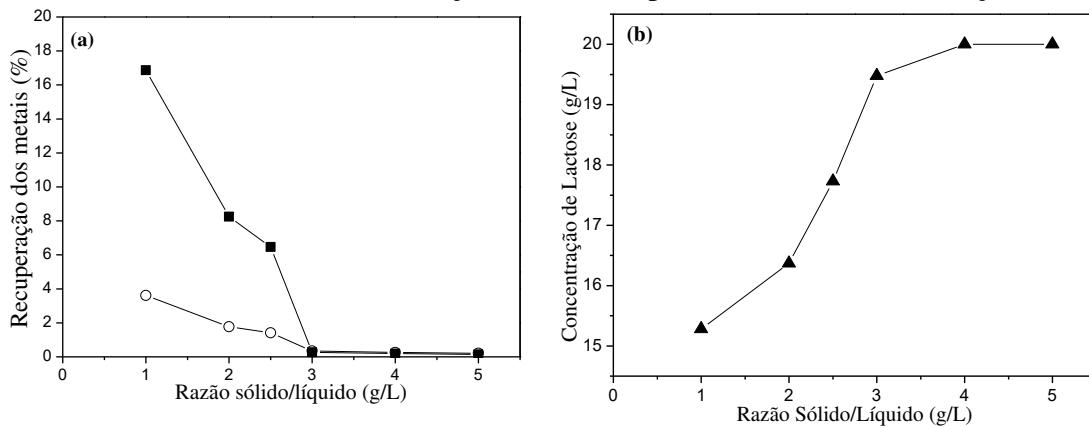
Com base neste resultado, escolheu-se o pH de 5,5 para avaliar a melhor razão sólido/líquido e estabelecer o ensaio de biolixiviação, já que esta condição favoreceu o desenvolvimento dos microrganismos da cultura do consórcio.

II - Avaliação da melhor razão sólido/líquido (S/L)

Na amostra contendo o óxido de Li e Co:

Na Figura 5.3, estão ilustrados os perfis de concentração de Li e Co e de consumo da lactose (proveniente do PSL), com concentração inicial de 20 g/L, para o ensaio preliminar utilizando o consórcio microbiano com 3g de células/L, que foi mantido sob agitação de 180 rpm em um *shaker* a temperatura ambiente, durante 3 dias, com pH inicial de 5,5, em diferentes razões S/L. Observa-se que o aumento da S/L favoreceu a biolixiviação dos metais até o valor de 2,5 g/L tanto para o Co lixiviado quanto para o Li (Figura 5.3a). Contudo, a partir de 3 g/L, não houve crescimento celular, diferente das demais que apresentaram aproximadamente 6 g_{sv} de células/L ao final dos 3 dias. Este resultado condiz com o menor consumo de lactose para maiores razões S/L, conforme observado na Figura 5.3b, provavelmente pela toxicidade do meio. Portanto, por meio destes resultados preliminares, o ensaio de biolixiviação foi realizado usando pH inicial de 5,5 e razão S/L de 2,5 g/L.

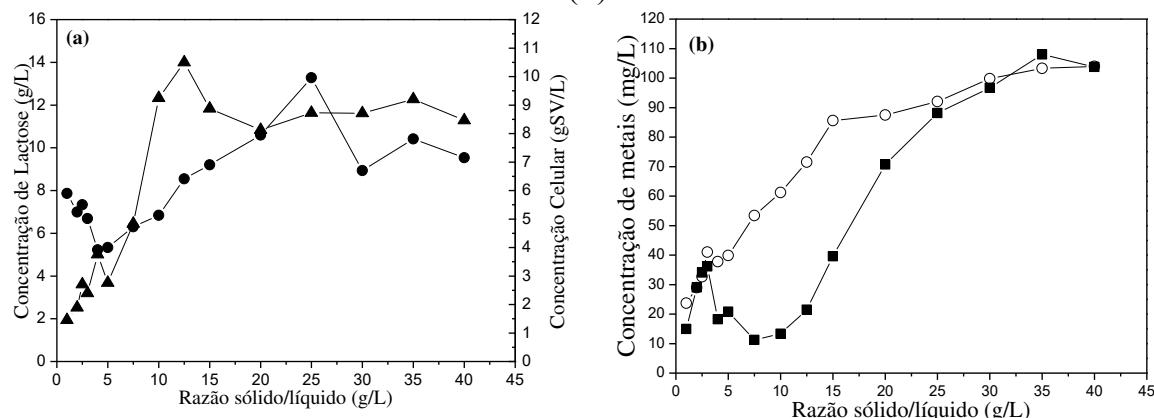
Figura 5.3- (a) Avaliação da recuperação de (■) lítio e (○) cobalto nas diferentes concentrações de óxido de Li e Co após três dias de biolixiviação. (b) Perfil do consumo da lactose nas diferentes concentrações de óxido após três dias de biolixiviação.



Na amostra composta pelos eletrodos:

A seguir, na Figura 5.4, são apresentados os perfis de concentração final de lactose, de células e dos metais Li e Co em função da razão S/L após 3 dias de processo, usando a amostra contendo ambos os eletrodos da LIB, concentração inicial de lactose do permeado do soro de leite de 20 g/L e pH inicial de 5,5.

Figura 5.4 - (a) Perfil (▲) da concentração final de lactose e do (●) crescimento celular nas diferentes razões S/L após três dias de biolixiviação e (b) avaliação da concentração de (■) lítio e (○) cobalto.



Na Figura 5.4a observa-se que, com relação à variação de concentração celular, à medida que se aumentou a razão S/L, houve um crescimento celular maior, atingido um valor máximo de 10 gsv de células/L para razão S/L de 25 g/L. A partir da densidade de polpa de 30 g/L, a concentração final de células ficou próxima a 7 gsv de células/L, indicando que o aumento

da razão S/L e, portanto, um maior teor de metais pesados no meio leva a um nível mais alto de toxicidade para os microrganismos.

Ainda na Figura 5.4a está exposta a variação das concentrações finais de lactose e de células em função da razão S/L após 3 dias de biolixiviação. A partir da análise da Figura 5. 4, se observa uma menor concentração final de substrato (1,94 e 5,01 g/L) para valores de razão S/L abaixo de 10 g/L. O menor consumo de lactose, concentração final de 14 g/L, ocorreu na densidade de polpa de 12,5 g/L. Para S/L entre 15 e 40 g/L não houve diferença em seu consumo, sendo que a concentração final de lactose atingiu um valor médio de 11,58 g/L.

Em termos de concentração dos metais, na Figura 5.4b observa-se que o aumento da razão S/L favoreceu a biolixiviação dos metais até o valor de 35 g/L para o Co lixiviado e 30 g/L para o Li. Este resultado condiz com o crescimento celular observado na Figura 5.4a, que foi limitado pela toxicidade do meio.

O aumento da concentração de metais lixiviados com o aumento da densidade de polpa e, ainda, os altos teores dos metais lixiviados (6 vezes maiores para o Co e 18 vezes maiores para o Li) usando a amostra composta pelos eletrodos do que os obtidos ao empregar nos ensaios da amostra contendo o óxido de Li e Co, mesmo com razão S/L consideravelmente superior, podem ser justificados pela presença do Cu que constitui o ânodo. Segundo Pathak; Morrison; Healy (2017), verificou-se que este metal favoreceu a recuperação por biolixiviação por bactérias acidófilas.

Após os três dias de biolixiviação nas condições descritas, observou-se que o pH inicial de 5,5 sofreu pouca mudança. Nas concentrações de bateria abaixo de 5 g/L, houve uma diminuição do pH para aproximadamente 5, o que pode ser explicado pela maior produção de ácidos orgânicos provinda do consórcio. Com o aumento da razão S/L houve também uma mudança no pH para próximo de 6, o que pode ser justificado pela ação dos ácidos produzidos pelos microrganismos que são consumidos na biossolubilização dos metais no meio, o que corrobora com a maior solubilização dos metais.

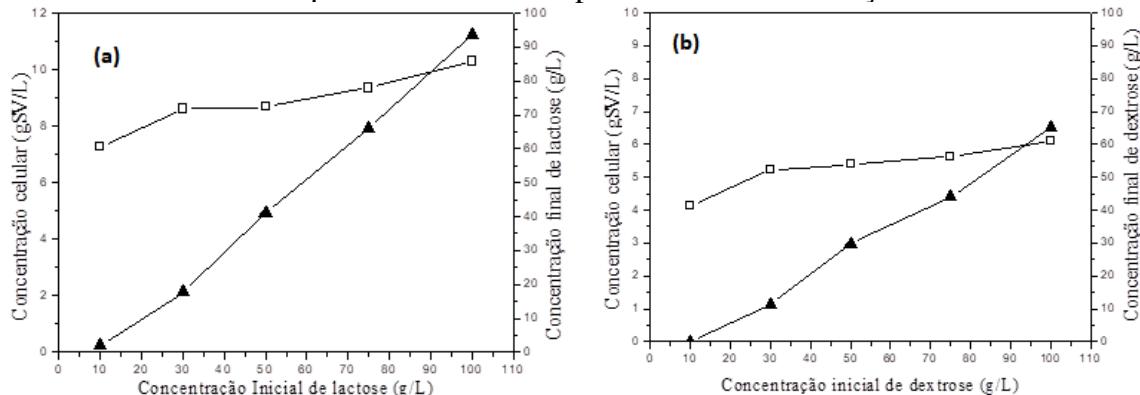
Como as maiores concentrações de metais lixiviados, Li e Co, foram obtidas para razões sólido/líquido a partir de 30 g/L e 35 g/L, respectivamente, e o objetivo principal é a obtenção máxima de ambos os metais, os resultados indicam que o processo de biolixiviação pode ser testado em um intervalo de tempo maior para razão S/L de 35 g/L.

5.5.2 – *Penicillium oxalicum*

I - Avaliação do substrato mais adequado em diferentes concentrações

As primeiras condições testadas para o *P. oxalicum* foram o tipo de fonte de carbono (dextrose ou lactose do permeado de soro de leite) e as concentrações que variaram de 10 g/L a 100 g/L. Na Tabela 5.5 encontra-se o resultado da variação do consumo dos substratos em função da concentração inicial destes durante os 4 dias de fermentação, sendo utilizada a amostra contendo os ânodos e os cátodos das LIBs.

Figura 5. 5 - Perfil de concentração final do (▲) substrato ((a) lactose proveniente do PSL e (b) dextrose), e do (□) crescimento celular nas diferentes concentrações iniciais dos respectivos substratos após 4 dias de fermentação



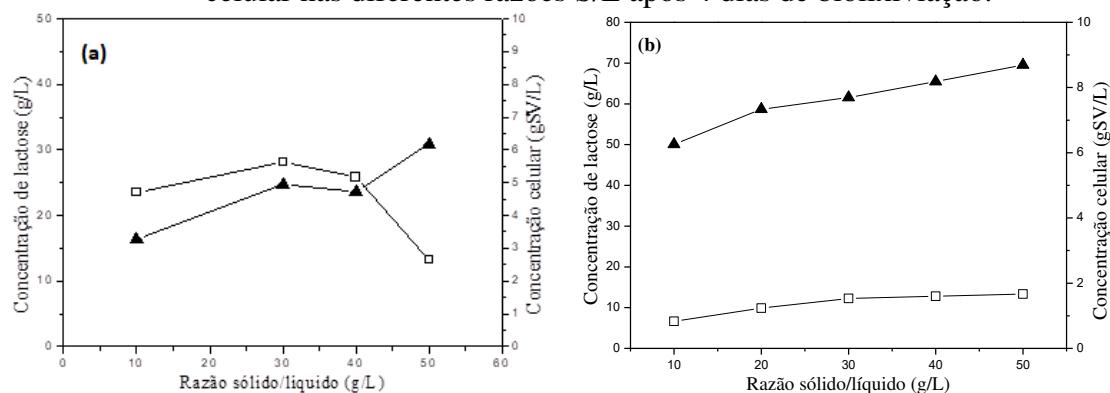
Pode-se observar que houve crescimento celular para ambos os substratos, e que quanto maior a concentração inicial de açúcar maior o desenvolvimento do microrganismo. Entretanto, nota-se também, que a utilização do permeado do soro do leite foi mais favorável, o que resultou em concentrações celulares superiores ao ensaio da dextrose, em torno de 1,68 vezes para todas as concentrações iniciais de fonte de carbono.

Com o intuito de avaliar a melhor interação do microrganismo com o resíduo de bateria, foi escolhida a concentração inicial de 100g/L de fonte de carbono que apresentou os maiores valores de concentração celular, para realizar ensaios em diferentes razões sólido/liquido. Na literatura, a maioria dos estudos utilizaram sacarose nas seguintes concentrações: Arimiri; Mousavi; Vaghmaei (2011) 90g/L, Amiri et al. (2012) 93,8g/L e Xu et al. (2009) 100 g/L.

II - Avaliação da razão sólido/líquido mais adequada

Na Figura 5.6 encontra-se o resultado da variação do consumo dos substratos e da concentração final de células em função da densidade de polpa inicial durante os 4 dias de biolixiviação, para permeado de soro de leite (5.6a) e dextrose (5.6b). E a Figura 5.7, ilustra a influência da razão S/L sobre a biossolubilização de Li e Co sob as mesmas condições de processo.

Figura 5.6 - Variação do consumo de (\blacktriangle) (a) lactose e (b) dextrose e do (\square) crescimento celular nas diferentes razões S/L após 4 dias de biolixiviação.

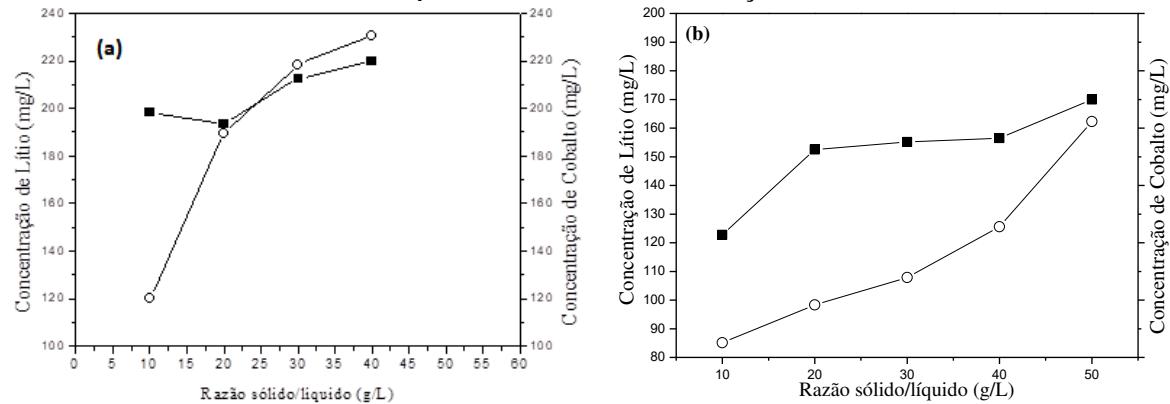


Pode-se observar na Figura 5.6a, utilizando a lactose (PSL) como fonte de carbono, que a concentração celular ao final dos 4 dias atingiu valores entre 5 e 6 gsv/L para razão S/L entre 10 g/L e 40 g/L. Com relação ao consumo de substrato, para razão S/L de 10 g/L 85 % da lactose foi consumida, e ao se elevar a concentração de sólidos (eletrodos de LIB), este consumo de 80% até 40 g/L de bateria. Para densidade de polpa de 50 g/L, houve um decaimento tanto no crescimento celular (2,5 gsv/L), quanto no consumo de lactose do PSL (70 %), provavelmente, provocado pela toxicidade do meio.

Na Figura 5.6b, utilizando a dextrose como substrato, houve um consumo menor da fonte de carbono (cerca de 40 %) para as razões S/L 10, 20 e 50 g/L. Para as razões S/L intermediárias, 30 e 40 g/L de bateria, o consumo foi de 60 % de dextrose. Por esses resultados somente, não é possível definir o comportamento do fungo nestas condições, uma vez que, como será mostrado a seguir, este consumo maior de dextrose não foi devido à biossolubilização dos metais propriamente dita, uma vez que nesta faixa de razão S/L não foi obtida a maior recuperação dos metais. Pode-se deduzir, que nesta situação, a célula pode ter utilizado o açúcar para sua manutenção

Também foi observado que, à medida que se aumentou a razão sólido/líquido o pH do lixiviante também aumentou após 4 dias de ensaio. Para o PSL houve uma variação de 6,78 até 8,30 no pH. O mesmo comportamento foi observado utilizando a dextrose, apresentando uma variação de 6,93 nas menores S/L até 8,4 nas maiores. Esse aumento é justificado pelo consumo dos ácidos para lixiviar mais metais.

Figura 5.7 - Variação da concentração de metais dissolvidos ((■) lítio e (○) cobalto) em função das diferentes razões sólido/líquido para o meio utilizando (a) lactose e (b) dextrose após três dias de biolixiviação.



Nos ensaios para definição da concentração da fonte de carbono, ou seja, sem a bateria, utilizando o permeado do soro do leite constatou-se que o pH final foi superior ao pH do ensaio com a dextrose que foi de 2,5, 65% menor que o do teste com PSL. A partir deste resultado, poder-se-ia esperar que a biolixiviação pelo *P. oxalicum*, usando dextrose fosse mais eficiente para a dissolução dos metais, pois, de acordo com Komonweeraket et al. (2015), a lixiviação de metais diminui significativamente com o aumento do pH. Entretanto, analisando a Figura 5.7, com relação à concentração de metais lixiviados, a quantidade de lítio lixiviado foi de 200 mg/L para 20 g/L de bateria e aumentou ligeiramente para 220 mg/L para 40 g/L. Para o ensaio com dextrose, a concentração de lítio aumentou gradativamente de 115 g/L para 260 g/L com o aumento da razão S/L de 20 para 50 g/L de bateria. Para a mesma concentração de 40 g/L de açúcar, que foi a recuperação máxima usando PSL, a concentração de Li foi de 180 mg/L para o ensaio com dextrose.

A recuperação usando PSL foi ainda superior para o cobalto, mostrando que, apesar do pH inicial menor nas amostras com dextrose, o cobalto foi beneficiado na biolixiviação com PSL. Usando o PSL, a concentração de Co lixiviado aumentou de 120 mg/L para 230 mg/L à medida que a razão S/L aumentou de 10 g/L para 40 g/L, sendo que para dextrose a concentração máxima foi de 23 mg/L para 50 g/L de bateria. Deve-se ressaltar que a lactose é

proveniente do permeado de soro de leite e os demais componentes podem ter sido usado como nutrientes, favorecendo o meio para desenvolvimento do fungo, por isso, os valores maiores de concentração celular e de recuperação dos metais, na mesma faixa de razão S/L para os ensaios com ambos os substratos.

Como o permeado do soro do leite é um coproducto da indústria de laticínios, possuindo um valor comercial inferior ao da dextrose e apresentou uma recuperação de Co superior, os ensaios seguintes foram realizados utilizando este como fonte de carbono, avaliando o processo de biolixiviação em um intervalo de tempo maior para razão S/L de 40g/L.

Vale ressaltar que, para ambos os meios observou-se a presença de ácido oxálico e cítrico e que estes ácidos orgânicos já foram abordados na literatura como lixiviantes (GOLMOHAMMADZADEH; RASHCHI; VAHIDI, 2017).

5.6 Ensaios de biolixiviação

Foram realizados ensaios de biolixiviação utilizando 4 inóculos diferentes a fim de estudar o comportamento destes na bioassolubilização de Lítio e Cobalto, a partir das melhores condições apresentadas nos testes preliminares, para o consórcio microbiano anaeróbio e para o fungo *P. oxalicum*, ou com base das condições descritas na literatura para bactérias acidófilas (*A. ferroxidans* e *A. thiooxidans*) que são mais empregadas nos estudos de biolixiviação.

No final de todos os processos de biolixiviação foi realizado um ensaio para determinar se houve bioacúmulo dos metais nas células dos microrganismos, como descrito no Item 4.2.6.10. Em nenhum dos experimentos houve variação na concentração dos metais após a metodologia ser aplicada, ou seja, não foi detectada bioassorção de Li ou Co.

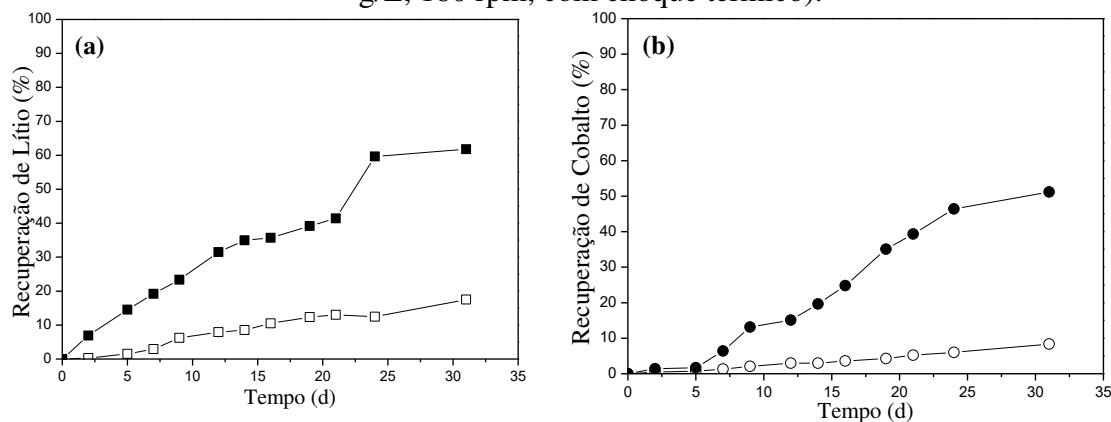
5.6.1 Consórcio Microbiano

A biolixiviação empregando o consórcio microbiano foi avaliada em três diferentes condições: (I) utilizando a amostra contendo o óxido de Li e Co com choque térmico, (II) utilizando a amostra composta pelos eletrodos com choque térmico e (III) utilizando a mesma amostra anterior só que sem choque térmico. Para todos os ensaios, amostras de controle foram produzidas utilizando o mesmo meio e condições, mas sem o inóculo, com o intuito de averiguar apenas as interações abióticas.

I) Amostra contendo óxido de Li e Co com choque térmico

Na Figura 5.8 são apresentados os resultados da biolixiviação do Cobalto e do Lítio a partir amostra contendo apenas o óxido, utilizando o consórcio microbiano com aplicação do choque térmico, pH inicial de 5,5, razão sólido/líquido de 2,5 g/L, 180 rpm e concentração inicial de lactose de PSL de 20 g/L, durante 31 dias.

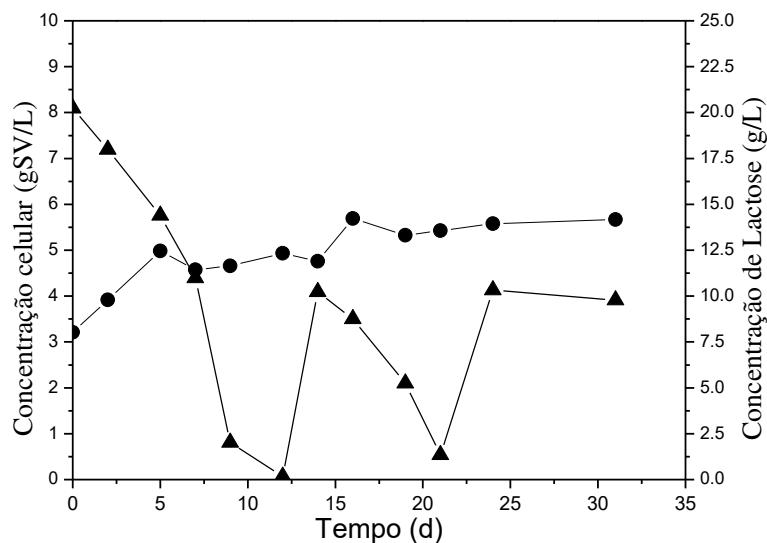
Figura 5.8 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 2,5 g/L, 180 rpm, com choque térmico).



A partir da análise dos perfis de recuperação dos metais apresentados na Figura 5.8, pode-se observar que, após o 25º dia, a concentração de Li e Co dissolvido no meio manteve-se praticamente constante, obtendo um valor final de 61,8% e 51,2% respectivamente. Além disso, a aplicação do consórcio microbiano mostrou-se eficiente, em vista que obteve uma recuperação superior ao ensaio sem o inóculo: 44,3% superior para o Li e 42,8% para o Co.

A Figura 5.9 apresenta os resultados da variação de concentração de lactose e da concentração celular na biolixiviação contendo a amostra composta por óxido de Li e Co, utilizando o consórcio microbiano.

Figura 5.9 - Variação da (▲) concentração de lactose (g/L) e da (●) concentração celular (gSV/L) no ensaio de biolixiviação da amostra contendo o óxido de Li e Co, utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 2,5 g/L, 180 rpm, com choque térmico).



Observa-se um crescimento celular de 77% até o 16º dia, e após manteve-se praticamente constante até o final do processo. Deve-se destacar que, à medida que a concentração de substrato estava próxima de 0 g/L o meio foi alimentado ajustando a concentração de 10 g/L de lactose, de forma que a depleção de fonte de carbono não prejudicasse a atividade do microrganismo. Entretanto, optou-se por ajustar a concentração para 10 g/L durante o processo, para que não houvesse inibição do consórcio microbiano pelo substrato (MOREIRA et al., 2017).

A partir da análise das Figuras 5.8 e 5.9, percebe-se que houve uma desativação dos microrganismos presentes no consórcio pelo aumento da concentração de metais no meio, uma vez que não houve consumo do substrato e pouca biossolubilização dos metais a partir do 25º dia.

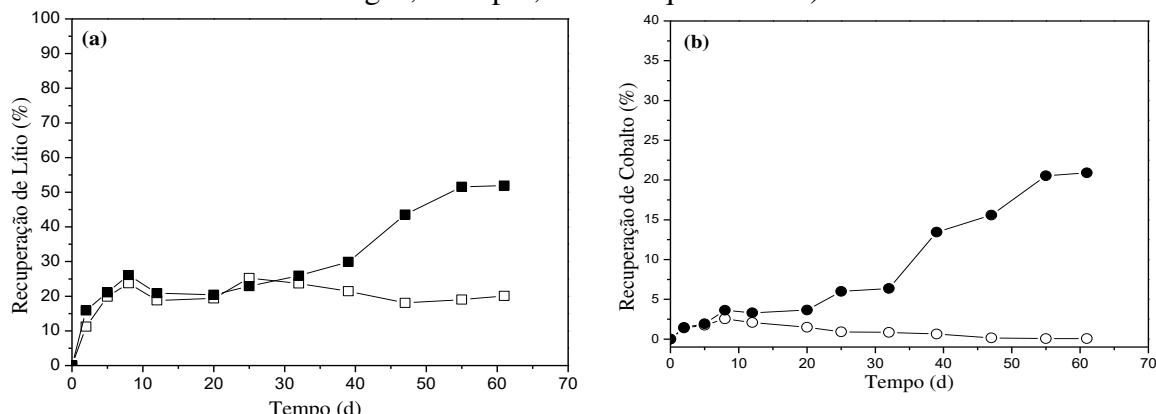
II) Amostra contendo ambos os eletrodos com aplicação do choque térmico

Com o intuito de investigar a biolixiviação com uma amostra que se aproxima à usada na prática, fez-se análise da amostra mais completa da LIB, que deve ser processada em um processo de reciclagem e recuperação de seus componentes. Portanto, usou-se ambos os eletrodos (ânodo e cátodo), sendo submetidos ao processo de moagem e de diminuir o número de operações no processamento mecânico. Além disso, o cobre presente na própria bateria

favorece a biolixiviação como descrito na literatura (PATHAK; MORRISON; HEALY, 2017) e comprovado nos testes preliminares (Item 5.5.1).

O ensaio utilizou o consórcio microbiano submetido previamente ao choque térmico para biolixiviação do cobalto e lítio a partir da contendo ambos os eletrodos. As condições experimentais foram pH inicial de 5,5, razão sólido/líquido de 35g/L, 180 rpm e 20 g/L de lactose inicial proveniente do permeado do soro do leite em pó, durante 61 dias, e os resultados são apresentados na Figura 5.10 e comparados com o ensaio controle (sem microrganismo).

Figura 5.10 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 35 g/L, 180 rpm, com choque térmico).

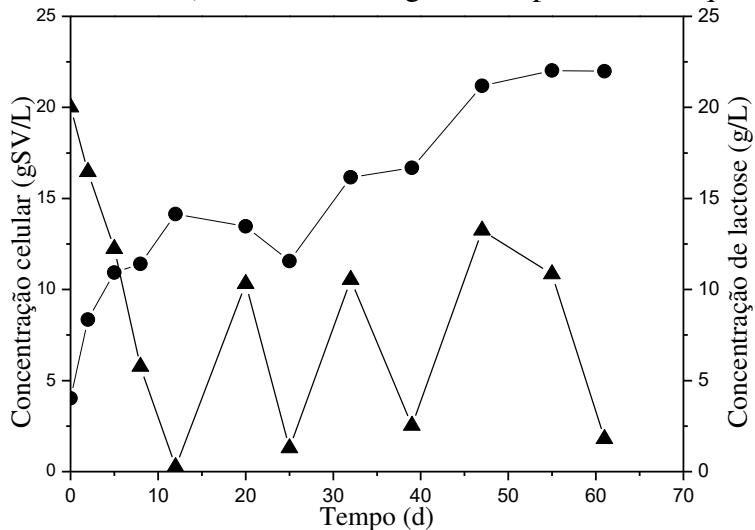


Como demonstrado na Figura 5.10, pode-se observar que não houve alteração significativa na recuperação do Li e Co após o 55º dia, obtendo um valor final de 51,9% e 20,9% respectivamente. Comparando ao ensaio controle, a aplicação do consórcio microbiano mostrou-se eficiente, atingindo uma recuperação 2,6 vezes superior para o Li e 209 vezes maior para o Co.

Em comparação com o ensaio utilizando a óxido de Li e Co, houve um decaimento na recuperação de ambos os metais, mesmo para um tempo em que as células se mantiveram ativas na biolixiviação superior (2 vezes maior). Entretanto, a densidade de polpa para a amostra composta pelos eletrodos foi de 35 g/L (14 vezes maior) e contém os dois eletrodos presentes nas LIBs, enquanto que para o ensaio (I) empregou-se apenas o óxido contido no ânodo. A condição avaliada com a amostra contendo os eletrodos permite que uma quantidade de baterias a ser processada seja maior.

A variação de concentração de lactose e da concentração celular na biolixiviação do Co e do Li contendo ambos os eletrodos e utilizando o consórcio microbiano esta apresentada na Figura 5.11.

Figura 5. 11 - Variação da (▲) concentração de lactose (g/L) e da (●) concentração celular (gSV/L) no ensaio de biolixiviação da amostra contendo ambos os eletrodos utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 35 g/L, 180 rpm, com choque térmico).



O crescimento celular ocorreu até o 47º dia, e manteve-se constante até o último dia. A manutenção da concentração do substrato foi realizada da mesma maneira como no ensaio utilizando o óxido de Li e Co, assim à medida que a concentração de substrato estava próxima de 0 g/L o meio era alimentado para uma concentração de 10 g/L, e verifica-se que o consórcio ainda se mantinha ativo nestas condições, pois diferentemente, do ensaio (I), a lactose foi praticamente consumida após a última adição do PSL ao meio. Portanto, este ensaio é indicativo de que o uso do consórcio é promissor, e deve ser investigado por um período maior de processo.

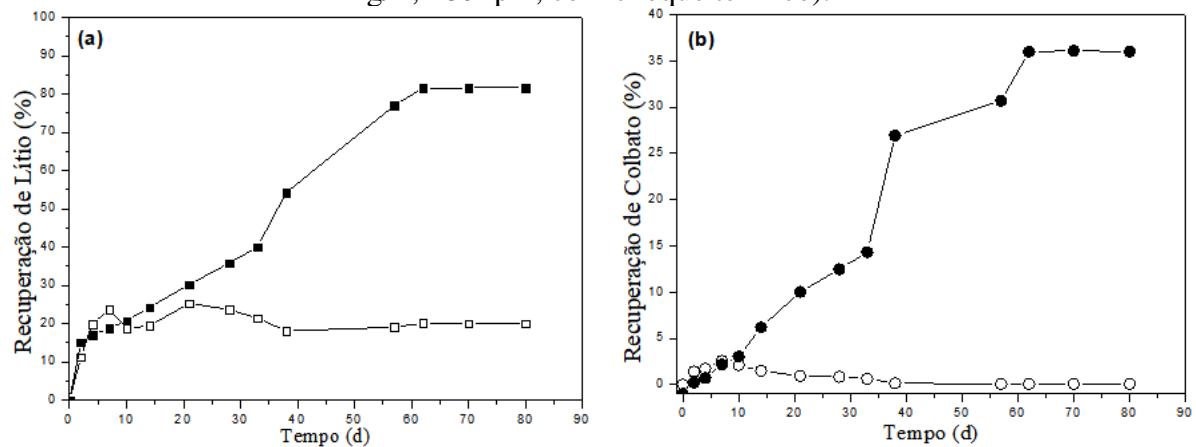
III) Amostra composta pelos eletrodos sem aplicação do choque térmico

Com relação a submeter o consórcio microbiano ao choque térmico por 30 min a 97°C, esta opção foi adotada, visto que é uma alternativa para eliminar microrganismos não formadores de esporos, portanto, possivelmente, menos resistentes a condições extremas (MOREIRA et al., 2017), no caso da biolixiviação, devido à toxicidade dos metais da LIB e ao pH que pode atingir valores baixos ao longo do processo.

Para verificar a influência do choque térmico do consórcio microbiano na biolixiviação de metais como Li e Co, aplicou-se a amostra composta pelos eletrodos e utilizando o inóculo sem choque térmico, pH inicial de 5,5, razão sólido/líquido de 35g/L, 180 rpm e 20 g/L de

lactose inicial (PSL). Na Figura 5.12 são apresentados os resultados do ensaio em andamento da biolixiviação durante os 80 dias.

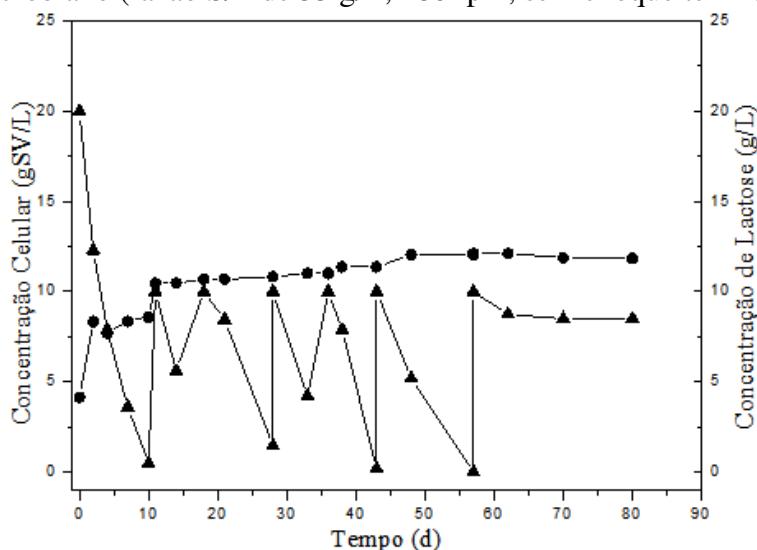
Figura 5.12 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 35 g/L, 180 rpm, com choque térmico).



O ensaio de biolixiviação sem o choque térmico terminou com 80 dias de experimento, e a análise dos perfis de recuperação dos metais são apresentados na Figura 5.12. Percebe-se que não há variação da concentração dos metais após o 62º dia, assim como no ensaio com o choque térmico, obtendo um valor 81,5% e 36,01%, para o Li e o Co respectivamente. Em comparação com o ensaio utilizando a mesma amostra (eletrodos), mas com aplicação do choque térmico, houve um aumento na recuperação de ambos os metais, considerando os valores finais do ensaio sem choque térmico, foi de 57,07% maior para o Li e 73,46% maior para o Co. Consequentemente, se comparado com o teste controle, a diferença para este ensaio, no mesmo período de tempo (com ou sem choque térmico), a recuperação foi ainda mais elevada: 4,05 vezes maior com inóculo para o Li e 361 vezes para o Co. Desta forma, este ensaio mostra que a etapa de pré-tratamento do inóculo pode ser eliminada.

A Figura 5.13 apresenta os resultados da variação de concentração de lactose e da concentração celular na biolixiviação do Co e do Li contendo a amostra contendo os eletrodos utilizando o consórcio microbiano.

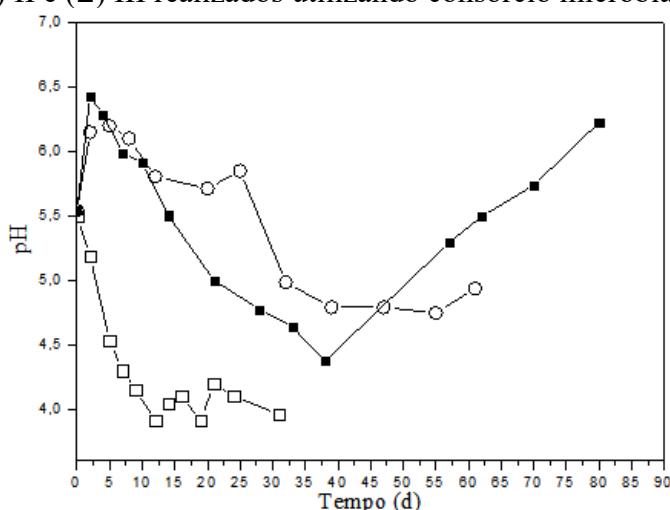
Figura 5.13 - Variação da (\blacktriangle) concentração de lactose (g/L) e da (\bullet) concentração celular (gSV/L) no ensaio de biolixiviação da amostra de ambos os eletrodos utilizando consórcio microbiano (razão S/L de 35 g/L, 180 rpm, sem choque térmico).



Pela Figura 5.13, observa-se que houve um baixo crescimento celular somente até o 14º dia, diferentemente do ensaio em que se usou o inóculo pré-tratamento termicamente. Este comportamento indica que a eficiência do consórcio na biossolubilização não esteve relacionada ao seu crescimento. Assim como a biolixiviação continua mesmo após o crescimento ter cessado, o consumo de lactose também se manteve.

Na Figura 5.14 está exposta a variação do pH ao longo dos ensaios de biolixiviação realizados com o consórcio microbiano: (I), (II) e (III).

Figura 5.14 - Variação do pH ao longo do tempo de biolixiviação para os três ensaios (\square) I, (\circ) II e (\blacksquare) III realizados utilizando consórcio microbiano.



Nota-se que nos ensaios II e III, com a amostra contendo ambos os eletrodos, houve um pequeno aumento no pH nos tempos iniciais (5 dias), o que pode estar relacionado ao consumo dos ácidos presentes no meio para solubilização dos metais. Após esse pico, todas os ensaios apresentaram decréscimo do pH, ou seja, a produção de ácidos orgânicos pelo consórcio fez com que este diminua, até que com um tempo maior, se torne estável. No ensaio I, contendo apenas o óxido de Li e Co, verifica-se a diminuição do pH constantemente.

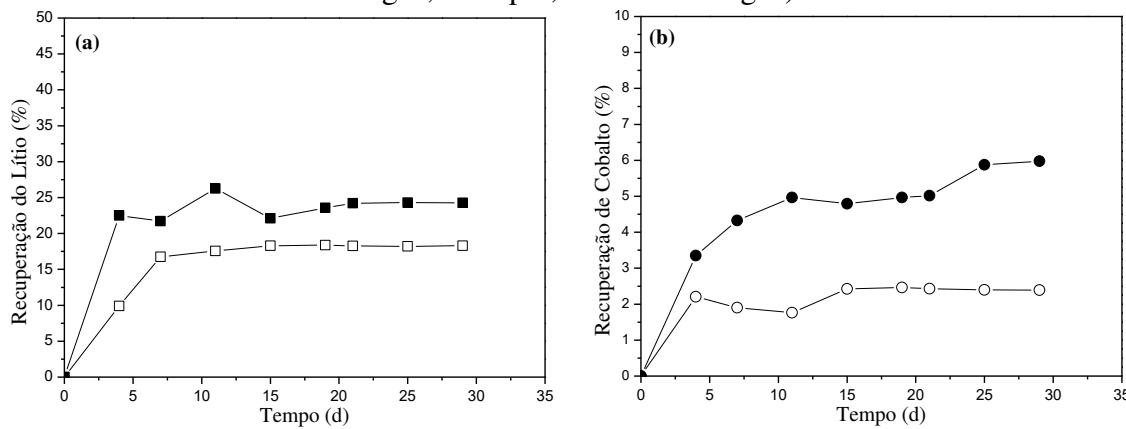
A aplicação do consórcio microbiano na biolixiviação de metais pesados mostrou-se eficiente, apresentando em todas as condições recuperação acima de 50% para o Li e 20% para o Co. Na literatura não há estudos aplicando esse tipo de inóculo. O ensaio (I) utilizando apenas o óxido de Li e Co apresentou os melhores resultados no menor tempo (aproximadamente 30 dias), contudo utilizou uma quantidade menor de resíduo (razão S/L de 2,5g/L), e um número menor de metais, já que foi aplicado apenas o óxido de lítio e cobalto. A avaliação do consórcio microbiano sem choque térmico e com razão S/L de 35 g/L (Ensaio III) apresentou a maior recuperação de Li (81,5%), durante 62 dias, sendo superior ao ensaio I. Além disso, a etapa do choque térmico pode ser desconsiderada, uma vez que a quantidade de metais lixiviados no ensaio sem aplicação desse tratamento apresenta valores superiores.

5.6.2 *Penicillium oxalicum*

A partir dos ensaios preliminares para definir as condições iniciais para a biolixiviação empregando o *Penicillium oxalicum*, foi realizado o ensaio utilizando a amostra composta pelos eletrodos, sendo que a amostra a ser lixiviada foi adicionada somente após 4 dias de crescimento em meio líquido do microrganismo com uma concentração inicial de 100 g/L de lactose proveniente do permeado do soro de leite, para garantir a produção de ácidos orgânicos (SANTHIYA; TING, 2005; YU; TING, 2009; AMIRI; MOUSA VI; YAGHMAEI, 2011; AMIRI et al., 2012).

As condições do experimento foram pH inicial de 5,5, razão sólido/líquido de 40g/L, a 180 rpm, durante 29 dias e concentração inicial lactose proveniente do PSL foi de 100 g/L. Para avaliar a eficiência da ação do fungo, amostras de controle foram produzidas utilizando o mesmo meio e condições, mas sem o inóculo. Os resultados estão apresentados na Figura 5.15.

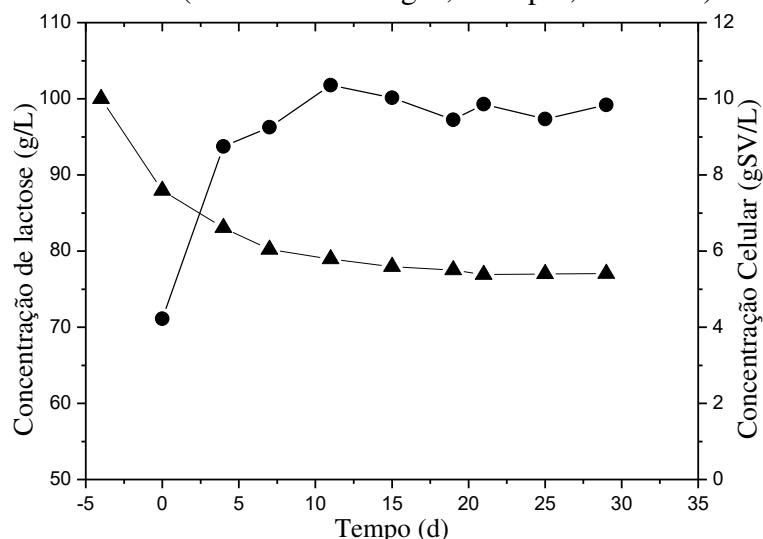
Figura 5.15 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando o *Penicillium oxalicum* (razão S/L de 40 g/L, 130 rpm, com PSL 100g/L).



Na análise da recuperação de ambos os metais apresentados na Figura 5.15, nota-se que a dissolução destes aconteceu nos primeiros 4 dias, mantendo-se constante, sendo que para o Li, obteve-se uma recuperação de 24%, apenas 33% maior que do que a apresentada pela amostra sem inóculo. Enquanto isso, a biolixiviação do Co continuou mesmo que em proporções pequenas (a variação do 4º para o último dia foi de aproximadamente 1,7%), apresentando um valor final de 6%, 150% superior ao apresentado pela amostra sem o inóculo.

Como apresentado na Figura 5.16, houve consumo de lactose somente até o 7º dia, sendo que crescimento celular ocorreu até o 11º dia, e se manteve constante ao longo dos 30 dias. Não houve necessidade de alimentação já que ainda havia oferta de substrato.

Figura 5.16 - Variação da (▲) concentração de lactose (g/L) e da (●) concentração celular (gSV/L) no ensaio de biolixiviação com a amostra composta pelos eletrodos utilizando o *P. oxalicum* (razão S/L de 40 g/L, 130 rpm, com PSL).



A literatura indica que os fungos são promissores, como indicado a seguir, com recuperações superiores a 90% para Li e, em menor grau, para o Co. Por isso, melhoras nas condições de processo, como reduzir a razão S/L, devem ser investigadas para o emprego do *P. oxalicum*, que até o momento, não foram encontrados outros estudos que o utilizaram.

Enquanto que Rezza et al. (1997), recuperaram Lítio a partir de espodumênio (6,9% Li₂O) por biolixiviação utilizando diferentes microrganismos heterotróficos separadamente: *Penicillium purpurogenum*, *Aspergillus niger* e *Rhodotorula rubra*. Os ensaios foram realizados utilizando uma razão S/L de 6,66 g de mineral moído/L. Os melhores resultados de lítio extraído e acumulado na biomassa durante 30 dias de biolixiviação com *P. purpurogenum* foi de 10,8% (w/w) e 26 ppm no meio lixiviante. Utilizando o *R. rubra* obteve-se 16,7% (w/w) de Li acumulado em biomassa e apresentou uma concentração de 1,53 ppm no meio. O *Aspergillus niger* foi capaz de 60% (w/w) e 75 ppm no meio, apresentando os melhores resultados.

Horeh; Mousavi; Shojaosadati (2016) avaliaram uma rota bio-hidrometalúrgica baseada na atividade fúngica de *Aspergillus niger* para a desintoxicação e recuperação de baterias de íons de lítio. A eficiência máxima de recuperação foi de 95% para Li e 45% para Co com densidade de polpa de 1%, com duração de 60 dias (30 de pré-adaptação e 30 de ensaio). Os resultados da HPLC indicaram que o ácido cítrico, em comparação com outros ácidos orgânicos detectados (ácido glicólico, oxálico e málico), teve um papel importante na eficácia da biolixiviação usando *A. niger*.

Enquanto que Horeh; Mousavi; Baniasadi (2018), utilizaram o *Aspergillus niger*, na recuperação de vários metais a partir de baterias, como Li e Co, em várias condições. A eficiência máxima de recuperação foi de 100% para Li e 38% para Co utilizando uma densidade de polpa de 1%. Contudo, houve etapas de pré-adaptação do fungo e o tempo do processo de biolixiviação durou 30 dias.

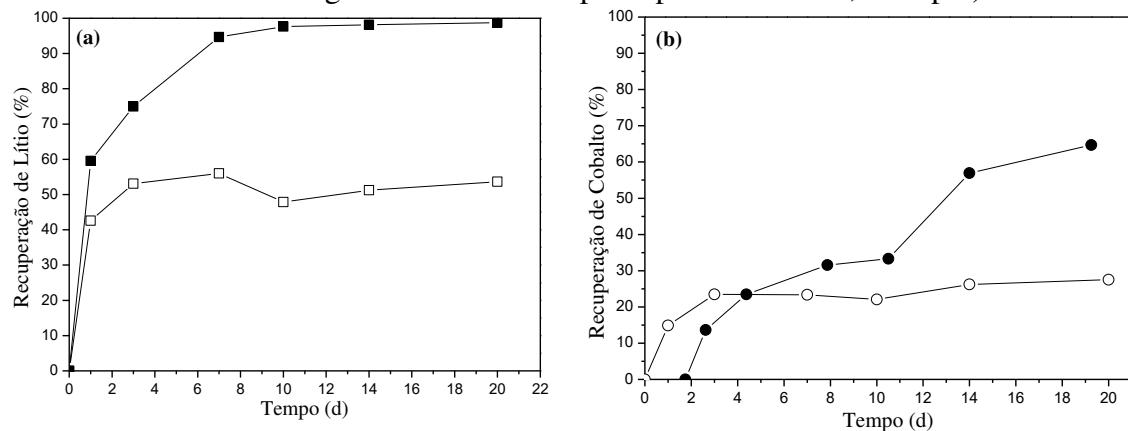
Em comparação com esses autores citados, o ensaio com *Penicillium oxalicum* apresentou uma recuperação inferior para ambos os metais. Contudo, não houve uma etapa de pré-adaptação do fungo, e a razão sólido/líquido empregada foi 4 vezes maior, demonstrando o potencial de biolivixiviação desses metais pelo microrganismo.

5.6.3 *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Os resultados do ensaio de biolixiviação utilizando o *A. ferrooxidans* estão apresentados na Figura 5.17. O tempo total do ensaio foi de 21 dias, com a amostra contendo

os eletrodos, razão sólido/líquido de 5 g/L, pH inicial de 1, 180 rpm, em temperatura ambiente. Além disso, amostras de controle foram produzidas utilizando o mesmo meio e condições, mas sem o inóculo, com o intuito de averiguar as interações abióticas.

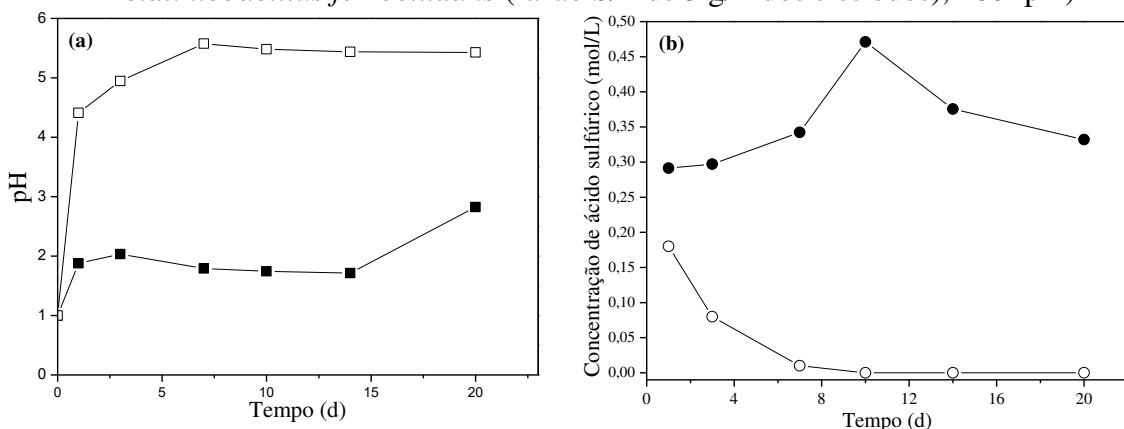
Figura 5.17 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando *Acidithiobacillus ferrooxidans* (razão S/L de 5 g/L da amostra composta pelos eletrodos, 180 rpm)



Na Figura 5.17 (a), nota-se que a dissolução do Li no meio lixiviente pela ação da bactéria ocorreu logo nos primeiros 10 dias, ao mesmo tempo que a concentração na amostra controle manteve-se constante após o 3º dia. Assim o Li, obteve uma recuperação de 98,75%, 83,33% maior que a amostra sem inóculo. Enquanto isso, a biolixiviação do Co continuou até o final do ensaio, apresentando um valor final de 64,70%, 132% superior à amostra controle, que exibiu o mesmo comportamento apresentado pelo lítio e manteve-se constante após o dia 3.

A variação do pH e da concentração de ácido sulfúrico ao longo do ensaio de biolixiviação com a *A. ferrooxidans* está representada na Figura 5.18.

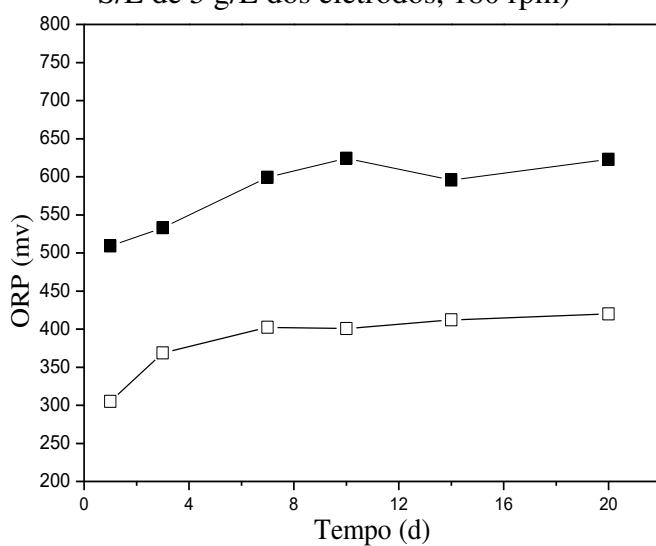
Figura 5.18 - Variação do pH ((□) sem inóculo (■) com inóculo) e do ácido sulfúrico ((○) sem inóculo (●) com inóculo) ao longo do tempo de biolixiviação, utilizando *Acidithiobacillus ferrooxidans* (razão S/L de 5 g/L dos eletrodos), 180 rpm)



Nota-se que há um aumento do pH ao longo do teste, contudo é menos acentuado para a amostra com inóculo mantendo-se aproximadamente em 1,83, que é o pH inicial de cultivo do microrganismo. Além disso, há a produção de ácido sulfúrico, o que justifica a manutenção do pH mesmo enquanto é consumido para dissolução dos metais. As amostras com o branco, logo no primeiro dia de amostragem, apresentou um consumo do ácido, que foi utilizado para corrigir o pH inicial do meio para 1. A partir do 11º dia, para o ensaio de biolixiviação, houve um decréscimo da concentração de ácido sulfúrico, e após o 15º, um aumento no valor do pH, o que está relacionado a inativação das bactérias, pela alta concentração de metais dissolvidos no meio.

Um dos fatores que explicam a constante aplicação do *A. ferrooxidans* na biolixiviação é a capacidade da bactéria de oxidar o Fe²⁺ para obter energia e assim biodissolubilizar os metais no meio (HOQUE; PHILIP, 2011). A Figura 5.19 apresenta variação do potencial de oxirredução do microrganismo ao longo do tempo. Observa-se que há um crescimento até o 10º dia, mantendo-se constante até o final do ensaio, e também que o meio controle apresenta um valor de ORP, aproximadamente, 40 % inferior, o que explica a menor recuperação dos metais nas amostras de controle.

Figura 5. 19 - Variação do potencial de oxirredução das amostras ((□) sem inóculo (■) com inóculo) ao longo do tempo de biolixiviação, utilizando *Acidithiobacillus ferrooxidans* (razão S/L de 5 g/L dos eletrodos, 180 rpm)



Os resultados deste trabalho foram superiores comparados com os índices de recuperação de resultados encontrados da literatura, de estudos em que a *A. ferrooxidans* não foram submetidas a etapa de adaptação com aumento crescente da concentração de bateria. Valores superiores aos obtidos neste trabalho, geralmente, estão relacionados a ensaios que usaram a fase de adaptação.

Mishra et al. (2008), também utilizaram *Acidithiobacillus ferrooxidans*, na recuperação de Li e Co a partir de baterias de íons de lítio. O microrganismo foi submetido a uma etapa de adaptação de aproximadamente 2 semanas e além de utilizar Fe²⁺ como fonte de energia, foi acrescentado S⁰. Para uma razão S/L de 5g/L obteve uma recuperação de 65% de cobalto e 10% para o lítio em um tempo de 15 dias.

Contudo Xin et al. (2009), aplicaram um sistema de co-cultura de *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans* para lixivar as baterias de íon de lítio usadas e obtiveram uma eficiência máxima de lixiviação de mais de 90% para Co e 80% para Li, utilizando uma razão S/L de 10g/L. Esse resultado superior para o Cobalto e a maior razão S/L talvez se deva a ação conjunta das acidófilas e dos substratos da fonte de energia que resultam na produção de diversos produtos metabólicos, como exopolímeros que, consequentemente, contribuem com diversos mecanismos de lixiviação.

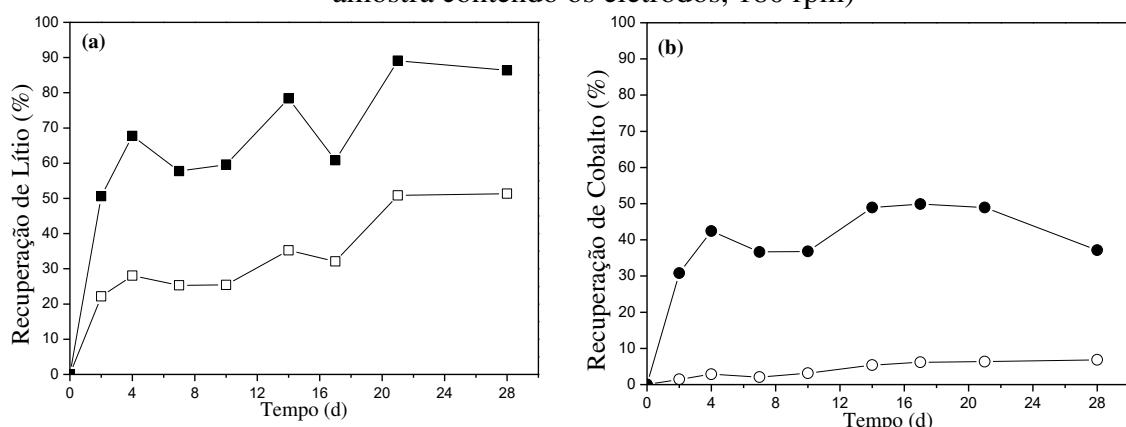
O resultado superior de recuperação, sem a necessidade de uma pré-adaptação da bactéria, pode ser explicado pela presença da folha de cobre encontrada no cátodo da bateria, uma vez que Zeng et al. (2012) utilizaram cobre como catalisador na biolixiviação do LiCoO₂.

a partir de baterias de íons lítio, o que resultou em mais dissolução no lixiviado. A biolixiviação foi realizada com *A. ferrooxidans*. A presença de cobre otimizou o processos e recuperação de quase 100% do cobalto em 6 dias, enquanto que nos experimentos realizados sem a presença de íons cobre a extração foi inferior à 50% mesmo após 10 dias. O primeiro mecanismo catalítico apresentado pelos íons Cu^{2+} é devido à formação de CuS na superfície do resíduo, que foi então dissolvido por Fe^{3+} . No segundo, sulfeto de ferro e enxofre elementar são formados na superfície mineral durante a biolixiviação, que se torna uma barreira no processo, contudo os íons de cobre catalisam a bio-oxidação do enxofre elementar e, assim, eliminam a barreira.

5.6.4 *Acidithiobacillus thiooxidans*

A biolixiviação empregando o *Acidithiobacillus thiooxidans* foi avaliada utilizando ambos os eletrodos, após 21 dias de crescimento do microrganismo com uma concentração inicial de 10g/L de enxofre como fonte de energia e pH 1. Na Figura 5.20, estão apresentados os resultados do ensaio utilizando uma razão sólido/líquido de 5/L, 180 rpm durante 28 dias. Assim como para a *A. ferrooxidans*, o ensaio foi acompanhando com o ensaio controle, sem o inóculo.

Figura 5. 20 - Recuperação de metais (a) Lítio, (■) com inóculo (□) sem inóculo, e (b) Cobalto, (●) com inóculo (○) sem inóculo, utilizando *A. thiooxidans* (razão S/L de 5 g/L da amostra contendo os eletrodos, 180 rpm)

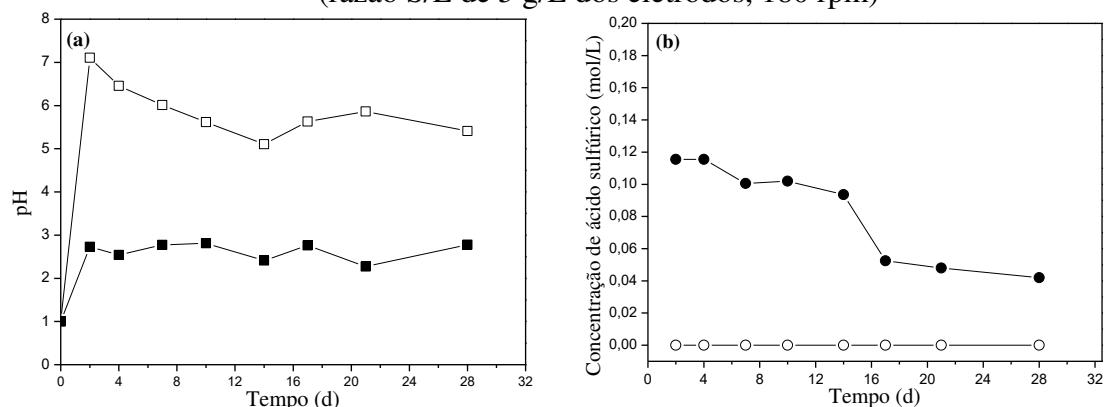


A partir da análise da Figura 5.20 (a), nota-se que a dissolução de aproximadamente 70% do Li no meio lixiviante aconteceu nos primeiros 5 dias. A amostra controle dissolveu o lítio com uma cinética mais lenta. Assim para o Li, a recuperação final foi de 86%, 1,68 vezes

maior que a amostra sem inóculo. Enquanto isso na Figura 5.20 (b), a biolixiviação do Co ocorreu até o 13º dia, apresentando um valor final de 37%, 5,28 vezes superior à amostra controle, manteve-se constante após o dia 4.

A variação do pH e da concentração de ácido sulfúrico ao longo do ensaio de biolixiviação com o *A. thiooxidans* são apresentados na Figura 5.21. Nota-se o um aumento do pH com o andamento do teste, contudo é mais acentuado para a amostra com inóculo mantendo-se aproximadamente em 2,63, que é o pH próximo ao inicial do cultivo do microrganismo. Além disso, assim como para o *A. ferrooxidans* há a produção de ácido sulfúrico, o que justifica a manutenção do pH mesmo enquanto é consumido para dissolução dos metais. A partir do 9º dia houve um decréscimo da concentração de ácido, o que está relacionado a inativação das bactérias, pela alta concentração de metais dissolvidos no meio. Após esse dia, provavelmente a solubilização dos metais no meio se dá pela ação do ácido. Ao contrário do teste com *A. ferrooxidans*, não houve aumento do pH, mantendo-se em torno de 2,5.

Figura 5. 21 - Variação do pH ((□) sem inóculo (■) com inóculo) e do ácido sulfúrico ((○) sem inóculo (●) com inóculo) ao longo do tempo de biolixiviação, utilizando *A. thiooxidans* (razão S/L de 5 g/L dos eletrodos, 180 rpm)



Em comparação com o *A. ferrooxidans*, o *A. thiooxidans* obteve resultados inferiores de recuperação para ambos os metais: 167% menor para o Li e 75,68% para o Co, o que pode ser explicado pela incapacidade do *A. thiooxidans* de oxidar Fe²⁺, para obtenção de energia, ficando limitado apenas ao uso do S⁰.

A bactéria acidófila, *A. thiooxidans*, também tem sido estudada e os valores encontrados na literatura são superiores a este estudo, justificados pela fase de adaptação da bactéria previamente à biolixiviação propriamente dita.

Gholami; Borghei; Mousavi (2011) estudaram a recuperação de metais a partir de um catalisador de processamento gasto de uma refinaria de petróleo. *Acidithiobacillus ferrooxidans*

e *Acidithiobacillus thiooxidans* foram usados para extrair Al, Co, Mo e Ni dos catalisadores, que passaram por um pré-tratamento. Os resultados mostraram que após a biolixiviação com *A. ferrooxidans* na presença de sulfato ferroso, obteve-se extrações máximas de 63% de Al, 96% de Co, 84% de Mo e 99% de Ni após 30 dias em pH 1,8–2,0. No entanto, as maiores extrações utilizando *A. thiooxidans* na presença de enxofre foram 2,4% de Al, 83% de Co, 95% de Mo e 16% de Ni após 30 dias a pH 3,9-4,4, utilizando 30 g/L de densidade de polpa.

Em estudos anteriores, Xin et al. (2016) avaliaram a recuperação de metais valiosos como Li e Co de baterias de íons de lítio com uma densidade de polpa de 1 g/L. Os resultados mostraram a eficiência máxima de extração de Li foi de 98% com *Acidithiobacillus thiooxidans* sem adaptação do microrganismo.

4.6.5 Considerações finais da Biolixiviação

A partir dos resultados obtidos compõe-se a Tabela 5.6, com os parâmetros utilizados e as respostas obtidas.

Tabela 5. 6 - Resultados para todos os processos de biolixiviação utilizados no presente trabalho.

Microrganismo	Amostra	pH	Razão S/L (g/L)	C _f onte C ³ (g/L)	Tempo (d)	Li (%)	Co (%)
<i>A. ferrooxidans</i>	Eletrodos	1	5	-	20	99	65
<i>A. thiooxidans</i>	Eletrodos	1	5	-	28	70	86
Consórcio CCT ¹	Óxido	5,5	2,5	20	31	61,8	51,2
Consórcio CCT ¹	Eletrodos	5,5	35	20	61	51,9	20,9
Consórcio SCT ²	Eletrodos	5,5	35	20	62	81,52	36,09
<i>P. oxalicum</i>	Eletrodos	5,5	40	100	29	24	6

¹CCT - Com choque térmico; ²SCT - Sem choque térmico; ³C_fonte C – Concentração inicial da fonte de carbono (PSL);

Os resultados mais promissores de recuperação dos metais foram obtidos nos ensaios com as bactérias acidófilas, evidenciando a popularização desses microrganismos nos ensaios de biolixiviação de Li e Co na reciclagem de LIBs de outros lixos eletrônicos. Entretanto, os resultados deste estudo indicam que o uso do consórcio microbiano merece ser investigado. Em comparação com as culturas puras uma vez que os consórcios são mais eficientes em resistir a

contaminação por outras espécies (LAPARA et al., 2002), eliminado a etapa de esterilização do meio e todos os cuidados de assepsia que as culturas puras exigem.

Além disso, eles podem ser capazes de sobreviver por longos períodos de limitação de substrato devido à capacidade de compartilhar metabólitos dentro da comunidade (FAY, 1992), pois quando os nutrientes se tornam limitados, há uma mudança na rota metabólica do meio microbiano, e uma espécie minoritária presente se torna mais ativa, garantindo a sobrevivência do consórcio (LAPARA et al., 2002). Ademais, a cultura mista, como pode ser encontrada em diversos processos (biocombustíveis, tratamento de efluentes, bioativos em geral), pode realizar tarefas ainda mais complicadas e suportar ambientes mais mutáveis do que as culturas puras, representando uma nova fronteira para a biotecnologia (BRENNER; YOU; ARNOLD, 2008)

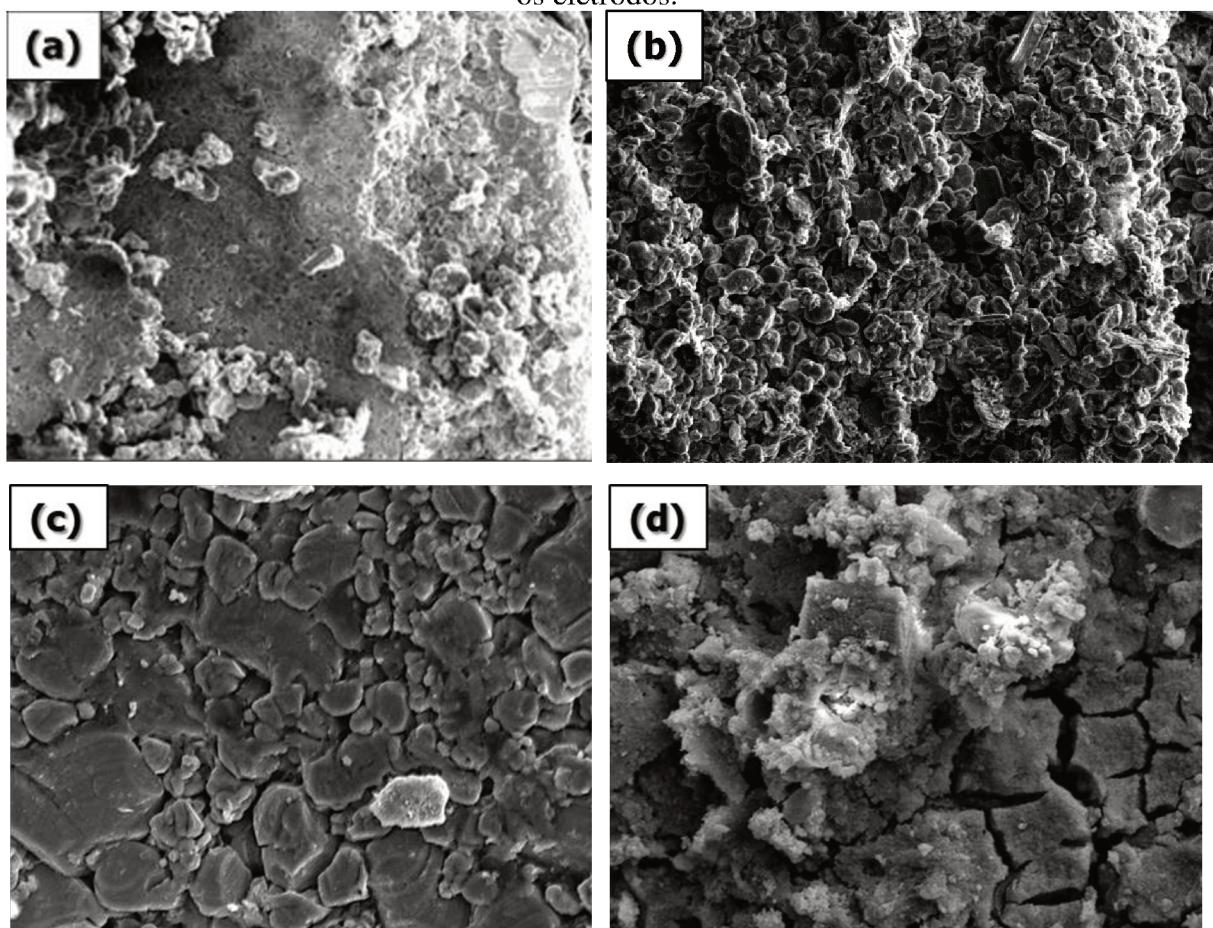
Deve-se ressaltar também, como mostrado neste trabalho, que a biolixiviação de microrganismos heterotróficos, sejam o consórcio microbiano ou os fungos, podem estar vinculados com o emprego de matéria-prima resultante de processos diversos, como por exemplo, foi a aplicação do permeado de soro de leite que é um subproduto da indústria de laticínios, que se mostrou eficiente em substituição a outras fontes de carbono, como a dextrose avaliada nos testes preliminares com *P. oxalicum*. Esta integração entre os processos representa uma redução nos custos de consumíveis.

E, com relação ao *P. oxalicum*, é um fungo que ainda não foi explorado. Sua ação no contexto de processos de lixiviação pode ser avaliada de forma a atingir altas índices de recuperação como visto para *Aspergillus niger* e *Penicillium simplissimum*, seja pela ação direta na biolixiviação, como pela produção de ácido cítrico que foi identificado neste estudo.

4.6.6 Análise morfológica da amostra biolixiviada pelo consórcio microbiano

Antes e após a realização do ensaio (II) do Item 5.6.1 do processo de biolixiviação utilizando a amostra contendo ambos os eletrodos e o consórcio microbiano com aplicação do choque térmico, foram feitos análises morfológicas aplicando a Microscopia Eletrônica de Varredura que é usada na caracterização do material e identifica as variações na morfologia da amostra durante o tratamento. A Figura 5.22 ilustra a diferença da superfície do cátodo e ânodo das LIBs, antes (a) e depois (b) do processo de biolixiviação.

Figura 5.22 - Microscopia Eletrônica de Varredura com aumento de 500 vezes, (a e b) e com aumento de 4000 vezes (c e d), antes(a e c) e depois (b e d) do processo de biolixiviação do ensaio II do consórcio microbiano com choque térmico utilizando a amostra contendo ambos os eletrodos.



Nas Figuras 5.22 (a) e 5.22 (c) observa-se que a imagem da amostra original que tem uma superfície mais lisa. No entanto, a morfologia das partículas residuais de biolixiviação é formada por partículas brutas. As Figuras 5.22 (b) e 5.22 (d) mostram o resíduo biolixiviado apresentando uma superfície áspera com alguns orifícios (aumento da porosidade). Estas alterações micromorfológicas revelaram que os metabólitos do consórcio microbiano, como os ácidos orgânicos, erodiram lentamente as partículas dos eletrodos através de substâncias químicas corrosivas. Não foram realizadas medidas do tamanho das partículas após o método utilizado, contudo, a partir da análise das alterações morfológicas após a aplicação da biolixiviação percebe-se que houve eficiência no processo de dissolução dos metais das LIBs.

6 CONCLUSÃO

A partir da realização deste trabalho, foi possível obter as seguintes conclusões:

I) Lixiviação

O ácido láctico puro e em associação com o ácido sulfúrico apresentou o maior potencial lixiviante dentre os ácidos orgânicos puros e em mistura também avaliados. A condição de maior recuperação foi de 94,35% para Li e 90,90% para Co quando o ácido láctico foi utilizando junto com H_2SO_4 .

Com relação à produção de lixiviante por fermentação, a fixação do pH em 5,5 durante a fermentação e utilizando o consórcio microbiano mostrou-se eficiente, conseguindo-se obter um meio rico em ácidos orgânicos (1,24 M total), principalmente ácido láctico (0,68 M).

O potencial lixiviante da mistura ácido sulfúrico e efluente proveniente da fermentação foi comprovada, principalmente, para o lixiviante rico em ácido láctico, obtendo uma recuperação de 100% para o Co e 99,87% para o Li.

II) Biolixiviação

Com aplicação dos ensaios preliminares pôde-se obter as condições iniciais adequadas para realizar os ensaios de biolixiviação com o consórcio microbiano e com o *Penicillium oxalicum*.

A avaliação em longos períodos de tempo, mostrou o potencial de se empregar o consórcio microbiano na biolixiviação de metais, obtendo em sua melhor condição aplicada (pH inicial 5,5 e razão S/L de 2,5 g/L) uma recuperação de 61,8% de Li e 51,2% de Co em 31 dias.

A utilização de uma razão sólido/liquido elevada no consórcio microbiano com a amostra composta por ambos os eletrodos, de 35 g/L, foi considerada satisfatória, tendo em vista que não houve necessidade de pré-adaptação do inóculo, mesmo que apresentando uma cinética mais lenta na recuperação dos metais, se comparado aos outros microrganismos (61 dias).

Dentre as condições testadas, o emprego das bactérias acidófilas exibiu os melhores resultados de extração dos metais das LIBs, em destaque para o *Acidithiobacillus ferrooxidans*, que recuperou 99% de Li e 65% para o Co, em 20 dias.

7 ETAPAS FUTURAS

- Produção de lixiviante pelo *P. oxalicum*;
- Realizar ensaios de lixiviação utilizando o ultrassom;
- Realizar ensaios de longos períodos com diferentes razões S/L para o *P. oxalicum*;
- Realizar um Planejamento de Corpo Central (PCC) fixando o tempo de biolixiviação;
- Produção de lixiviante utilizando o consorcio microbiano, aumentando o tempo de fermentação a fim de obter uma maior de ácidos orgânicos;
- Avaliação de fases de adaptação do *P. oxalicum* e das *A. ferrooxidans* e *thiooxidans*;
- Aplicação de co-cultura dos *Acidithiobacillus*;
- Avaliar a aplicação de um consórcio de fungos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMILS, R.; BALLESTER, A. **Biohydrometallurgy and the Environment Toward the Mining of the 21st Century**. Burlington: Elsevier, 1999.

<https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2018.06.012>

AMIRI, F.; MOUSAVI, S. M.; YAGHMAEI, S. Enhancement of bioleaching of a spent Ni/Mo hydroprocessing catalyst by *Penicillium simplicissimum*. **Separation and Purification Technology**, v. 80, n. 3, p. 566–576, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2011.06.012>

AMIRI, F.; MOUSAVI, S. M.; YAGHMAEI, S.; BARATI, M. Bioleaching kinetics of a spent refinery catalyst using *Aspergillus niger* at optimal conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 67, p. 208–217, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2012.06.011>

AMIRI, F.; YAGHMAEI, S.; MOUSAVI, S. M.; SHEIBANI, S. Recovery of metals from spent refinery hydrocracking catalyst using adapted *Aspergillus niger*. **Hydrometallurgy**, v. 109, n. 1–2, p. 65–71, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.hydromet.2011.05.008>

AMIRI, F.; MOUSAVI, S. M.; YAGHMAEI, S.; BARATI, M. Bioleaching kinetics of a spent refinery catalyst using *Aspergillus niger* at optimal conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 67, p. 208–217, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2012.06.011>

ANDERY, P. A. **Tratamento de minérios e hidrometalurgia**. Recife, ITEP, 1980.

ARAL, H.; VECCHIO-SADUS, A. Toxicity of lithium to humans and the environment—A literature review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, n. 3, p. 349–356, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.02.026>

ARAVINDAN, V.; GNANARAJ, J.; MADHAVI, S.; LIU, H.-K. Lithium-Ion Conducting Electrolyte Salts for Lithium Batteries. **Chemistry - A European Journal**, v. 17, n. 51, p. 14326–14346, 2011. <https://doi.org/10.1002/chem.201101486>

ARSHADI, M.; MOUSAVI, S. M. Multi-objective optimization of heavy metals bioleaching from discarded mobile phone PCBs: Simultaneous Cu and Ni recovery using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Separation and Purification Technology**, v. 147, p. 210–219, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.04.020>

ARSHADI, M.; MOUSAVI, S. M. Simultaneous recovery of Ni and Cu from computer-printed circuit boards using bioleaching: Statistical evaluation and optimization. **Bioresource Technology**, v. 174, p. 233–242, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.140>

BAJESTANI, M. I.; MOUSAVI, S. M.; SHOJAOSADATI, S. A. Bioleaching of heavy metals from spent household batteries using *Acidithiobacillus ferrooxidans*: Statistical evaluation and optimization. **Separation and Purification Technology**, v. 132, p. 309–316, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2014.05.023>

BARRETT, J. Metal extraction by bacterial oxidation of minerals. **Ellis Horwood Series in Inorganic Chemistry**, v. 28, p. 27-52, 1993. ISBN-13: 978-0135777350

BARIK, S. P.; PRABAHARAN, G.; KUMAR, L. Leaching and separation of Co and Mn from electrode materials of spent lithium-ion batteries using hydrochloric acid: Laboratory and pilot scale study. **Journal of Cleaner Production**, v. 147, p. 37–43, 2017.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.01.095>

BENZ, M.; BRUNE, A.; SCHINK, B. Anaerobic and aerobic oxidation of ferrous iron at neutral pH by chemoheterotrophic nitrate-reducing bacteria. **Archives of Microbiology**, v. 169, n. 2, p. 159–165, 1998. <https://dx.doi.org/10.1007/s002030050555>

BERNARDES, A. M.; ESPINOSA, D. C. R.; TENÓRIO, J. A. S. Collection and recycling of portable batteries: a worldwide overview compared to the Brazilian situation. **Journal of Power Sources**, v. 124, n. 2, p. 586–592, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-7753\(03\)00810-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-7753(03)00810-3)

BERNARDES, A. M.; ESPINOSA, D. C. R.; TENÓRIO, J. A. S. Recycling of batteries: a review of current processes and technologies. **Journal of Power Sources**, v. 130, n. 1–2, p. 291–298, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2003.12.026>

BERNADO, K. Cobalto: o metal que ameaça o futuro dos carros elétricos. Disponível em: <<https://www.freetheessence.com.br/sustentabilidade/negocios/cobalto/>>. Acesso em: 21/6/2018.

BEVILAQUA, D.; LEITE, A. L. L. C.; GARCIA JUNIOR, O.; TUOVINEN, O. H. Oxidation of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 4, p. 587–592, 2002. [http://dx.doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00169-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00169-3)

BRIERLEY, C. L. Bacterial leaching. **CRC critical reviews in microbiology**, v. 6, n. 3, p. 207–206I, 1978. <https://doi.org/10.3109/10408417809090623>

BOECHAT, L. Logística Reversa de Pilhas e Baterias no Brasil. Disponível em: <<https://techinbrazil.com.br/logistica-reversa-de-pilhas-e-baterias-no-brasil>>. Acesso em: 10/6/2018.

BOSECKER, K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. **FEMS Microbiology Review**, Hannover, v. 20, n. 3-4, p. 591–604, 1997. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1997.tb00340.x>

BOSECKER, K. Microbial leaching in environmental clean-up programmes. **Hydrometallurgy**, v 59, p 245–248, 2001. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-386X\(00\)00163-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-386X(00)00163-8)

BRAIN, M. **How Lithium-ion Batteries Work**. Disponível em: <<https://electronics.howstuffworks.com/everyday-tech/lithium-ion-battery.htm>>. Acesso em: 21/6/2018.

BRASIL. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. SECRETARIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Brasília, DF., 2006.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0104-12902014000200009>

BRENNER, K.; YOU, L.; ARNOLD, F. H. Engineering microbial consortia: a new frontier in synthetic biology. **Trends in Biotechnology**, v. 26, n. 9, p. 483–489, 2008.
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.05.004>

BURGSTALLER, W.; SCHINNER, F. Leaching of metals with fungi. **Journal of Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 91–116, 1993. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511550522>

BUSNARDO, N. G.; PAULINO, J. F.; AFONSO, J. C. Recuperação de cobalto e de lítio de baterias íon-lítio usadas. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 995–1000, 2007.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000400040>

GOMES, M. H. S. C; OLIVEIRA, E. C.; BRESCIANI, L. P.; PEREIRA, R. D. S. Política Nacional de Resíduos Sólidos: Perspectivas de Cumprimento da Lei 12.305/2010 pelos municípios brasileiros, paulistas e da região do ABC. **Revista de Administração da UFSM**, v. 7, n. 0, 2014. <http://dx.doi.org/10.5902/1983465913026>

CERRUTI, C.; CURUTCHET, G.; DONATI, E. Bio-dissolution of spent nickel–cadmium batteries using *Thiobacillus ferrooxidans*. **Journal of Biotechnology**, v. 62, n. 3, p. 209–219, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(98\)00065-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(98)00065-0)

CHAGNES, A.; POSPIECH, B. A brief review on hydrometallurgical technologies for recycling spent lithium-ion batteries: Technologies for recycling spent lithium-ion batteries. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 88, n. 7, p. 1191–1199, 2013.
<http://dx.doi.org/10.1002/jctb.4053>

CHEN, L.; TANG, X.; ZHANG, Y.; LI, L. X.; ZENG, A. W.; ZHANG, Y. Process for the recovery of cobalt oxalate from spent lithium-ion batteries. **Hydrometallurgy**, v. 108, n. 1–2, p. 80–86, 2011. <http://dx.doi.org/10.1039/C6RA16801A>

CHEN, X.; FAN, B.; XU, L.; ZHOU, T.; KONG, J. An atom-economic process for the recovery of high value-added metals from spent lithium-ion batteries. **Journal of Cleaner Production**, v. 112, p. 3562–3570, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.jclepro.2015.10.132>

CHEN, X.; GUO, C.; MA, H.; Li, J.; ZHOU, T; CAO, L.; KANG, D. Organic reductants based leaching: A sustainable process for the recovery of valuable metals from spent lithium ion batteries. **Waste Management**, v. 75, p. 459–468, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.01.021>

CHEN, X.; MA, H.; LUO, C.; ZHOU, T. Recovery of valuable metals from waste cathode materials of spent lithium-ion batteries using mild phosphoric acid. **Journal of Hazardous Materials**, v. 326, p. 77–86, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.12.021>

CHEN, X.; XU, B.; ZHOU, T.; LIU, D.; HU, H.; FAN, S. Separation and recovery of metal values from leaching liquor of mixed-type of spent lithium-ion batteries. **Separation and Purification Technology**, v. 144, p. 197–205, 2015.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2015.02.006>

CONAMA. Resolução nº 257 de 30 de junho de 1999. Diário Oficial da União. Brasília, Julho de 1999.

CONTESTABILE, M.; PANERO, S.; SCROSATI, B. A laboratory-scale lithium-ion battery recycling process. **Journal of Power Sources**, v. 92, n. 1–2, p. 65–69, 2001.

CRUNDWELL, F. K. How do bacteria interact with minerals? **Hydrometallurgy**, v. 71, n. 1–2, p. 75–81, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-386X\(03\)00175-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-386X(03)00175-0)

CUI, J.; FORSSBERG, E. Mechanical recycling of waste electric and electronic equipment: a review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 99, n. 3, p. 243–263, 2003. ISNN: 1402-1757

DE KOCK, S. H.; BARNARD, P.; DU PLESSIS, C. A. Oxygen and carbon dioxide kinetic challenges for thermophilic mineral bioleaching processes. **Biochemical Society Transactions**, v. 32, n. Pt 2, p. 273–275, 2004. <https://doi.org/10.1042/>

DEWULF, J.; VAN DER VORST, G.; DENTURCK, K.; VAN LANGENHOVE, H.; GHYOOT, W.; TYTGAT, J.; VANDEPUTTE, K. Recycling rechargeable lithium ion batteries: Critical analysis of natural resource savings. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 54, n. 4, p. 229–234, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.resconrec.2009.08.004>

DORELLA, G.; MANSUR, M. B. A study of the separation of cobalt from spent Li-ion battery residues. **Journal of Power Sources**, v. 170, n. 1, p. 210–215, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.05.018>

DUBEY, B.; TOWNSEND, T.; SOLO-GABRIELE, H. Metal loss from treated wood products in contact with municipal solid waste landfill leachate. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1–3, p. 558–568, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.042>

ESPINOSA, D. C. R.; TOUMA, M.; TENÓRIO, J. A. S. **Pretreatment for the Recycling of Spent Li Ion Batteries**. New Orleans: Warrendale: The Minerals, Metals and Materials Society, 2001.

FAY, P. Oxygen relations of nitrogen fixation in cyanobacteria. **Microbiological Reviews**, v. 56, n. 2, p. 340–373, 1992. PMCID: PMC372871

FARAJI, F.; GOLMOHAMMADZADEH, R.; RASHCHI, F.; ALIMARDANI, N. Fungal bioleaching of WPCBs using *Aspergillus niger*: Observation, optimization and kinetics. **Journal of Environmental Management**, v. 217, p. 775–787, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.04.043>

FERREIRA, D. A.; PRADOS, L. M. Z.; MAJESTE, D.; MANSUR, M. B. Hydrometallurgical separation of aluminium, cobalt, copper and lithium from spent Li-ion batteries. **Journal of Power Sources**, v. 187, n. 1, p. 238–246, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2008.10.077>

FONTI, V.; DELL'ANNO, A.; BEOLCHINI, F. Does bioleaching represent a biotechnological strategy for remediation of contaminated sediments? **Science of The Total Environment**, v. 563–564, p. 302–319, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.094>

FRANCISCO JR, W. E.; BEVILAQUA, D.; GARCIA JR, O. Estudo da dissolução oxidativa microbiológica de uma complexa amostra mineral contendo pirita (FeS₂), Pirrotita (Fe_{1-x}S) e

Molibdenita (MoS_2). **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1095–1099, 2007.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000500008>

GAO, W.; LIU, C.; CAO, H.; ZHENG, X.; LIN, X.; WANG, H.; ZHANG, Y.; SUN, Z. Comprehensive evaluation on effective leaching of critical metals from spent lithium-ion batteries. **Waste Management**, v. 75, p. 477–485, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.023>

GAINES, L.; SULLIVAN, J.; BURNHAM, A.; BELHAROUAK, I. Life-cycle analysis for lithium-ion battery production and recycling. **Transportation Research Board 90th Annual Meeting**, Washington, DC 23–27. Paper No. 11–3891, 2011.
<https://doi.org/10.3141%2F2252-08>

GHOLAMI, R. M.; BORGHEI, S. M.; MOUSAVI, S. M. Bacterial leaching of a spent Mo–Co–Ni refinery catalyst using *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 106, n. 1–2, p. 26–31, 2011.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.hydromet.2010.11.011>

GLEISNER, M.; HERBERT, R. B.; KOCKUM, P. C F. Pyrite oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans* at various concentrations of dissolved oxygen. **Chemical Geology**, v. 225, n. 1–2, p. 16–29, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemgeo.2005.07.020>

GOLMOHAMMADZADEH, R.; RASHCHI, F.; VAHIDI, E. Recovery of lithium and cobalt from spent lithium-ion batteries using organic acids: Process optimization and kinetic aspects. **Waste Management**, v. 64, p. 244–254, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.03.037>

GRANATA, G.; MOSCARDINI, E.; PAGNANELLI, F.; TRABUCCO, F.; TORO, L. Product recovery from Li-ion battery wastes coming from an industrial pre-treatment plant: Lab scale tests and process simulations. **Journal of Power Sources**, v. 206, p. 393–401, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2012.01.115>

GRATZ, E.; SA, Q.; APELIAN, D.; WANG, Y. A closed loop process for recycling spent lithium ion batteries. **Journal of Power Sources**, v. 262, p. 255–262, 2014.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2014.03.126>

GU, T.; RASTEGAR, S. O.; MOUSAVI, S. M.; LI, M.; ZHOU, M. Advances in bioleaching for recovery of metals and bioremediation of fuel ash and sewage sludge. **Bioresource Technology**, v. 261, p. 428–440, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.033>

HARVEY, A. E.; SMART, J. A.; AMIS, E. S. Simultaneous Spectrophotometric Determination of Iron(II) and Total Iron with 1,10-Phenanthroline. **Analytical Chemistry**, v. 27, n. 1, p. 26–29, 1955. <https://doi.org/10.1021/ac60097a009>

HE, L.-P.; SUN, S.-Y.; MU, Y.-Y.; SONG, X.-F.; YU, J.-G. Recovery of Lithium, Nickel, Cobalt, and Manganese from Spent Lithium-Ion Batteries Using l-Tartaric Acid as a Leachant. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, n. 1, p. 714–721, 2017.
<https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b02056>

HEYDARIAN, A.; MOUSAVI, S. M.; VAKILCHAP, F.; BANIASADI, M. Application of a mixed culture of adapted acidophilic bacteria in two-step bioleaching of spent lithium-ion

laptop batteries. **Journal of Power Sources**, v. 378, p. 19–30, 2018.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2017.12.009>

HOQUE, M. E.; PHILIP, O. J. Biotechnological recovery of heavy metals from secondary sources—An overview. **Materials Science and Engineering: C**, v. 31, n. 2, p. 57–66, 2011.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2010.09.019>

HOREH, N. B.; MOUSAVI, S. M.; BANIASADI, M. Use of adapted metal tolerant *Aspergillus niger* to enhance bioleaching efficiency of valuable metals from spent lithium-ion mobile phone batteries. **Journal of Cleaner Production**, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.299>

HOREH, N. B.; MOUSAVI, S. M.; SHOJAOSADATI, S. A. Bioleaching of valuable metals from spent lithium-ion mobile phone batteries using *Aspergillus niger*. **Journal of Power Sources**, v. 320, p. 257–266, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2016.04.104>

D'HUGUES, P.; JOULIAN, C.; SPOLAORE, P.; GARRIDO, F.; MORIN, D. Continuous bioleaching of a pyrite concentrate in stirred reactors: Population dynamics and exopolysaccharide production vs. bioleaching performance. **Hydrometallurgy**, v. 94, n. 1–4, p. 34–41, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hydromet.2008.05.045>

IDOTA, Y. Tin-Based Amorphous Oxide: A High-Capacity Lithium-Ion-Storage Material. **Science**, v. 276, n. 5317, p. 1395–1397, 1997. <https://doi.org/10.1126/science.276.5317.1395>

ISLAM, M.; TING, Y. P. Fungal Bioleaching of Spent Hydroprocessing Catalyst: Effect of Decoking and Particle Size. **Advanced Materials Research**, v. 71–73, p. 665–668, 2009.
<https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.71-73.665>

JENSEN, A. B.; WEBB, C. Ferrous sulphate oxidation using *thiobacillus ferrooxidans*: a review. **Process Biochemistry**, v. 30, n. 3, p. 225–236, 1995. [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(95\)85003-1](https://doi.org/10.1016/0032-9592(95)85003-1)

JHA, M. K.; KUMARI, A.; JHA, A. K.; V. KUMAR; J. HAIT; B.D. PANDEY. Recovery of lithium and cobalt from waste lithium ion batteries of mobile phone. **Waste Management**, v. 33, n. 9, p. 1890–1897, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.05.008>

JOHNSON, D. Importance of microbial ecology in the development of new mineral technologies. **Hydrometallurgy**, v. 59, n. 2–3, p. 147–157, 2001.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-386X\(00\)00183-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-386X(00)00183-3)

JOULIÉ, M.; LAUCOURNET, R.; BILLY, E. Hydrometallurgical process for the recovery of high value metals from spent lithium nickel cobalt aluminum oxide based lithium-ion batteries. **Journal of Power Sources**, v. 247, p. 551–555, 2014.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2013.08.128>

KANG, D. H. P.; CHEN, M.; OGUNSEITAN, O. A. Potential Environmental and Human Health Impacts of Rechargeable Lithium Batteries in Electronic Waste. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 10, p. 5495–5503, 2013. <https://doi.org/10.1021/es400614y>

KANG, J.; SENANAYAKE, G.; SOHN, J.; SHIN, S. M. Recovery of cobalt sulfate from spent lithium ion batteries by reductive leaching and solvent extraction with Cyanex 272. **Hydrometallurgy**, v. 100, n. 3–4, p. 168–171, 2010.

<https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2009.10.010>

KARAVAICO, G. I.; KRUTSCKO, V. S.; EROSHCHEV-SHAK, V. A.; AVAKYAN, Z. A. Role of microorganisms in spodumene degradation. **Mikrobiologiya**, v.49, p. 402-406, 1980. PMID: 7194415

KELLY, D. P.; WOOD, A. P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY**, v. 50, n. 2, p. 511–516, 2000.

<https://doi.org/10.1099/00207713-50-2-511>

KJELDSEN, P.; BARLAZ, M. A.; ROOKER, A. P.; BAUN, A; LEDIN, A.; CHRISTENSEN, T. H. Present and Long-Term Composition of MSW Landfill Leachate: A Review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 32, n. 4, p. 297–336, 2002. <https://doi.org/10.1080/10643380290813462>

KIM, M.-J.; SEO, J.-Y.; CHOI, Y.-S.; KIM, G.-H. Bioleaching of spent Zn–Mn or Ni–Cd batteries by *Aspergillus* species. **Waste Management**, v. 51, p. 168–173, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.11.001>

KOMONWEERAKET, K.; CETIN, B.; AYDILEK, A. H.; BENSON, C. H.; EDIL, T. B. Effects of pH on the leaching mechanisms of elements from fly ash mixed soils. **Fuel**, v. 140, p. 788–802, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.178>

KREBS, W. BROMBACHER, C.; BOSSHARD, P. P.; BACHOFEN, R. BRANDL, H. Microbial recovery of metals from solids. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 20, n. 3–4, p. 605–617, 1997. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1997.tb00341.x>

KULSHRESHTHA, A.; AGRAWAL, R.; BARAR, M.; SAXENA, S. A Review on Bioremediation of Heavy Metals in Contaminated Water. **IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, v. 8, n. 7, p. 44–50, 2014.

<https://doi.org/10.9790/2402-08714450>

LAPARA, T. M.; ZAKHAROVA, T.; NAKATSU, C. H.; KONOPKA, A. Functional and Structural Adaptations of Bacterial Communities Growing on Particulate Substrates under Stringent Nutrient Limitation. **Microbial Ecology**, v. 44, n. 4, p. 317–326, 2002.

<https://doi.org/10.1007/s00248-002-1046-8>

LEE, C. K.; RHEE, K.-I. Preparation of LiCoO₂ from spent lithium-ion batteries. **Journal of Power Sources**, v. 109, n. 1, p. 17–21, 2002. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-7753\(02\)00037-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-7753(02)00037-X)

LEE, J.; PANDEY, B. D. Bio-processing of solid wastes and secondary resources for metal extraction – A review. **Waste Management**, v. 32, n. 1, p. 3–18, 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.08.010>

LÉONARD, A.; HANTSON, P.; GERBER, G. B. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of lithium compounds. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 339, n. 3, p. 131–137, 1995. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2004.12.004>

LI, L.; DUNN, J. B.; ZHANG, X. X.; GAINES, L.; CHEN, R. J.; WU, F. AMINE, K. Recovery of metals from spent lithium-ion batteries with organic acids as leaching reagents and environmental assessment. **Journal of Power Sources**, v. 233, p. 180–189, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2012.12.089>

LI, L.; FAN, E.; GUAN, Y.; ZHAI, L.; ZHANG, X.; XUE, Q.; WEI, L.; WU, F.; CHEN, R. Sustainable Recovery of Cathode Materials from Spent Lithium-Ion Batteries Using Lactic Acid Leaching System. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, n. 6, p. 5224–5233, 2017. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b00571>

LI, L.; GE, J.; WU, F.; CHEN, R.; CHEN, S.; WU, B. Recovery of cobalt and lithium from spent lithium ion batteries using organic citric acid as leachant. **Journal of Hazardous Materials**, v. 176, n. 1–3, p. 288–293, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.026>

LI, L.; ZHAI, L.; ZHANG, X.; LU, J.; CHEN, R.; WU, F.; AMINE, K. Recovery of valuable metals from spent lithium-ion batteries by ultrasonic-assisted leaching process. **Journal of Power Sources**, v. 262, p. 380–385, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2014.04.013>

LI, V.; BUCKTHOUGHT, A.; BAKER, C. Fast integration of depth from motion parallax and the effect of dynamic perspective cues. **Journal of Vision**, v. 16, n. 12, p. 652, 2016. <https://doi.org/10.1167/14.10.734>

LUNDGREN, D. G.; MALOUF, E. E. Microbial extraction and concentration of metals. **Advances in Biotechnological Processes**, v. 1, p. 223-249, 1983.

LUPI, C.; PILONE, D. Battery Recycling: defining the market and identifying the technology required to keep high value materials in the economy and out of the waste dump. **Waste Management Resources**, v. 22, p. 871, 2002.

LUZ, A. B., POSSA, M. V., ALMEIDA, S. L., **Tratamento de minérios**. 2^a edição. Rio de Janeiro, CETEM, 1998.

MA, L.; NIE, Z.; XI, X.; HAN, X. Cobalt recovery from cobalt-bearing waste in sulphuric and citric acid systems. **Hydrometallurgy**, v. 136, p. 1–7, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hydromet.2013.01.016>

MACHADO, R.G. Investigação da produção de hidrogênio por fotofermentação empregando cultura pura e co-cultura. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. 2016.

MAGALHÃES, F. S.; CARDOSO, V. L.; REIS, M. H. M. Sequential process with bioadsorbents and microfiltration for clarification of pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) fruit extract. **Food and Bioproducts Processing**, v. 108, p. 105–116, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.02.003>

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

MEHTA, R.; TEMPLETON, D. M.; O'BRIEN, P. J. Mitochondrial involvement in genetically determined transition metal toxicity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 163, n. 1–2, p. 77–85, 2006. <https://dx.doi.org/10.3389%2Ffgene.2017.00177>

MEESKE, R.; VAN DER MERWE, G. D.; GREYLING, J. F.; CRUYWAGEN, C. W. The effect of adding an enzyme containing lactic acid bacterial inoculant to big round bale oat silage on intake, milk production and milk composition of Jersey cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 97, n. 3–4, p. 159–167, 2002. [http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00352-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00352-2)

MESHRAM, P.; PANDEY, B. D.; MANKHAND, T. R. Extraction of lithium from primary and secondary sources by pre-treatment, leaching and separation: A comprehensive review. **Hydrometallurgy**, v. 150, p. 192–208, 2014.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.hydromet.2014.10.012>

MESHRAM, P.; PANDEY, B. D.; MANKHAND, T. R. Hydrometallurgical processing of spent lithium ion batteries (LIBs) in the presence of a reducing agent with emphasis on kinetics of leaching. **Chemical Engineering Journal**, v. 281, p. 418–427, 2015a.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.06.071>

MESHRAM, P.; PANDEY, B. D.; MANKHAND, T. R. Recovery of valuable metals from cathodic active material of spent lithium ion batteries: Leaching and kinetic aspects. **Waste Management**, v. 45, p. 306–313, 2015b. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.05.027>

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>

MISHRA, D.; KIM, D.-J.; AHN, J.-G.; RHEE, Y.-H. Bioleaching: A microbial process of metal recovery; A review. **Metals and Materials International**, v. 11, n. 3, p. 249–256, 2005. <https://doi.org/10.1007/BF03027450>

MISHRA, D.; KIM, D.-J.; RALPH, D. E.; AHN, J. G.; RHEE, Y. H. Bioleaching of metals from spent lithium ion secondary batteries using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Waste Management**, v. 28, n. 2, p. 333–338, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.01.010>

MISHRA, D.; RHEE, Y. H. Microbial leaching of metals from solid industrial wastes. **Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 1–7, 2014. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-3532-3>

MOREIRA, F. S.; MACHADO, R. G.; ROMÃO, B. B.; BATISTA, F. R. X.; FERREIRA, J.S.; CARDOSO, V.L. Improvement of hydrogen production by biological route using repeated batch cycles. **Process Biochemistry**, v. 58, p. 60–68, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.04.013>

MOSHTEV, R.; JOHNSON, B. State of the art of commercial Li ion batteries. **Journal of Power Sources**, v. 91, n. 2, p. 86–91, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0378-7753\(00\)00458-4](https://doi.org/10.1016/S0378-7753(00)00458-4)

MOTAGHED, M.; MOUSAVI, S. M.; RASTEGAR, S. O.; SHOJAOSADATI, S. A. Platinum and rhenium extraction from a spent refinery catalyst using *Bacillus megaterium* as a cyanogenic bacterium: Statistical modeling and process optimization. **Bioresource Technology**, v. 171, p. 401–409, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.032>

NAN, J.; HAN, D.; ZUO, X. Recovery of metal values from spent lithium-ion batteries with chemical deposition and solvent extraction. **Journal of Power Sources**, v. 152, p. 278–284, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2005.03.134>

NAYAKA, G. P.; PAI, K. V.; MANJANNA, J.; KENY, S. J. Use of mild organic acid reagents to recover the Co and Li from spent Li-ion batteries. **Waste Management**, v. 51, p. 234–238, 2016a. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.12.008>

NAYAKA, G. P.; PAI, K. V.; SANTHOSH, G.; MANJANNA, J. Recovery of cobalt as cobalt oxalate from spent lithium ion batteries by using glycine as leaching agent. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 2, p. 2378–2383, 2016b. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.jece.2016.04.016>

NIU, Z.; ZOU, Y.; XIN, B.; LIU, C.; LI, Y.. Process controls for improving bioleaching performance of both Li and Co from spent lithium ion batteries at high pulp density and its thermodynamics and kinetics exploration. **Chemosphere**, v. 109, p. 92–98, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.02.059>

OLIVEIRA, M.D.; SÉRVULO, E.F.C.; SOBRAL, L.G.S.; G.H.C. PEIXOTO. Biolixiviação: A utilização de microrganismos na extração de metais. **Série tecnologia Ambiental**. CETEM/MCT, v. 53 p. 1-38, 2010.

ORDOÑEZ, J.; GAGO, E. J.; GIRARD, A. Processes and technologies for the recycling and recovery of spent lithium-ion batteries. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 60, p. 195–205, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.363>

PAGNANELLI, F.; MOSCARDINI, E.; ALTIMARI, P.; ABO ATIA, T.; TORO, L. Leaching of electrodic powders from lithium ion batteries: Optimization of operating conditions and effect of physical pretreatment for waste fraction retrieval. **Waste Management**, v. 60, p. 706–715, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.11.037>

PAGNANELLI, F.; MOSCARDINI, E.; GRANATA, G.; CERBELLINI, S.; AGOSTA, L. FIERAMOSCA, A., TORO, L. Acid reducing leaching of cathodic powder from spent lithium ion batteries: Glucose oxidative pathways and particle area evolution. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 5, p. 3201–3207, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.11.066>

PATHAK, A.; MORRISON, L.; HEALY, M. G. Catalytic potential of selected metal ions for bioleaching, and potential techno-economic and environmental issues: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 211–221, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.001>

PENG, C.; HAMUYUNI, J.; WILSON, B. P.; LUNDSTRÖM, M. Selective reductive leaching of cobalt and lithium from industrially crushed waste Li-ion batteries in sulfuric acid

system. **Waste Management**, v. 76, p. 582–590, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.052>

PESQUERO, N. C.; BUENO, P. R.; VARELA, J. A.; LONGO, E. Materiais cerâmicos de inserção aplicados a baterias de íons lítio. **Cerâmica**, v. 54, n. 330, p. 233–244, 2008.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0366-69132008000200014>

PIETRELLI, L.; BELLOMO, B.; FONTANA, D.; MONTEREALI, M. Characterization and leaching of NiCd and NiMH spent batteries for the recovery of metals. **Waste Management**, v. 25, n. 2, p. 221–226, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2004.12.013>

PIKOVSKAYA, R. I. Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species. **Microbiology**, v. 17, p. 362-370, 1984.

PLICHTA, E.; SALOMON, M.; SLANE, S.; UCHIYAMA, M; CHUA, D.; EBNER, W. B.; LIN, H. W. A rechargeable Li/LixCoO₂ Cell. **Journal of Power Sources**, v. 21, n. 1, p. 25–31, 1987. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-7753\(87\)80074-5](http://dx.doi.org/10.1016/0378-7753(87)80074-5)

PRADHAN, D.; KIM, D.J.; AHN, J.G.; LEE, S.W. Microbial leaching process to recover valuable metals from spent petroleum catalyst using iron oxidizing bacteria. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v. 38, p. 495–49, 2010.
<https://doi.org/10.1021/es0605016>

PRADHAN, N.; NATHSARMA, K. C.; SRINIVASA RAO, K.; SUKLA, L. B.; MISHRA, B. K. Heap bioleaching of chalcopyrite: A review. **Minerals Engineering**, v. 21, n. 5, p. 355–365, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mineng.2007.10.018>

RA, D.; HAN, K.-S. Used lithium ion rechargeable battery recycling using Etoile-Rebatt technology. **Journal of Power Sources**, v. 163, n. 1, p. 284–288, 2006.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2006.05.040>

RASOULNIA, P.; MOUSAVI, S. M. Maximization of organic acids production by *Aspergillus niger* in a bubble column bioreactor for V and Ni recovery enhancement from power plant residual ash in spent-medium bioleaching experiments. **Bioresource Technology**, v. 216, p. 729–736, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.114>

RASTEGAR, S. O.; MOUSAVI, S. M.; SHOJAOSADATI, S. A.; GU, T. Bioleaching of fuel-oil ash using *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks and a slurry bubble column bioreactor. **RSC Advances**, v. 6, n. 26, p. 21756–21764, 2016.
<https://doi.org/10.1039/C5RA24861B>

RAWLINGS, D. E. **Biomining: theory, microbes and industrial processes**. Berlin; New York: Springer, 1997. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-06111-4>

REIDLER, N. M. V. L.; GÜNTHER, W. M. R. Impactos sanitários e ambientais devido aos resíduos gerados por pilhas e baterias usadas. In: XXVIII CONGRESO INTERAMERICANO DE INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENTAL, 2002, México. *Anais...* México, 2002.

REZZA, I.; SALINAS, E.; CALVENTE, V.; BENUZZI, D.; TOSETTI, M. I. S. DE. Extraction of lithium from spodumene by bioleaching. **Letters in Applied Microbiology**, v. 25, n. 3, p. 172–176, 1997. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1997.00199.x>

RIBEIRO, J. S.; MOREIRA, T. F. M.; SANTANA, I. L.; FERREIRA, S.A.D.; LELIS, M.F.F.; FREITAS. M.B.J.G. Sol-gel synthesis, characterization, and catalytic properties of Ni, Cd, Co, and Fe oxides recycled from spent Ni-Cd batteries using citric acid as a leaching agent. **Materials Chemistry and Physics**, v. 205, p. 186–194, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.11.025>

RIBIÈRE, P.; GRUGEON, S.; MORCRETTE, M.; BOYANOV, S.; LARUELLE, S.; MARLAIR, G. Investigation on the fire-induced hazards of Li-ion battery cells by fire calorimetry. **Energy Environ. Sci.**, v. 5, n. 1, p. 5271–5280, 2012. <http://dx.doi.org/10.1039/C1EE02218K>

ROMÃO, B. B.; BATISTA, F. R. X.; FERREIRA, J. S.; CARDOSO, V. L. Biohydrogen Production Through Dark Fermentation by a Microbial Consortium Using Whey Permeate as Substrate. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 7, p. 3670–3685, 2014. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0778-5>

ROSSI, G. **Biohydrometallurgy: 115 tables**. Hamburg: McGraw-Hill, 1990.

SANTOS, A. A. DOS; DEOTI, J. R.; MÜLLER, G.; DÁRIO, M. G.; STAMBUK, B. U.; ALVES JUNIOR S. L. Dosagem de açúcares redutores com o reativo DNS em microplaca. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, n. 0, 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.11315>

SANTHIYA, D.; TING, Y.-P. Bioleaching of spent refinery processing catalyst using *Aspergillus niger* with high-yield oxalic acid. **Journal of Biotechnology**, v. 116, n. 2, p. 171–184, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.10.011>

SANTHIYA, D.; TING, Y.-P. Use of adapted *Aspergillus niger* in the bioleaching of spent refinery processing catalyst. **Journal of Biotechnology**, v. 121, n. 1, p. 62–74, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.07.002>

SAMPAIO, R.; ALEGRE, R.M.; MARCOS, S.K.; BARROTI, G.; ÚBEDA, B.T.R. Estudo da Solubilidade de Fosfato de Rocha Tipo “Tapira” por Fungos do Gênero *Aspergillus*. Anais do XIV Simpósio Nacional de Fermentações. Anais...Florianópolis: 2003.

SCHMIDT, T. M.; SCHAECHTER, M. (ORG.). **Topics in ecological and environmental microbiology**. Amsterdam: Academic Press, 2012. ISBN: 9780123838780

SCROSATI, B.; GARCHE, J. Lithium batteries: Status, prospects and future. **Journal of Power Sources**, v. 195, n. 9, p. 2419–2430, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2009.11.048>

SILVERMAN, M. P.; LUNDGREN, D. G. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*. I. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields. **Journal of Bacteriology**, v. 77, n. 5, p. 642–647, 1959. PMCID: PMC290434

SONOC, A.; JESWIET, J.; SOO, V. K. Opportunities to Improve Recycling of Automotive Lithium Ion Batteries. **Procedia CIRP**, v. 29, p. 752–757, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.procir.2015.02.039>

SUM, E. Y. L. The recovery of metals from electronic scrap. **Journal of Metals**, v. 43, p.53-61, 1991. <http://dx.doi.org/10.1007/BF03220549>

SUZAQUIM Indústrias Químicas LTDA. Disponível em: <<http://www.suzaquim.com.br/>>. Acesso em: 21/6/2018.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* I.-The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of Science and Food Agriculture**. Washington, v. 10, p. 63-68, 1959. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>

TCHOUNWOU, P. B.; YEDJOU, C. G.; PATLOLLA, A. K.; SUTTON, D. J. Heavy Metal Toxicity and the Environment. In: A. Luch (Org.); **Molecular, Clinical and Environmental Toxicology**. v. 101, p.133–164, 2012. Basel: Springer Basel. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6

TOLLEFSON, J. Car industry: Charging up the future. **Nature**, v. 456, n. 7221, p. 436–440, 2008. <https://doi.org/10.1038/456436a>

TUOVINEN, O. H.; KELLY, D. P. Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. **Archiv für Mikrobiologie**, v. 88, n. 4, p. 285–298, 1973.
<https://doi.org/10.1007/BF00409941>

TRAJANO, R. B. **Princípios de tratamento de minérios:** Operações unitárias e aparelhos. Rio de Janeiro, 1966. p. 62-63.

TRIBUTSCH, H. Direct versus indirect bioleaching. **Hydrometallurgy**, v. 59, n. 2–3, p. 177–185, 2001. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-386X\(00\)00181-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-386X(00)00181-X)

VAKILCHAP, F.; MOUSAVI, S. M.; SHOJAOSADATI, S. A. Role of *Aspergillus niger* in recovery enhancement of valuable metals from produced red mud in Bayer process. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 991–998, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.059>

VEIT, H. M. **Reciclagem de Cobre de Sucatas de Placas de Circuito Impresso**. Tese de Doutorado. UFRGS. Porto Alegre/RS. 2005. <<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/6530>>

WANG, X.; GAUSTAD, G.; BABBITT, C. W. Targeting high value metals in lithium-ion battery recycling via shredding and size-based separation. **Waste Management**, v. 51, p. 204–213, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.10.026>

WATLING, H. R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides — A review. **Hydrometallurgy**, v. 84, n. 1–2, p. 81–108, 2006.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.hydromet.2006.05.001>

WHITTINGHAM, M. S. Lithium Batteries and Cathode Materials. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 10, p. 4271–4302, 2004. <https://doi.org/10.1021/cr020731c>

WIDDEL, F.; SCHNELL, S.; HEISING, S.; EHRENREICH, A.; ASSMUS, B.; SCHINK, B. Ferrous iron oxidation by anoxygenic phototrophic bacteria. **Nature**, v. 362, n. 6423, p. 834–836, 1993. <https://dx.doi.org/10.1038/362834a0>

WINSLOW, K. M.; LAUX, S. J.; TOWNSEND, T. G. A review on the growing concern and potential management strategies of waste lithium-ion batteries. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 129, p. 263–277, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.11.001>

XIAO, J.; LI, J.; XU, Z. Recycling metals from lithium ion battery by mechanical separation and vacuum metallurgy. **Journal of Hazardous Materials**, v. 338, p. 124–131, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.05.024>

XIN, B.; ZHANG, D.; ZHANG, X.; XIA, Y.; WU, F.; CHEN, S.; Li, L. Bioleaching mechanism of Co and Li from spent lithium-ion battery by the mixed culture of acidophilic sulfur-oxidizing and iron-oxidizing bacteria. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 24, p. 6163–6169, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.06.086>

XIN, Y.; GUO, X.; CHEN, S.; WANG, J.; WU, F., XIN, B. 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**, v. 116, p. 249–258, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.01.001>

XU, T.-J.; TING, Y.-P. Fungal bioleaching of incineration fly ash: Metal extraction and modeling growth kinetics. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 44, n. 5, p. 323–328, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.01.006>

URIAS, P. M. Processos de recuperação de cobalto e de lítio de baterias de íons de lítio. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. 2017.

YU, R.; SHI, L.; GU, G.; ZHOU, D.; YOU, L.; CHEN, M.; QIU, G.; ZENG. The shift of microbial community under the adjustment of initial and processing pH during bioleaching of chalcopyrite concentrate by moderate thermophiles. **Bioresource Technology**, v. 162, p. 300–307, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.163>

YU, B.; ZHANG, X.; SUN, W.; ZHAO, N.; HUANG, Z.; YING, Z.; LIU, L.; LIU, D.; NIU, H.; WU, J.; ZHUANG, W.; ZHU, C.; CHEN, Y.; YING, H. Continuous citric acid production in repeated-fed batch fermentation by *Aspergillus niger* immobilized on a new porous foam. **Journal of Biotechnology**, v. 276–277, p. 1–9, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.03.015>

ZENG, G.; DENG, X.; LUO, S.; LUO, X.; ZOU, J. A copper-catalyzed bioleaching process for enhancement of cobalt dissolution from spent lithium-ion batteries. **Journal of Hazardous Materials**, v. 199–200, p. 164–169, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.10.063>

ZENG, X.; LI, J. Spent rechargeable lithium batteries in e-waste: composition and its implications. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v. 8, n. 5, p. 792–796, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11783-014-0705-6>

ZENG, X.; LI, J.; SINGH, N. Recycling of Spent Lithium-Ion Battery: A Critical Review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 10, p. 1129–1165, 2014. <https://doi.org/10.1080/10643389.2013.763578>

ZHANG, P.; YOKOYAMA, T.; ITABASHI, O.; SUZUKI, M.T.; INOUE, K. Hydrometallurgical process for recovery of metal values from spent nickel-metal hydride secondary batteries. **Hydrometallurgy**, v. 50, n. 1, p. 61–75, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0304-386X\(98\)00046-2](https://doi.org/10.1016/S0304-386X(98)00046-2)

ZHANG, Y.; MENG, Q.; DONG, P.; DUAN, J.; LIN, Y. Use of grape seed as reductant for leaching of cobalt from spent lithium-ion batteries. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 2018. DOI: 10.1016/j.jiec.2018.05.004. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.05.004>

ZHENG, X.; GAO, W.; ZHANG, X.; HE, M; LIN, X.; CAO, H.; ZHANG, Y.; SUN, Z. Spent lithium-ion battery recycling – Reductive ammonia leaching of metals from cathode scrap by sodium sulphite. **Waste Management**, v. 60, p. 680–688, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.12.007>

ZHENG, X.; ZHU, Z.; LIN, X.; ZHANG, Y.; HE, Y., CAO, H.; SUN, Z. A Mini-Review on Metal Recycling from Spent Lithium Ion Batteries. **Engineering**, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.05.018>

ZHU, X.; HE, X.; YANG, J.; GAO, L.; LIU, J.; YANG, D.; SUN, X.; ZHANG, W.; WANG, Q.; KUMAR, R.V. Leaching of spent lead acid battery paste components by sodium citrate and acetic acid. **Journal of Hazardous Materials**, v. 250–251, p. 387–396, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.02.018>

ZOU, H.; GRATZ, E.; APELIAN, D.; WANG, Y. A novel method to recycle mixed cathode materials for lithium ion batteries. **Green Chemistry**, v. 15, n. 5, p. 1183, 2013. <https://doi.org/10.1039/C3GC40182K>