

SOLANGE KAZUE UTIMURA

**Uso da biolixiviação no processo de reciclagem de cobre proveniente dos
resíduos de equipamentos eletroeletrônicos (REEE)**

Versão Corrigida

Orientadora: Prof. Dr. Denise Croce Romano Espinosa

São Paulo

2020

SOLANGE KAZUE UTIMURA

**Uso da biolixiviação no processo de reciclagem de cobre proveniente dos
resíduos de equipamentos eletroeletrônicos (REEE)**

Versão Corrigida

Tese apresentada à Escola Politécnica
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em
Ciências.

Área de Concentração: Engenharia
Química

Orientadora: Prof. Dr. Denise Croce
Romano Espinosa

São Paulo

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Este exemplar foi revisado e corrigido em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

São Paulo, 18 de Maio de 2020

Assinatura do autor: [Assinatura]

Assinatura do orientador: [Assinatura]

Catlogação-na-publicação

Utimura, Solange

Uso da biolixiviação no processo de reciclagem de cobre proveniente dos resíduos de equipamentos eletroeletrônicos (REEE) / S. Utimura -- versão corr. - São Paulo, 2020.
150 p.

Tese (Doutorado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química.

1. Biolixiviação 2. Placa de Circuito Impresso 3. Resíduos [Reciclagem] 4. Materiais [Recuperação] I. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Química II. I.

A todos,
com carinho.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Denise Crocce Romano Espinosa pela orientação e convivência ao longo de todo o caminho, na troca de idéias, além do incentivo e apoio.

Ao Prof. Dr. Jorge Alberto Soares Tenório por compartilhar uma das suas linhas de pesquisa e disponibilizar o Laboratório de Reciclagem, Tratamento de Resíduos e Extração – LAREX, para a realização das análises e ensaios deste trabalho.

Meu agradecimento especial ao Prof. Dr. Arthur Pinto Chaves pelo incentivo e apoio, assim como pelas conversas proveitosas e dedicação desde sempre.

Agradeço a todos os professores da Universidade de São Paulo e em especial à Escola Politécnica do Departamento de Engenharia Química.

À minha família pelo apoio incondicional, ajuda constante e por estarem sempre presente.

Ao pessoal do LAREX, aos funcionários da Universidade de São Paulo e em especial aos funcionários das Bibliotecas da Escola Politécnica, pela atenção, ajuda e colaboração.

Ao CNPq pelas bolsas concedidas: processo n° 141086/2015 e 870243/1997-7 e a Fapesp pelo projeto n° 2012/51871-9.

Agradeço a todos que de alguma forma colaboraram com este trabalho.

Muito obrigada a todos!

RESUMO

O consumo de equipamentos eletroeletrônicos tem aumentado nos últimos anos e a vida útil desses aparelhos tem ficado cada vez mais reduzida. Os produtos eletroeletrônicos ainda são descartados com o lixo doméstico e a reciclagem dos resíduos de equipamentos eletroeletrônicos (REEE) torna-se importante tanto no aspecto ambiental quanto no econômico. Presentes na maioria dos equipamentos eletroeletrônicos, as placas de circuito impresso (PCI) são compostas por materiais cerâmicos, poliméricos e metálicos. A recuperação dos metais contidos nas PCI dos REEE tem incentivado pesquisas inovadoras no seu processo de recuperação. Dentre as alternativas de recuperação dos metais das PCI de forma sustentável optou-se pelo processo de lixiviação bacteriana envolvendo a fase de extração dos metais. Dentre os metais presentes nas PCI, o mais representativo é o cobre, que pode chegar em torno de 32,5 % em massa nas PCI de impressoras descartadas e em média de 24 % em massa nas PCI de computadores obsoletos. Dessa forma, o presente estudo avaliou a recuperação de cobre das PCI de computadores e impressoras obsoletas na presença de bactérias, como a *Acidithiobacillus ferrooxidans* e a *Leptospirillum ferrooxidans* e de uma amostra de uma drenagem ácida de uma mina de carvão (DAM) localizada no Estado de Santa Catarina. A identificação da espécie presente na amostra da DAM foi confirmada pelo sequenciamento 16s rDNA e os metais que compõem as PCI estudadas, foram caracterizados mediante a técnica espectrometria. O processamento biohidrometalúrgico aplicado para a recuperação de cobre nas PCI de computadores e impressoras obsoletas envolvem etapas de controle de pH, Eh e adaptação bacteriana. Os resultados da biolixiviação nas PCI de computadores descartados, mostraram que as bactérias da DAM promoveram a maior extração, de 96 % de cobre, e com as PCI de impressoras obsoletas, os melhores resultados de recuperação foram obtidos com a *Leptospirillum ferrooxidans*, com 95 % de recuperação e com as bactérias da DAM, com 93 % de extração de cobre.

Palavras-Chaves: Biolixiviação, Placa de Circuito Impresso, Resíduos [Reciclagem], Materiais [Recuperação].

ABSTRACT

The consumption of electronic equipment has increased in recent years and the useful life of these devices has been reduced. Electrical and electronic products are disposed in landfills and recycling of waste electrical and electronic equipment (WEEE) becomes important in both environmental and economic aspects. Present in most electronic equipment such as printed circuit boards (PCB), are composed of ceramic, polymeric and metallic materials. The recovery of metals in WEEE has encouraged innovative process. Other alternatives for recovering metals from PCB metals in a sustainable way, opt for the bioleaching process, involving a phase of metal extraction. Among the metals present in PCB, the most representative is copper, which can reach 32.5 % by mass in PCB of discarded printers and an average of 24 % by mass in PCB of obsolete computers. Thus, the present study evaluated the recovery of copper in PCB of discarded computers and printers in the presence of bacteria, such as *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans* and a sample of an acid drainage from a coal mine (DAM) located in the State of Santa Catarina. The identification of the species present in the DAM sample was confirmed by the sequencing of 16s rDNA and the metals in PCB were characterized by a spectroscopy analytical technique. Biohydrometallurgical processes applied to the copper recovery in PCB of obsolete computers and printers, involves steps of controlling pH, Eh and bacterial adaptation. The results of bioleaching in PCB of discarded computers showed that the bacteria in the DAM promote a greater copper extraction of 96 %. The best results of bioleaching in PCB of obsolete printers were obtained with *Leptospirillum ferrooxidans* strain, with 95 % copper recovery and with bacteria in the DAM, with 93 % copper extraction.

Keywords: Bioleaching, Printed Circuit Board, Waste [Recycling], Materials [Recovery].

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	V
RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE TABELAS	XV
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	XVII
LISTA DE SÍMBOLOS	XIX
1. Introdução	1
2. Objetivos	3
3. Revisão bibliográfica	4
3.1. Resíduos de equipamentos eletroeletrônico (REEE)	4
3.1.1. Composição dos REEE.....	5
3.1.1.1. Metal: cobre.....	8
3.1.1.2. Componentes não metálicos.....	10
3.1.2. Legislação dos REEE.....	14
3.2. Placas de circuito impresso (PCI)	18
3.3. Tratamento das PCI	20
3.3.1. Processamento mecânico.....	23
3.3.2. Processamento pirometalúrgico.....	24
3.3.3. Processamento hidrometalúrgico.....	27
3.3.3.1. Processamento biohidrometalúrgico.....	32
3.4. Biotecnologia no tratamento de resíduos	34
3.4.1 Parâmetros da ação bacteriana	34
3.4.2. Contagem das células bacterianas.....	37
3.4.3. Mecanismos do processo de biolixiviação.....	40
3.4.4. Características gerais dos microrganismos.....	43
3.5. Interação microrganismo e substrato	46
3.6. Processo de adsorção	48
3.6.1. Adesão microbiana.....	50
3.6.2. Interações intermoleculares.....	54
3.6.2.1. Interação eletrostática	55
3.6.2.2. Interação Lifshitz-van der Waals (LW)	56
3.6.2.3. Interação ácido-base de Lewis (AB)	56
4. Materiais e métodos	58
4.1. Processamento mecânico	58
4.1.1. Cominuição.....	59
4.1.2. Separação magnética.....	59
4.1.3. Análise granulométrica.....	59
4.1.4. Etapas de caracterização.....	60

4.2. Processo de lixiviação bacteriana.....	61
4.2.1. Aquisição de bactérias.....	62
4.2.1.1. Sequenciamento 16s rDNA da DAM	63
4.2.2. Manutenção das bactérias.....	64
4.2.3. Crescimento bacteriano.....	66
4.2.4. Adaptação bacteriana.....	67
4.2.4.1. Processo de adaptação bacteriana.....	68
4.3. Experimentos de biolixiviação.....	71
4.3.1. Ensaio bióticos.....	71
4.3.2. Ensaio abióticos.....	72
4.3.3. Análises químicas.....	72
5. Resultados e discussão	74
5.1. Caracterização das PCI.....	74
5.2. Processo de lixiviação bacteriana	77
5.2.1. Sequenciamento 16s rDNA da DAM	77
5.2.2. Crescimento das bactérias.....	80
5.2.3. Desenvolvimento bacteriano.....	87
5.2.4. Adaptação bacteriana em PCI de computadores obsoletos.....	89
5.2.5. Adaptação bacteriana em PCI de impressoras descartadas.....	92
5.3. Experimentos de biolixiviação nas PCI.....	94
5.3.1. Biolixiviação das PCI de computadores obsoletos.....	95
5.3.2. Biolixiviação das PCI de impressoras descartadas.....	101
5.3.3. Análises químicas.....	108
6. Conclusões	112
REFERÊNCIAS.....	113

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estimativa da geração mundial de resíduos de equipamentos eletroeletrônicos (REEE) em toneladas por ano.....	4
Figura 2 – Estimativa da geração mundial de REEE em toneladas por ano por região.....	5
Figura 3 – Materiais contidos nos REEE: metais, plásticos, vidro e outros.....	11
Figura 4 - O percentual de plásticos em diferentes tipos de equipamentos.....	12
Figura 5 - Composição dos plásticos na sucata eletrônica de impressoras obsoletas.....	13
Figura 6 - Composição dos polímeros nos REEE de pequeno porte.....	13
Figura 7 - Fluxograma dos processos de tratamento das PCI.....	22
Figura 8 - Fluxograma de processamento hidrometalúrgico de REEE.....	28
Figura 9 - Diagrama de Pourbaix: sistema Cu-H ₂ O, 25 °C, Software HSC Chemistry 3.02.....	29
Figura 10 – Conjunto de captação e transferência de elétrons durante a oxidação de íons ferrosos.....	35
Figura 11 – Componentes do Citômetro de Fluxo.....	39
Figura 12 – Dispersões Frontal e Lateral e a Fluorescência.....	40
Figura 13 - Representação do processo de adesão com a bactéria <i>A. ferrooxidans</i> na superfície de um minério.....	48
Figura 14 - Estrutura das paredes celulares de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.....	53
Figura 15 – (a) PCI proveniente de REEE (b) placa virgem para circuito impresso.....	58
Figura 16 – Processamento mecânico com a moagem dos materiais (MM), frações de material magnético (MMA) e material não magnético (MNMA).....	59
Figura 17 - Diagrama de blocos dos estudos de biolixiviação das PCI proveniente de REEE.....	61
Figura 18 – Equipamento de Citometria de Fluxo.....	67
Figura 19 - Processo de Adaptação Bacteriana	70
Figura 20 – Cromatograma obtido do sequenciamento 16s rDNA da DAM.....	78
Figura 21 - Dados da sequência obtida na amplificação do gene 16S.....	79

Figura 22 – Alinhamento da sequência da <i>A. ferrooxidans</i> com a sequência da <i>A. thiooxidans</i> com o grau de conservação de cinco substituições em relação ao sequenciamento da <i>A. ferrooxidans</i>	80
Figura 23 – As placas superiores mostram o crescimento da bactéria <i>A. ferrooxidans</i> na mistura de ágar sólido por 15 dias. As placas inferiores estão sem bactéria e não mostram o crescimento.....	81
Figura 24 – Curva de crescimento da população bacteriana.....	81
Figura 25 – Viabilidade da Calceína AM ao entrar em uma célula ativa formando um corante verde e o EthDIII marcando o núcleo da célula com um corante vermelho (Biotium Brochure).....	82
Figura 26 – Análise de Citometria de Fluxo: (a) água ultrapura (b) Solução de NaCl 0,9 %.....	83
Figura 27 – Experimentos de Citometria de Fluxo: (c) <i>A. ferrooxidans</i> vivas e ativas sem marcadores (d) <i>A. ferrooxidans</i> vivas e viáveis com a Calceína AM.....	84
Figura 28 - Ensaio de Citometria de Fluxo: (e) <i>A. ferrooxidans</i> mortas e inativas com o EthDIII.....	85
Figura 29 – Análise de Citometria de Fluxo: (f) <i>A. ferrooxidans</i> mortas e inviáveis sem marcadores (g) <i>A. ferrooxidans</i> mortas e inviáveis com a Caseína AM.....	85
Figura 30 - Ensaio de Citometria de Fluxo: (h) <i>A. ferrooxidans</i> inviáveis com o EthDIII.....	86
Figura 31 - Processo de manutenção da bactéria <i>A. ferrooxidans</i> e as medidas de pH e potencial de oxirredução (mV).....	87
Figura 32 – Crescimento da bactéria <i>Leptospirillum ferrooxidans</i> e as medidas de pH e Eh (mV).....	88
Figura 33 - Crescimento da comunidade de bactérias da drenagem ácida de minas (DAM) e as medidas de pH e Eh (mV).....	88
Figura 34 - Tempo necessário para a adaptação da <i>A. ferrooxidans</i> em contato com a fração MNMA das PCI proveniente de computadores obsoletos.....	90
Figura 35 - Tempo requerido para a adaptação da <i>Leptospirillum ferrooxidans</i> com a fração MNMA das PCI de computadores descartados.....	91
Figura 36 - Tempo de adaptação para a DAM em contato com a fração MNMA das PCI de computadores obsoletos.....	91
Figura 37 - Tempo necessário para a adaptação da <i>A. ferrooxidans</i> com a fração MNMA das PCI proveniente de impressoras descartadas.....	92

Figura 38 - O tempo requerido para a adaptação da <i>Leptospirillum ferrooxidans</i> com a fração MNMA das PCI de impressoras descartadas.....	93
Figura 39 - O tempo de adaptação da DAM com a fração MNMA das PCI de impressoras obsoletas.....	93
Figura 40 - Variação do pH no ensaio de biolixiviação das PCI proveniente de computadores obsoletos com as bactérias em estudo.....	95
Figura 41 - Consumo de H ₂ SO ₄ 5M para o ajuste do pH na biolixiviação das PCI de computadores obsoletos com a <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	96
Figura 42 - Ajuste do pH e o consumo de H ₂ SO ₄ 5M na biolixiviação das PCI de computadores descartados com a DAM.....	96
Figura 43 - Acerto do pH e o consumo de H ₂ SO ₄ 5M na biolixiviação das PCI de computadores obsoletos com a <i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	97
Figura 44 - Consumo de H ₂ SO ₄ 5M para o acerto do pH na biolixiviação das PCI de computadores descartados no ensaio abiótico (controle).....	97
Figura 45 - Monitoramento do Eh (mV) na biolixiviação das PCI de computadores descartados com as bactérias em estudo.....	98
Figura 46 - Extração de cobre no processo de biolixiviação das PCI de computadores obsoletos com as bactérias em estudo.....	100
Figura 47 - Controle do pH no ensaio de biolixiviação das PCI proveniente de impressoras obsoletas com as bactérias estudadas.....	101
Figura 48 - Consumo de H ₂ SO ₄ 5M para o ajuste do pH na biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas com a <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	102
Figura 49 - Ajuste do pH e o consumo de H ₂ SO ₄ 5M na biolixiviação das PCI de impressoras descartadas com a DAM.....	102
Figura 50 - Acerto do pH e o consumo de H ₂ SO ₄ 5M na biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas com a <i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	103
Figura 51 - Consumo de H ₂ SO ₄ 5M para o acerto do pH na biolixiviação das PCI de impressoras descartadas no ensaio abiótico (controle).....	103
Figura 52 - Monitoramento do Eh (mV) na biolixiviação de PCI de impressoras descartadas com as bactérias em estudo.....	104
Figura 53 – Diagrama de temperatura e pH dos compostos de íons férricos. Formação e estabilidade das espécies como jarosita e hidróxidos de ferro (goetita e hematita). Adaptado de van Weert e van Lier (1994).....	105
Figura 54 - Extração de cobre na biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas com as bactérias em estudo.....	105

Figure 55 – Espectro da análise de FTIR da amostra estudada.....	109
Figura 56 – Comparação dos resultados de estudos com a <i>A. ferrooxidans</i> nos ensaios com o potencial zeta.....	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição dos principais metais em diversos tipos de sucata eletrônica: Fração Cominuída (M), Fração Magnética (MA) e Fração Não Magnética (MNMA) (% massa).....	6
Tabela 2 – Preço dos metais associado ao REEE.....	7
Tabela 3 – Concentração média dos metais nos minérios e em teores elevados e reduzidos dos REEE.....	8
Tabela 4 – Materiais e componentes perigosos presentes nos REEE.....	10
Tabela 5 – Exemplos de patentes dos materiais não metálicos provenientes de PCI..	14
Tabela 6 – Informações das instalações industriais das empresas que recuperam os metais a partir do REEE.....	16
Tabela 7 – Tipos de laminados utilizados nas PCI.....	19
Tabela 8 - Exemplos de patentes de processos metalúrgicos aplicados nas PCI.....	24
Tabela 9 – Exemplos de patentes de processos hidrometalúrgicos – Extração e solubilização de elementos das PCI.....	28
Tabela 10 – Exemplos de patentes com técnicas de precipitação e purificação, antes e após os processos metalúrgicos.....	32
Tabela 11 – Classificação dos microrganismos de ambientes ácidos da DAM	46
Tabela 12 – Programação de aquecimento do forno de microondas.....	61
Tabela 13 – Reagentes da análise de PCR para o volume final de 25 μ L.....	63
Tabela 14 – Concentrações utilizadas na reação de PCR.....	63
Tabela 15 – Reagentes da reação de sequenciamento para o volume de 20 μ L.....	64
Tabela 16 - Composição do meio de cultura	65
Tabela 17 - Adaptação das PCI de computadores obsoletos com o monitoramento do Eh (mV) na adaptação com pH 1,8.....	69
Tabela 18 - Adaptação das PCI de impressoras descartadas com o monitoramento do Eh (mV) na adaptação com pH 1,8.....	70
Tabela 19 – Composição das PCI de computadores e impressoras descartadas.....	74
Tabela 20 - Comparação das frações da separação magnética dos diferentes tipos de PCI (% massa).....	75
Tabela 21 – Materiais presentes nas PCI de computadores e impressoras obsoletas (% massa): Material Cominuído (MM), Fração Magnética (MA) e Material Não Magnético (MNMA).....	75

Tabela 22 – Resultados da análise de metais no ICP-OES das frações de material moído (MM), dos materiais magnéticos (MMA) e não magnéticos (MNMA) das PCI de computadores e impressoras obsoletas (% massa).....	76
Tabela 23 – Resultados dos principais metais na fração dos materiais não magnéticos (MNMA) nos diferentes tipos de PCI (% massa).....	76
Tabela 24 - Resultados da DAM na coleção de nucleotídeos do GenBank (NCBI).....	78
Tabela 25. Resultados da extração de cobre na lixiviação bacteriana das PCI de computadores e impressoras obsoletas (% massa).....	107
Tabela 26 – Identificação das bandas na análise de FTIR das PCI virgens.....	109

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABCOBRE	Associação Brasileira do Cobre
ABRACI	Associação Brasileira de Circuitos Impressos
AHL	Acyl-homoserine lactone
ATR-FTIR	Reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier
CEDIR	Centro de Descarte e Reúso de Resíduos de Informática
CETEM	Centro de Tecnologia Mineral
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DAM	Drenagem ácida de mina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DVLO	Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek
EEE	Equipamento eletroeletrônico
EPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
EPR	Programa de responsabilidade estendida do produtor
EPS	Exopolissacarídeos
FRX	Espectroscopia de fluorescência de raios x
FSC	Forward scatter
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
ICP-OES	Espectroscopia de emissão óptica com plasma
INTERPOL	Organização Internacional de Polícia Criminal
LCA	Análise do ciclo de vida do produto
LME	London Metal Exchange
LPS	Lipopolissacarídeos
LWAB	Lifshitz van der Waals ácido base
MCA	Decisão com múltiplos critérios
MFA	Análise do fluxo de material
PBDE	Ésteres de difenila polibromados
PCB	Bifenilos policlorados
PCDD/Fs	Difenzodioxina Policlorada e Difenzofurano
PCI	Placa de circuito impresso
PCR	Reação em cadeia da polimerase

PIE	Ponto isoelétrico
PNRS	Política Nacional de Resíduos Sólidos
PNSB	Política Nacional de Saneamento Básico
REEE, WEEE	Resíduo de equipamento eletroeletrônico
RoHS	Restrição de Determinadas Substâncias Perigosas
SMA	Secretaria do Meio Ambiente
SSC	Side scatter
TBBPA	Tetrabromobisfenol A
UFC	Unidade formadora de colônias
UNEP	United Nations Environment Programme
UNU	Universidade das Nações Unidas
USGS	United States Geological Survey

LISTA DE SÍMBOLOS

$\%m_i$	Porcentagem em massa do metal (i) contido no REEE
P_i	Preço do metal i
E_n	Potencial de oxirredução (V)
E°	Potencial padrão (+0,75 V)
R	Constante dos gases (J/mol. K)
T	Temperatura absoluta
F	Constante de Faraday (J/mol. V)
V_{total}	Interação total
V_a	Relação de interações
vdW	Interações de van der Waals
V_R	Interações repulsivas
A	Constante de Hamaker
d	Distância entre a célula e superfície
r	Raio da célula
I	Forças iônicas
Z_p	Voltagem em unidades eletrostáticas
V_t	Viscosidade do líquido (Poisés)
D_t	Constante dielétrica
E_m	Mobilidade eletroforética

1. Introdução

Os resíduos de equipamentos eletroeletrônicos (REEE) podem ser constituídos por equipamentos eletroeletrônicos quebrados, defeituosos ou que se tornaram obsoletos (Schluep et al., 2015; Bertuol et al., 2005). O consumo acelerado dos equipamentos eletroeletrônicos devido às inovações tecnológicas contribui com o crescimento dos resíduos eletroeletrônicos (Li et al., 2004). De acordo com o relatório da Universidade das Nações Unidas (UNU), a geração mundial de resíduos de equipamentos eletroeletrônicos (REEE) em 2016 foi de 44,7 milhões de toneladas (Baldé et al., 2017).

Desta maneira, a reciclagem dos REEE se torna importante no aspecto da sustentabilidade com a diminuição da disposição de resíduos em aterros e com isso minimizando a contaminação do lençol freático e do solo pela percolação da lixívia (Flandinet et al., 2012). Com o intuito de diminuir os impactos ambientais, faz-se a proposta de beneficiar o material metálico dos REEE de maneira a se obter concentrados e dessa forma recuperar esses metais presentes.

O resíduo eletroeletrônico é formado por diversos equipamentos como computadores e impressoras e estes são compostos por vários componentes como a placa de circuito impresso que por sua vez são compostos por vários elementos e materiais metálicos, cerâmicos e poliméricos (Shinkuma et al., 2009). Um fator que dificulta o gerenciamento deste tipo de resíduo é a diversidade de materiais na sua composição (Hoffmann et al., 1992). Uma forma de se reduzir a variação da composição do resíduo eletroeletrônico é a separação dos componentes de acordo com as suas características contribuindo dessa maneira na redução dos custos (Hall et al., 2007).

Um outro fator importante na reciclagem de REEE para a imobilização de metais é que a composição da fase e as propriedades das partículas metálicas são diferentes quando comparado com os minerais. Dessa maneira, o comportamento do resíduo no processamento é diferente quando comparado com o mineral. Esta diversidade mostra uma necessidade na seleção dos parâmetros de processo para o sistema de lixiviação química/biológica (Silvas et al., 2014).

O processamento biológico surge como uma alternativa em comparação aos processamentos hidrometalúrgicos e pirometalúrgicos, que, em geral, demandam de elevado consumo de energia e operação, além da geração de resíduos secundários produzidos durante o processamento dos REEE. Já os processos

biohidrometalúrgicos apresentam baixo custo operacional e são adequados tanto para aplicações em pequena quanto em grande escala (Giese et al., 2018)

O processo de lixiviação bacteriana baseia-se na utilização de microrganismos, com o intuito de solubilizar os metais e como uma alternativa na recuperação de metais de interesse econômico (Sobral et al., 2010). A utilização da biolixiviação como rota alternativa na recuperação de metais de REEE, possui vantagens como a economia de insumos com o uso de ácidos diluídos, em comparação com o uso de ácidos concentrados e agentes oxidantes dos processamentos hidrometalúrgicos convencionais (Garcia, 1989; Yamane, 2012).

Este trabalho propõe o estudo da biolixiviação no processo de reciclagem de cobre presente nas placas de circuito impresso dos resíduos eletroeletrônicos.

2. Objetivos

- Caracterizar as placas de circuito impresso de computadores e impressoras obsoletas para identificar e quantificar os metais presentes nas amostras.
- Realizar a identificação das espécies de microrganismos presentes na amostra da DAM.
- Avaliar e desenvolver metodologias de contagem de células viáveis presentes nas culturas, visando a concentração celular.
- Desenvolver metodologia de processamento biohidrometalúrgico, visando a recuperação de cobre nas placas de computadores e impressoras descartadas.
- Avaliar a dissolução do cobre nas soluções de lixiviação bacteriana, controlando as variáveis: pH, Eh, densidade de polpa e tempo, comprovando o processo de biolixiviação com análise dos licores pela técnica de espectrometria.

3. Revisão bibliográfica

3.1. Resíduos de equipamentos eletroeletrônico (REEE)

O estudo organizado pela Universidade das Nações Unidas (UNU) apresentou a geração mundial de REEE em 2016 de 6,1 kg por habitante e a previsão é de que este número crescerá para 52,2 milhões de toneladas em 2020 (Baldé et al., 2017). A Figura 1 mostra estimativa da geração mundial dos resíduos eletroeletrônicos até 2021, com uma previsão de crescimento de 3 a 4 % ao ano (Baldé et al., 2017).

O valor estimado do setor global de coleta e reciclagem de REEE está em 410 bilhões de dólares ao ano, excluído o setor informal de comercialização de resíduos conforme a INTERPOL - Organização Internacional de Polícia Criminal (Unep, 2009 e 2011; Interpol, 2009). De acordo ainda com a INTERPOL, o preço cotado pelos REEE comercializados ilegalmente, está em torno de 500 dólares por tonelada (Interpol, 2013).

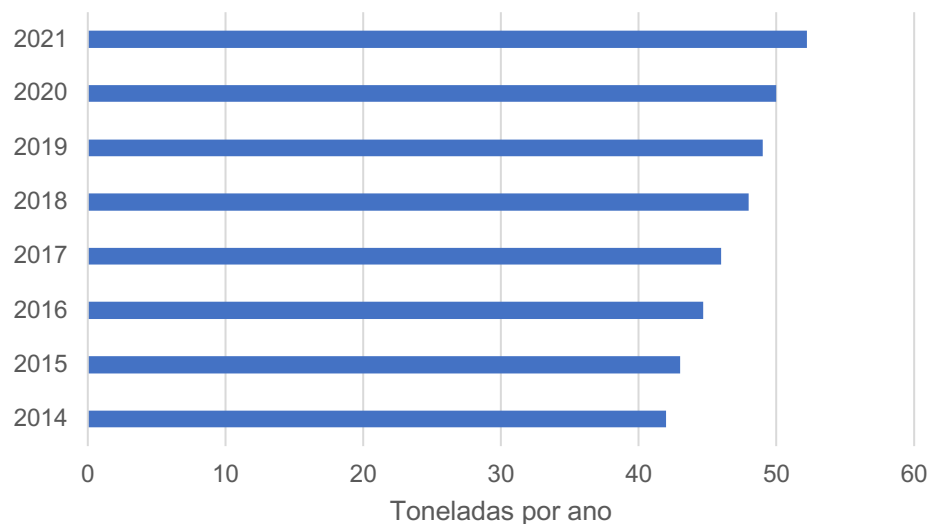


Figura 1 – Estimativa da geração mundial de resíduos de equipamentos eletroeletrônicos (REEE) em toneladas por ano (Baldé et al., 2017).

Em 2016, os maiores produtores de resíduo eletroeletrônico foram a China, a Europa e os EUA (Baldé et al., 2017). O montante de resíduo eletroeletrônico gerado na Ásia, incluindo a China, em 2016, foi de 18,2 milhões de toneladas. Nos países que compõem as Américas, a quantidade total de resíduo eletroeletrônico gerada foi de 11,3 milhões de toneladas. Já na Europa, foram geradas 12,3 milhões de toneladas de REEE. A África e a Oceania geraram 2,2 milhões e 0,7 milhão de toneladas respectivamente (Baldé et al., 2017; Forti et al., 2018).

A Figura 2 mostra a geração do resíduo eletroeletrônico em 2016, por região em toneladas por ano. (Baldé et al., 2017).

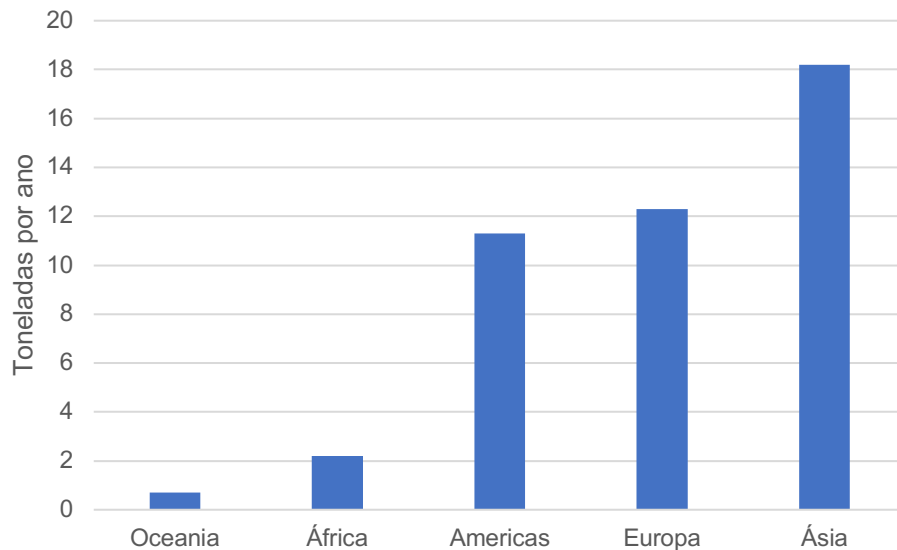


Figura 2 – Estimativa da geração de REEE em toneladas por ano e por região. (Baldé et al., 2017).

A sucata eletrônica é formada por diversos equipamentos ou partes deles e por diferentes componentes que por sua vez são compostos por vários elementos e substâncias químicas (Espinosa, 2002; Menetti et al., 1996). As placas de circuito impresso (PCI) são componentes dos equipamentos eletroeletrônicos (EEE) e são compostas por metais que podem ser reciclados (Moraes, 2011). A tecnologia para a solubilização dos metais é a biolixiviação que faz o uso de microrganismos para a produção de um licor de lixiviação com os metais solubilizados podendo ser recuperados do processo de eletrodeposição (Gupta, 2003; Habashi, 1969).

3.1.1. Composição dos REEE

Os REEE são componentes constituídos de materiais complexos e heterogêneos (Cui et al., 2003; Robinson, 2009). A composição varia com o fabricante e com a origem e estima-se que os REEE apresentam, em média, 40 % de metais, 30 % de plásticos e 30 % de cerâmicas, em massa (Canal et al., 2013; He et al., 2006). Os principais componentes cerâmicos presentes nos REEE, destacam-se a sílica, a alumina, os óxidos alcalinos e alcalinos terrosos, tianato de bário e mica (Sum, 1991).

Considerando os plásticos nos REEE, são mais de 15 diferentes tipos de plásticos de engenharia, como poliamida (PA), poliuretano (PU), poliéster, polipropileno (PP), poliestireno (PS) e acrilonitrila-butadieno-estireno (ABS) (Vilaplana et al., 2008). Além dessa variedade de plásticos presentes, aditivos são adicionados nos polímeros para mudar as propriedades e características como densidade, flamabilidade, cor e ponto de fusão.

Os aditivos que alteram esses parâmetros nos plásticos podem ser os estabilizantes ou plastificantes (elaborados de zinco, estrôncio, bário, chumbo e cádmio), pigmentos (óxido de ferro (Fe_2O_3), óxido de cromo (III) (Cr_2O_3), óxido de zinco (ZnO), dióxido de titânio (TiO_2), cádmio (Cd)) e retardantes de chama (PCBs: bifenilas policloradas ou compostos orgânicos halogenados) (Martinho et al., 2012).

Os principais metais da sucata eletrônica são os alvos no processo de recuperação e incluem cobre, níquel, ferro, zinco, alumínio e estanho (Cui et al., 2008; Goosey et al., 2002). A Tabela 1 mostra a composição em massa dos metais de diferentes tipos de REEE (Utamura et al., 2017; Silvas et al., 2015; Yamane, 2012; Moraes, 2011 e Veit, 2001).

Tabela 1 – Composição dos principais metais em diversos tipos de sucata eletrônica: Fração Cominuída (M), Fração Magnética (MA) e Fração Não Magnética (MNMA) (% massa).

		Concentração (massa %)									
		Ag	Al	Au	Cu	Fe	Ni	Pb	Sn	Zn	Outros
PCI - Computadores (Utamura et al., 2017)	NMA	0,11	2,22	0,00	24,92	1,70	0,66	3,71	0,00	2,35	Mn (0,06)
PCI - Impressoras (Silvas et al., 2015)	M	0,31	3,73	0,00	32,50	1,42	0,34	0,00	0,96	0,64	Ba (0,27), Ca (1,13), K (0,03), Na (0,05), Sb (0,11)
	NMA	0,31	3,65	0,00	32,00	0,00	0,00	0,00	0,64	0,44	
	MA	0,00	0,08	0,00	0,50	1,42	0,34	0,00	0,32	0,20	
PCI - Computadores (Yamane, 2012)	M	0,13	4,26	0,15	23,79	5,28	0,37	4,19	6,23	4,22	
	NMA	0,11	3,40	0,12	22,47	0,25	0,13	3,74	5,52	3,83	
	MA	0,02	0,86	0,03	1,32	5,03	0,24	0,45	0,71	0,39	
PCI - Celulares (Moraes, 2011)	M	0,21	0,26	0,00	35,50	12,49	3,41	1,87	3,39	5,92	Ba (0,16), Ca (0,09)
	NMA	0,19	0,23	0,00	30,91	0,06	1,40	1,50	2,87	5,78	Ba (0,08), Ca (0,08)
	MA	0,02	0,03	0,00	3,58	10,51	1,23	0,37	2,87	0,14	Ba (0,08), Ca (0,01)
PCI - Computadores (Veit, 2001)	M	0,25	2,26	0,05	4,49	1,06	0,25	4,54	6,35	0,04	Sb (0,13), Ba (0,35), Br (4,6), Ca (5,94), Cl (0,17), P (2,4), Mg (1,4), K (0,15)
Sucata Eletrônica típica (Sum, 1991)	M	0,20	2,00	0,10	20,00	8,00	2,00	2,00	0,00	0,00	Pd (0,05)

O principal motivo para a reciclagem dos REEE é a recuperação dos metais, como mostrado na tabela 2 que representa o valor associado a cada tipo de metal (V_i), calculado pela Equação 1.

$$V_i = 100 \frac{\%m_i P_i}{\sum \%m_i P_i} \quad \text{Equação 1}$$

Na qual $\%m_i$ é a porcentagem em massa do metal(i) contido no REEE (de acordo com a tabela 1 de composição dos metais presentes nos REEE) e P_i é o preço do metal com base na bolsa de metais de Londres (LME – *London Metal Exchange*), com referência a 26 de abril de 2019 (Metalprices, 2019). A Tabela 2 mostra o preço dos metais relacionados ao REEE.

Tabela 2 – Preço dos metais associado ao REEE (Metalprices, 2019).

	Fe	Cu	Al	Pb	Ni	Zn	Ag	Au	Pd
Preço (US\$/tonelada)	303,50	6393	1832	1924	12270	2917	3148	1286,70	1270
REEE	Valor (%)								
	Fe	Cu	Al	Pb	Ni	Zn	Ag	Au	Pd
Sucata Eletrônica Típica	1,43	75,22	2,16	2,26	14,44	0,00	0,37	0,08	0,04
Computador PCI	0,28	85,50	2,18	3,83	4,35	3,68	0,19	0,00	0,00
Impressora PCI	0,00	4,55	3,13	0,00	0,00	0,60	0,46	0,00	0,00
Celulares PCI	0,01	83,89	0,18	1,23	7,29	7,16	0,25	0,00	0,00

De acordo com a Tabela 2, o REEE não deve ser denominado como um rejeito e sim como potenciais materiais que podem ser utilizados como matéria-prima na produção de outros produtos. Com o avanço da tecnologia, os teores dos metais preciosos (prata, ouro, paládio entre outros) e outros metais na sucata eletroeletrônica tem reduzido (Sum, 1991). Mesmo com a redução dos teores dos metais, a reciclagem dos REEE ainda se mostra economicamente favorável, pelo menos em termos da concentração do cobre (preço do metal que está em cerca de US\$ 6400/tonelada) e se mostra nos resíduos em elevados teores como nas PCI de computadores, que está presente nos REEE com mais de 30 % em massa da PCI (Utamura et al., 2017; Zhang et al., 1997). A Tabela 3 mostra um comparativo dos teores dos metais presentes nos REEE com os seus respectivos minérios e destaca que a reciclagem dos REEE se classifica como um potencial econômico em termos dos teores desses metais (Havlik et al., 2014).

Tabela 3 – Concentração média dos metais nos minérios e em teores elevados e reduzidos dos REEE (Havlik et al., 2014).

	Minério	REEE de reduzido teor	REEE de elevado teor
Composição em massa (%)			
Fe	30-50	23-62	4,5-20
Al	25-30	1-10	1-4
Cu	0,5-1,0	3,4-21	7-20
Pb	0,5-15	0,2-1	0,3-6
Sn	<1	0,72-1,4	2,9-4,9
Composição em massa (ppm)			
Au	5-7	16-566	10-20
Ag	5-7	189-1380	115-280
Pd	3-5	3-210	4-10

A forma como os metais são encontrados nos minérios se difere em como eles são encontrados na sucata eletroeletrônica. Nos REEE, os metais preciosos são utilizados como materiais de contato nos conectores, nos capacitores e terminais em função da estabilidade química e das suas propriedades condutoras (Cui et al., 2008). Os metais encontrados nos minérios, com exceção dos metais preciosos, estão na forma de um composto químico como os óxidos ou sulfetos e na sucata eletroeletrônica eles estão na forma metálica ou em ligas metálicas (Havlik et al., 2014). A seguir, são apresentadas informações a respeito do cobre, um dos principais metais do processo de reciclagem do REEE. Após essa seção, apresentamos detalhes acerca dos componentes não metálicos presentes nos REEE que podem afetar o meio ambiente.

3.1.1.1. Metal: cobre

O cobre metálico é um dos metais mais utilizados no mundo ficando atrás apenas do ferro (aço) e do alumínio. Devido às suas propriedades químicas, mecânicas e físicas, o cobre pode ser utilizado em produtos eletroeletrônicos e de comunicação, assim como na construção civil e na produção de equipamentos (U.S. Congress, 1988). O cobre é encontrado em mais de 160 minerais, sendo que a calcopirita (CuFeS_2), a bornita (Cu_5FeS_5) e a calcocita (Cu_2S) são os que se destacam como os mais abundantes (Cox et al., 1973). O cobre nesses minérios está em média, em teores inferiores a 1 % (Goonan, 2004). Em 2015, a produção mundial de cobre

refinado foi de 22,5 milhões de toneladas e a produção brasileira foi de 240 mil toneladas, o que equivale a 1 % do total da produção mundial.

De acordo com a Associação Brasileira do Cobre (ABCOBRE), a capacidade instalada da indústria brasileira de cobre refinado em 2015, foi de 280 mil toneladas e para o cobre semi manufaturado a capacidade instalada foi de 324,6 mil toneladas. A dependência brasileira de cobre é expressiva, sendo que em 2015, o saldo do setor do cobre (cobre refinado, sucata, semiacabados, condutores elétricos e outros) foi deficitário, da ordem de US\$ 989 milhões e registrando importações de US\$ 2,2 bilhões (320 mil toneladas). Dessas importações, cerca de 67,3 % são de cobre refinado e cujo maior fornecedor ao Brasil tem sido o Chile. Em 2015, a ABCOBRE informou que o consumo aparente de cobre refinado e sucata, no Brasil, foi de 419,3 mil toneladas e o consumo per capita ficou em torno de 2,0 kg/hab (Anuário Estatístico do Setor Metalúrgico, 2016).

As fontes dos minérios de cobre estão majoritariamente distribuídas em cinco países: Chile, Austrália, Peru, Estados Unidos e México. Esses países detêm mais de 60 % das reservas mundiais sendo o Chile o principal produtor com cerca de 5,7 milhões de toneladas e possui cerca de 28 % das reservas mundiais de cobre (USGS, 2014). O cobre metálico pode ser obtido a partir dos processos de reciclagem dos resíduos, uma vez que as PCI são constituídas de cerca de 30 % em massa de metal e pode variar conforme o tipo do equipamento, dos componentes agregados e da tecnologia empregada na produção (Jawitz, 1997; Streicher-Porte et al., 2005; Yokoyama et al., 1997).

Os metais contidos nas PCI podem ser divididos em preciosos, metais tóxicos e metais base. Os metais base das PCI são cobre, ferro, alumínio, estanho e chumbo. Os metais preciosos contidos nas PCI são ouro, prata, platina e paládio. Os metais nocivos são chumbo, cádmio e cromo (Meccuci et al., 2002). O valor econômico dos metais preciosos foi o principal motivo na reciclagem das PCI. Com o avanço da tecnologia, as placas podem conter quantidades desprezíveis de metais preciosos e com tendência em diminuir o uso desses materiais na fabricação das PCI (Streicher-Porte et al., 2005).

O principal impulsionador do mercado de reciclagem de eletroeletrônicos está na fração metálica de cerca de 30 % em massa com o cobre como sendo o principal metal presente na composição das PCI (Veit, 2005). O cobre pode ser substituído por outros materiais como o alumínio, o titânio, o plástico, o aço, o quartzo em fibras óticas

e a cerâmica avançada (Khetriwal et al., 2009). Apesar da possibilidade de substituição do cobre por outros materiais, esse metal ainda mantém o seu campo de utilização em função das propriedades metálicas como em supercondutores (Veit, 2001; Takanori et al., 2009). Uma alternativa na recuperação de cobre pode ser alcançada através da solubilização do metal contido nas placas de circuito impresso proveniente da reciclagem dos resíduos de equipamentos eletroeletrônicos, contribuindo com a sustentabilidade do setor minero metalúrgico (Veit, 2001; Menetti, 1996).

3.1.1.2. Componentes não metálicos

Em diversos países do mundo, o descarte de sucata eletrônica é um assunto muito discutido devido aos materiais que os compõem, sendo parte deles perigosos quando descartados em locais ou extraídos inadequadamente. Os equipamentos eletroeletrônicos são compostos por materiais que apresentam metais tóxicos como o mercúrio, cádmio, berílio, cromo e chumbo utilizados em proteção de cabos de cobre, invólucro de computadores e PCI (Wong et al., 2007). Há a presença de poluentes orgânicos como dioxinas, retardantes de chama halogenados e bifenilos policlorados (PCB) em transformadores e capacitores. A Tabela 4 mostra os principais componentes perigosos presentes no REEE (Cui et al., 2003).

Tabela 4 – Materiais e componentes perigosos presentes nos REEE (Adaptado Cui et al., 2003).

Materiais e Componentes	Descrição
Baterias	chumbo, mercúrio e cádmio
Termostatos, sensores e interruptores	mercúrio
PCI	cádmio, cromo, cobalto, berílio
Protetores de fios e cabos	plásticos contendo retardantes de chama halogenados
Plásticos e invólucro REEE	plásticos com retardante de chama

Outros componentes perigosos contidos nos REEE estão os éteres de difenila polibromados (PBDE) e difenzodioxinas policloradas e difenzofurano (PCDD/Fs) em proteção de cabos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) da queima de invólucros de computadores e PCI entre outros (Kiddee et al., 2013; Cui et al., 2003). A Figura 3 mostra os materiais típicos contido nos REEE (Widmer et al., 2005).

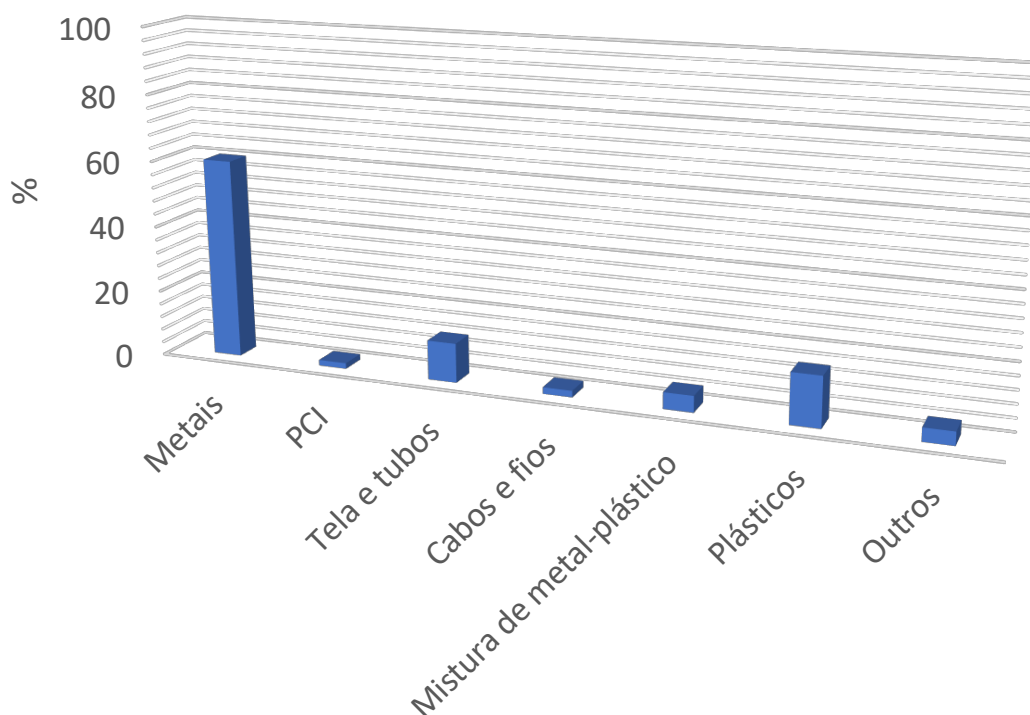


Figura 3 - Materiais contidos nos REEE: metais, plásticos, vidro e outros (Widmer et al., 2005).

O segmento de mercado para a fração não metálica dos REEE aumenta a rentabilidade do processamento dos REEE (Zhang et al., 2012). A separação das frações metálica e não metálica são realizadas por técnicas físicas e mecânicas de britagem, moagem, separação granulométrica, magnética, eletrostática e gravimétrica. (Ackil et al., 2015; Habib et al., 2013; Zhou et al., 2010; Kasper et al., 2011; Zeng et al., 2012, Yamane et al., 2011; Zhu et al., 2012; Tuncuk et al., 2012, Rath et al., 2012). Os aspectos envolvidos são o enriquecimento de componentes metálicos e não metálicos em frações distintas e recuperação de metais ou outros componentes específicos. (Rocchetti et al., 2018; Kumar et al., 2017). A Figura 4 mostra o percentual de plásticos em diferentes tipos de equipamentos (Wang et al., 2014). A moagem em tamanhos de partículas menores de 1 mm facilita a liberação dos metais dos polímeros e materiais cerâmicos. O sistema de moagem deve resultar em partículas homogêneas para que a recuperação das frações metálicas seja igual (Menad et al., 2013, Joda et al., 2012).

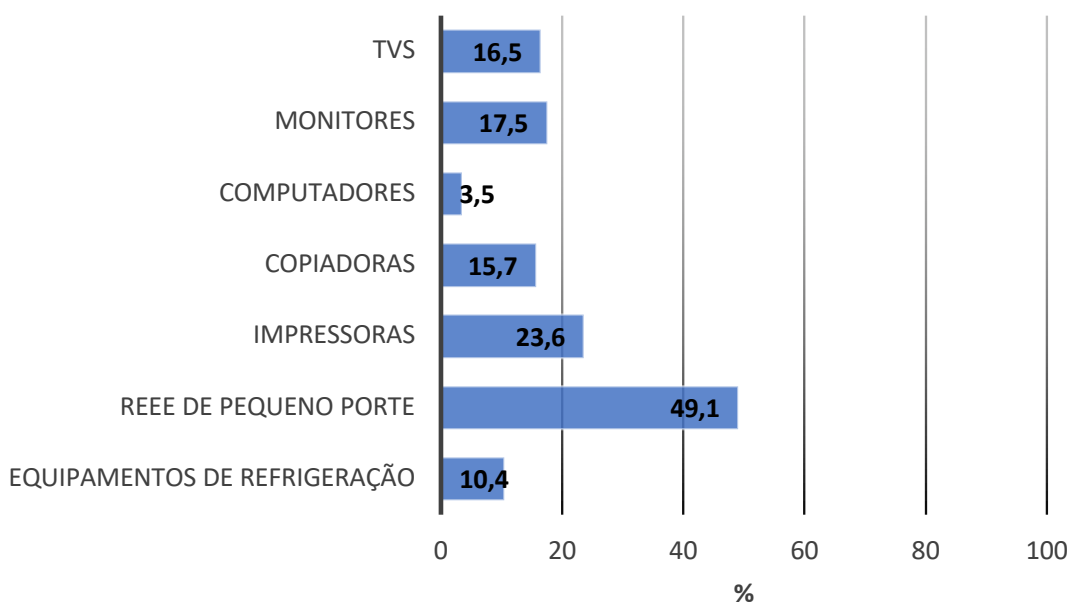


Figura 4 - O percentual de plásticos em diferentes tipos de equipamentos (Wang et al., 2014).

No processamento da fração não metálica (MNMA), os retardantes de chama devem ser retirados pois, além de atrapalhar a recuperação dos metais presentes nos REEE, são produtos recalcitrantes e bioacumuladores, da mesma forma que os metais tóxicos, causando efeitos genotóxicos (danos ao DNA) (Song et al., 2012). A combustão dos materiais contendo retardantes de chama organobromados exige altas temperaturas na queima de cerca de 800 a 1400 °C. Como a queima das PCI pode formar dioxinas e furanos bromados tóxicos (Zhong et al., 2012). Um dos métodos para tratamento da fração não metálica contendo retardantes de chama, envolve o uso de fluidos supercríticos como o CO₂ e solventes orgânicos de baixo ponto de ebulição como acetona, metanol, tolueno, clorofórmio e n-hexano na proporção de 1:1 em volume (Zhong et al., 2012; Chen et al., 2012). As Figuras 5 e 6 mostram a composição dos polímeros nos REEE (Martinho et al., 2012).

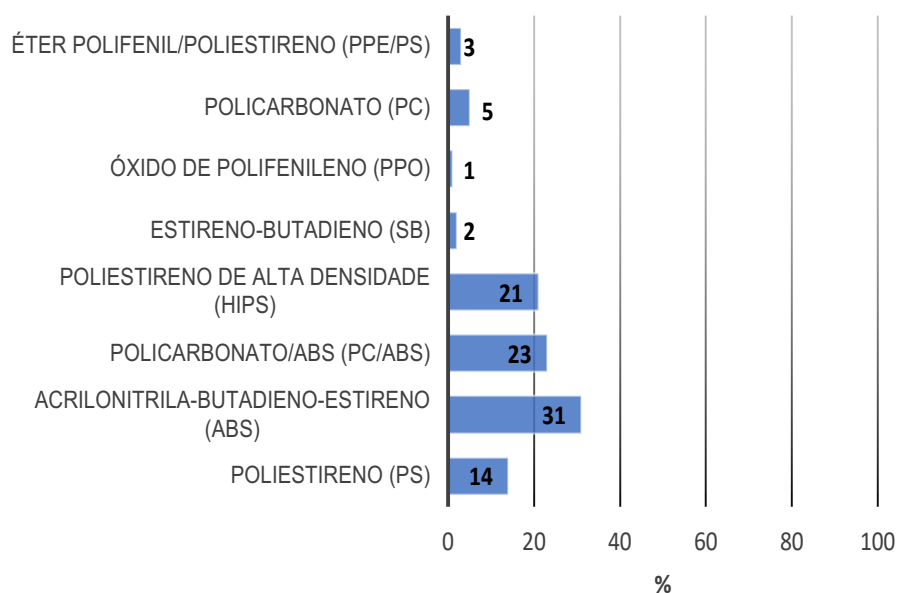


Figura 5 - Composição dos plásticos na sucata eletrônica de impressoras obsoletas (Martinho et al., 2012)

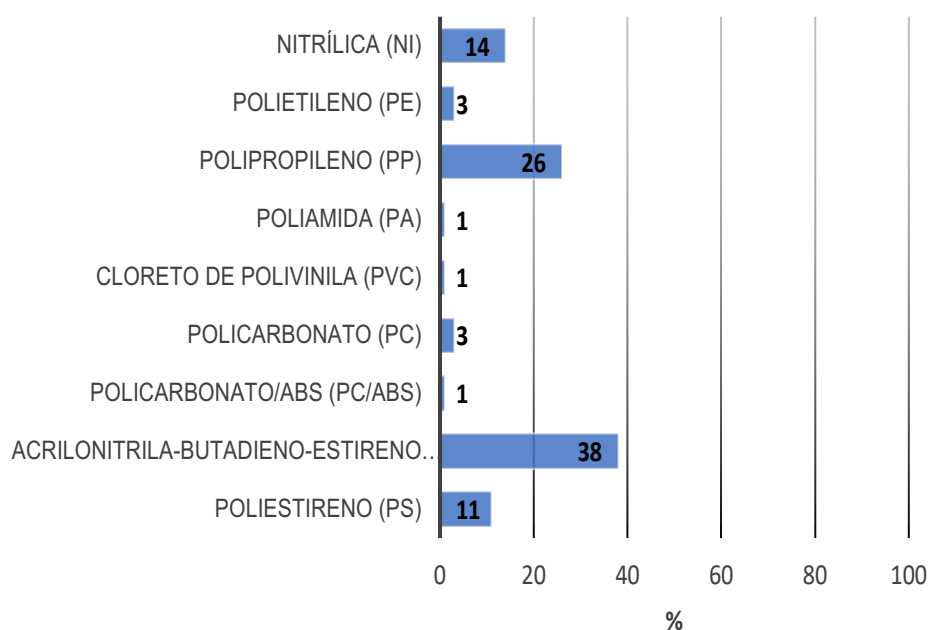


Figura 6 - Composição dos polímeros nos REEE de pequeno porte (Martinho et al., 2012).

Polímeros contendo retardantes de chama bromados podem ser degradados com fluidos supercríticos como isopropanol, água, metanol, acetona em temperaturas acima de 300 e 400 °C. O isopropanol promove a despolimerização, formando um óleo que contém bromo. O bromo pode ser removido por lavagem com uma solução

de KOH (Wang et al., 2012). O solvente indicado para o tratamento de polímeros contendo o retardante de chama como o tetrabromobisfenol A é o metanol, com pouco efeito sobre a fração não metálica dos REEE (Zhang et al., 2012). A Tabela 5 mostra alguns exemplos de patentes para a recuperação de materiais não metálicos (Rocchetti et al., 2018).

Tabela 5 – Exemplos de patentes para a recuperação de materiais não metálicos provenientes de PCI (Rocchetti et al., 2018).

Título da Patente	Número	Ano
Método para preparar adsorvente utilizando material de isolamento não metálico de PCI de resíduos	CN106166473	2016
Método e preparação de compósitos de resíduos orgânicos de PCI com pó não-metálico e PET	CN105524434	2016
Método de preparação de plástico de polipropileno e pó metálico de resíduos de PCI	CN104387660	2015
Método de tratamento da fumaça com retardante de chamas de PVC de resíduos de PCI	CN104710708	2015

Assim, para diminuir os problemas associados aos REEE como o aumento da quantidade de resíduos e a sua rápida obsolescência, algumas ferramentas são utilizadas para o gerenciamento deste tipo de resíduos como a análise do ciclo de vida (LCA), a avaliação do fluxo de material (MFA), a tomada de decisão com base em alguns critérios (MCA) e os programas de responsabilidade do produtor (EPR) (Kiddee et al., 2013). Esses assuntos serão abordados a seguir na legislação associada aos REEE.

3.1.2. Legislação dos REEE

As iniciativas para mitigar os problemas causados pelos REEE visam a reciclagem dos materiais, assim como diminuir a sua geração. A avaliação do ciclo de vida do produto (LCA) é uma maneira de delinear os equipamentos eletroeletrônicos (EEE) mais sustentáveis e tentar reduzir os obstáculos relacionados à sucata eletrônica. Algumas aplicações utilizando a ferramenta LCA mostraram que a reciclagem é a técnica ideal para o gerenciamento de rejeitos quando comparada a outros métodos como a incineração e a disposição em aterros controlados (Apisitpuvakul et al., 2008; Choi et al., 2006; Scharnhorst et al., 2005). A análise do fluxo de material (MFA) é uma tática utilizada para monitorar a rota do resíduo

eletrônico por meio dos locais para reciclagem, estocagem e deposição (Kiddee et al., 2013). A ferramenta MFA avalia o volume de REEE gerado e indica os países que recebem (importação) e os que exportam REEE no mundo (Liu et al., 2006; Puckett et al., 2005). A exportação ilegal da sucata eletrônica constitui um problema socioambiental e dentre os destinos encontram-se países da África como Nigéria, Quênia, Gana entre outros, da Ásia como China, Vietnã, Paquistão, Índia entre outros. O impacto da reciclagem e processamento informal mostra as consequências imprevisíveis de um procedimento incorreto dos REEE na saúde da população e os riscos de contaminação ambiental (Sthiannopkao et al., 2013; Schmidt, 2006).

A ferramenta de tomada de decisão com múltiplos critérios (MCA) juntamente com outras metodologias, contribuem no gerenciamento do REEE (Kiddee et al., 2013). Com a necessidade de uma legislação no controle da geração dos REEE, foram adotadas medidas como o programa de responsabilidade estendida do produtor (EPR) que confere aos produtores a responsabilidade de recolher e tratar os produtos no final dos ciclos de vida (Kiddee et al., 2013). O programa tem como base o controle da poluição com uma política direcionada aos produtos, e não aos resíduos, diminuir o impacto ambiental nos locais de produção e a prevenção de problemas ambientais com mudanças nos projetos dos produtos.

A logística reversa dos EEE visa o envio desses equipamentos à indústria de reciclagem, evitando o descarte e a mistura desses produtos com os resíduos sólidos urbanos (Lu et al., 2012; Hua et al., 2009). Como incentivadores dessa política estão a legislação do país e as vantagens aos consumidores na aquisição de novos produtos. Além disso, outros fatores devem ser considerados como o custo-benefício dos produtos, a escala de produção/qualidade e integração-coordenação dos envolvidos. Nos problemas identificados para as políticas de logística reversa estão as leis não aplicadas com firmeza, pouco incentivo à reciclagem e a falta de esclarecimentos sobre os problemas causados no descarte indevido dos EEE. A maneira adequada para estabelecer uma logística reversa é estruturar grupos e empresas de reciclagem acompanhadas de políticas governamentais. A Tabela 6 mostra exemplos das empresas que recuperam os materiais a partir dos REEE (UNEP, 2011).

Tabela 6 – Informações das instalações industriais das empresas que recuperam os metais a partir do REEE.

Empresa	Localização	Capacidade	Resíduos	Material Reciclado	Montante Recuperado
Aurubis (a)	Hamburg (Alemanha) Lünen (Alemanha) Olen (Bélgica) Pirdop (Búlgaria)	700.000 ton/ano	Cobre de REEE	Cu (99,99 %), Ag (99,99 %), Au (99,99 %), Se (99,99 %), Pb (99,98 %), ácido sulfúrico (94-98 %), ferro e silicatos	Cu: 1140 kt/ano
Boliden (b)	Skelleftehamn (Suécia)	200.000 ton/ano	Metais e outras Matérias-primas de REEE	Cu (99,99 %), Ag (99,99 %), Au (99,99 %), Se (99,99 %), Pb (99,97 %), platina, paládio, zinco, óxido de alumínio, ferro, ácido sulfúrico	Cu catodo: 207 kt/ano; PB: 28 kt/ano; Zn clinker: 32 kt/ano; Au: 14 ton/ano; Ag: 508 ton/ano; ácido sulfúrico: 533 kt/ano
Dowa (c)	Kosaka (Japão)		PCI e resíduos do processo de fundição do Zn	Au, Ag, Cu, Pb, Zn, In, Pt, Pd, latão, Rh, Sb, Bi, Te, sulfato de Ni, ácido sulfúrico	
Glencore (d)	Rouyn-Noranda: Fundição e Montreal: Refinaria de Cobre (Quebec)	840.000 ton/ano	REEE	Após a fundição: Cu anodo (99,1 %) Após o refino: Cu catodo (99,99 %) Au, Ag, concentrado de Pt	
Umicore (e)	Hoboken (Bélgica)	500.000 ton/ano	Subprodutos de não ferrosos, sucata eletrônica, catalisadores, lingotes etc.	Cu (99,99 %), Ag (99,99 %), Au (99,99 %), Pd (99,95 %), Pb (99,97 %), Pt (99,95 %), In (99,99 %), Pb (99,97 %), Latão, Bi, Se (99,99 %), Te (99,99 %), Ru, Rh (99,95 %), Ni, Ir, Ar, Sb, ácido sulfúrico	Ag: 2400 ton/ano; Au: 100 ton/ano; Pt: 25 ton/ano; Pd: 25 ton/ano; Rh: 5 ton/ano; In: 50 ton/ano; Se: 600 ton/ano; Te: 150 ton/ano; Pb: 125 Kt/ano; Cu catodo: 36 Kt/ano; Ni intermediário: 2 Kt/ano; ácido sulfúrico: 100 Kt/ano

- (a) Aurubis, 2017
- (b) Boliden, 2017; Mark et al., 2000
- (c) Dowa Eco System, 2017
- (d) Glencore recycling, 2017
- (e) Stamp et al., 2013; Hagelüken, 2006

A pureza dos elementos recuperados está expressa em porcentagem entre parênteses.

Os resíduos sólidos no Brasil, iniciaram com a promulgação da Lei nº 11.445 de 2007 da Política Nacional de Saneamento Básico (PNSB) que estabelece diretrizes para o saneamento básico, no qual a referida regulamentação incluiu nos planos de saneamento, os resíduos sólidos pelos municípios (Brasil, 2007). Em 2 de agosto de 2010 foi aprovada no Congresso Nacional a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) através da Lei nº 12.305. A lei dispõe que os resíduos devem ser reutilizados ou reciclados, ou ocorrer a recuperação e o aproveitamento energético, ou ainda ser feita a compostagem antes da disposição final dos rejeitos em aterros de forma a minimizar os impactos ambientais (Brasil, 2010).

Um dos pontos importantes da Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) exige dos governos estaduais a criação e estruturação de planos de gestão de resíduos sólidos seguindo as normas vigentes. A PNRS estabelece ainda que os fabricantes, importadores, distribuidores e comerciantes de produtos eletroeletrônicos e componentes instituem programas de logística reversa (Brasil, 2010; Espinosa et al., 2014).

A Política Nacional de Resíduos Sólidos, regulamentada pelo Decreto n° 7.404 de 23 de dezembro de 2010 e outros diplomas legais, não define o destino da sucata eletroeletrônica em âmbito nacional com exceção das pilhas e baterias através da Resolução CONAMA n° 401 de 4 de novembro de 2008 e a Instrução normativa do IBAMA n° 3 de 3 de março de 2010 (Brasil, 2010; Brasil, 2010). Em função da falta de uma legislação federal específica, cada estado passou a editar normas diferentes para os REEE. No entanto, uma maneira de diminuir o processo burocrático na gestão dos resíduos sólidos foi proposta pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) que criou um conjunto alternativo e simplificado de regulamentações. A EPA tem como objetivo incentivar a reciclagem e a sustentabilidade, preocupados com o meio ambiente, segurança e saúde (EUA, 2005; EUA, 1999; EUA, 1995; EUA, 2005).

Em 1989, alguns países discutiram o controle de resíduos perigosos e seus depósitos. A partir deste encontro, surgiu a Convenção de Basileia, à qual o Brasil aderiu através do Decreto n° 875 de 19 de julho de 1993 (Basel, 2011; Brasil, 1993). As normas estabelecidas pela Convenção da Basileia para classificar resíduos foram promulgadas pelo Brasil através da Resolução CONAMA n° 23 de 12 de dezembro de 1996. Essa resolução utiliza ainda os anexos A, B e H da NBR 10.004 (Brasil, 1996; ABNT, 2004). Por intermédio do Decreto n° 4.581 de 27 de janeiro de 2003, o Brasil promulgou a Emenda ao Anexo I e Adoção dos Anexos VIII e IX da Convenção de Basileia, que dependendo da composição do resíduo eletroeletrônico, este pode ser classificada como Resíduo Perigoso ou Não Perigoso (Brasil, 2003).

A dificuldade em se classificar o resíduo eletroeletrônico em uma única classe se deve à variedade dos equipamentos eletroeletrônicos, à diversidade dos seus componentes e à composição dos vários elementos das referidas peças (European, 2003). As políticas mundiais sobre a sucata eletroeletrônica estão mais restritivas com o intuito de banir o uso de componentes perigosos e a substituição de alguns elementos por elementos menos tóxicos na produção dos equipamentos e

componentes eletroeletrônicos. A Diretriz Européia dos WEEE e a RoHS (Restrição de Determinadas Substâncias Perigosas) restringem a utilização de certas substâncias tóxicas em equipamentos e componentes eletroeletrônicos (Aizawa et al., 2008).

Em São Paulo foram criadas a Lei n° 13.576, em 6 de julho de 2009 e a Resolução SMA 024, de 30 de março de 2010. Com isso, criou uma lei exclusiva para os resíduos eletroeletrônicos, sendo que os artigos 1°, 2°, 3° e 5° que definem o termo “lixo eletrônico” e a destinação. A lei transmite a responsabilidade da destinação final para as empresas que produzem, comercializam ou importam produtos e peças eletrônicas. A definição do “lixo tecnológico” foi considerada como os equipamentos e peças eletroeletrônicas de uso industrial, comercial, doméstico e no setor de prestação de serviços em desuso (São Paulo, 2009).

A Resolução SMA 024 disposta no artigo 19, do Decreto Estadual n° 54.645, de 5 de agosto de 2009, regulamenta a Lei n° 12.300, de 16 de março de 2006. Os artigos de resíduos eletroeletrônicos desta Resolução foram substituídos pela Resolução SMA n° 131, de 30 de dezembro de 2010, no qual a responsabilidade pós-consumo passa a ser dos fabricantes, distribuidores ou importadores dos equipamentos eletroeletrônicos e suas peças. A Resolução menciona os pontos importantes como a reciclagem, a recuperação e a reutilização (SP, 2013; SP, 2010). A Resolução SMA n° 038 promulgada pela Secretaria do Meio Ambiente, em 02 de agosto de 2011, estabelece prazo aos fabricantes, importadores, distribuidores e comerciantes para a implantação do programa de responsabilidade pós-consumo para os equipamentos eletroeletrônicos entre outros (São Paulo, 2011).

3.2. Placa de circuito impresso (PCI)

As placas de circuito impresso (PCI) são consideradas parte essencial dos equipamentos eletroeletrônicos (EEE) e são encontradas na maioria dos produtos eletroeletrônicos como no setor de informática, sistemas aeroespaciais, telecomunicações e automação (ABRACI, 2006). As PCI são componentes constituídos por uma placa denominada de laminado, composta de polímeros e resinas orgânicas com fibras e materiais cerâmicos (silicatos, aluminossilicatos de cálcio, potássio, bário entre outros), na qual são depositadas trilhas de cobre com a função de conectar as partes elétricas como capacitores, processadores, entre outros.

Devido à necessidade de redução do tamanho dos equipamentos e do aumento de conexões nos componentes, as PCI no início, possuíam impressões de trilhas de cobre em apenas um dos lados da placa (face simples). Em seguida, surgiram as PCI de face dupla com a impressão das trilhas de cobre nos dois lados (face dupla) e posteriormente, com o avanço tecnológico, surgiram as PCI multicamadas (multicamadas), que chegam a apresentar até 40 camadas com mais de 30 etapas para produção (Melo et al., 2001). No final, a PCI é coberta por uma camada de resina com um corante verde contendo retardantes de chama para retardar a propagação de chamas em princípios de incêndio.

A composição dos componentes utilizados na produção das PCI varia de acordo com a utilização da placa (Coombs, 2008). As resinas epóxi difuncionais são necessárias para placas dupla face, assim como as resinas epóxi multifuncionais ou ésteres de cianeto são adequadas para placas multicamadas (Hall et al., 2007a). As placas utilizadas em eletrodomésticos e televisores, são constituídas de um laminado, cuja placa é um aglomerado de papel reforçado com resina fenólica que recebe a denominação de FR-2. Os equipamentos de telecomunicações e computadores, utilizam placas fabricadas de fibra de vidro reforçada com resina epóxi, de nomenclatura FR-4 (Kelley, 2008; Lassen, et al., 2009; Melo et al., 2001). A sigla FR significa que substâncias como os retardantes de chama estão presentes na fabricação das PCI. A Tabela 7 apresenta os laminados utilizados em PCI e a sua composição (Kelley, 2008).

Tabela 7 – Tipos de laminados utilizados nas PCI (Kelley, 2008).

Tipo	Resina	Retardante de Chama	Reforço
FR-2	Fenólica	Sim	Papel
FR-4	Epóxi	Sim	Fibra de Vidro
CEM-1*	Epóxi	Sim	Papel/Fibra de Vidro
CEM-2*	Epóxi	Não	Papel/Fibra de Vidro
CEM-3*	Epóxi	Sim	Fibra de Vidro

Em geral, a fração em massa de metais é de cerca de 28 % (~20% Cu, ~5 % Pb, ~3% Ni) a fração em massa de plásticos é em torno de 19 %, com o bromo na forma de retardante de chama com cerca de 4 % e o restante das placas é composto por material cerâmico com cerca de 49 % (Veit et al., 2005). Em geral, não há uma

homogeneidade nos materiais utilizados na fabricação das PCI e dependem do processo produtivo, do tipo de equipamento e da disponibilidade dos componentes (Veit et al., 2006; Melo et al., 2001; Cui et al., 2003).

O cobre é o metal presente em maior quantidade nas PCI, sendo utilizado na confecção das trilhas elétricas, na produção de circuitos elétricos, na constituição de componentes eletrônicos, como as resistências metálicas, nas quais são depositadas películas metálicas constituídas de níquel-cromo, cobre-níquel e cobre-níquel-manganês, sobre uma superfície de cerâmica ou de óxido metálico constituído de óxido de zinco (Hall et al., 2007a; Koyama et al., 2006; Lee, 2002; Park et al., 2009; Veit et al., 2006; Zhou et al., 2010). Outros metais como o ferro, níquel e paládio estão presentes nos componentes elétricos e na solda utilizada nas placas (Goosey et al., 2002; Xavier et al., 2014; Ernst et al., 2003).

A evolução dos dispositivos eletroeletrônicos requer uma maior capacidade de processamento, que gera consideráveis quantidades de calor que precisam ser retiradas. Em função disso, são usados componentes não orgânicos como aço e alumínio (Nakahara, 2008). O alumínio também é utilizado na composição de capacitores e o estanho está presente em soldas e em revestimentos anticorrosivos (Oliveira, 2012).

3.3. Tratamento das PCI

O tratamento das PCI é um processo complexo em função da heterogeneidade da sua composição e as etapas para a reciclagem das PCI são (Li et al., 2004):

- Pré-tratamento: processo de desmontagem dos equipamentos eletroeletrônicos obsoletos por meio do desmantelamento manual para a separação dos componentes, peças em geral e metais tóxicos (Silvas, 2014).
- Beneficiamento: utilizam-se os processos mecânicos/físicos e ou processos metalúrgicos e as operações unitárias de Tratamento de Minérios como a cominuição em moinhos de facas, martelos e rolos (fragmentação para a redução do tamanho e a liberação do material); classificação granulométrica (por intermédio de peneiras com aberturas diferentes para separação de frações em granulometrias específicas); separação magnética (separação dos materiais magnéticos e possível classificação em ferromagnéticos, paramagnéticos e diamagnéticos); separação eletrostática (separação conforme as propriedades elétricas e classificados em condutores, mistos

e não condutores); separação em meio denso; operação de flotação entre outros, no intuito de concentrar o teor de materiais para a etapa de refino (Luz et al., 2004; Chaves et al., 1999).

- Refino: recuperação dos materiais. No processamento mecânico, na etapa de refino, os metais são dissolvidos por meio de técnicas metalúrgicas, como os processos pirometalúrgicos, hidrometalúrgicos e biotecnológicos (Silva et al., 2018; He et al., 2017), ou ainda a combinação de tecnologia metalúrgicas e químicas (Zhang et al., 2016). No refino, os materiais podem ser recuperados através da técnica de precipitação e ou de cementação (reações químicas de dupla troca entre o metal de interesse e uma substância). Em determinadas situações em que ocorrem reações eletroquímicas ou reações de oxirredução, o processo é denominado de cementação e processo de eletro obtenção ou eletrorecuperação (utilizada na purificação do metal com um sal metálico que em solução de sais fundidos ou eletrólitos aquosos, sofre uma reação de redução através de uma corrente contínua em um catodo (densidade de corrente por área) (Treybal, 1996; Jackson, 1996). A Figura 7 apresenta um fluxograma das etapas de processamento das PCI (Cui et al., 2008; Oliveira, 2012).

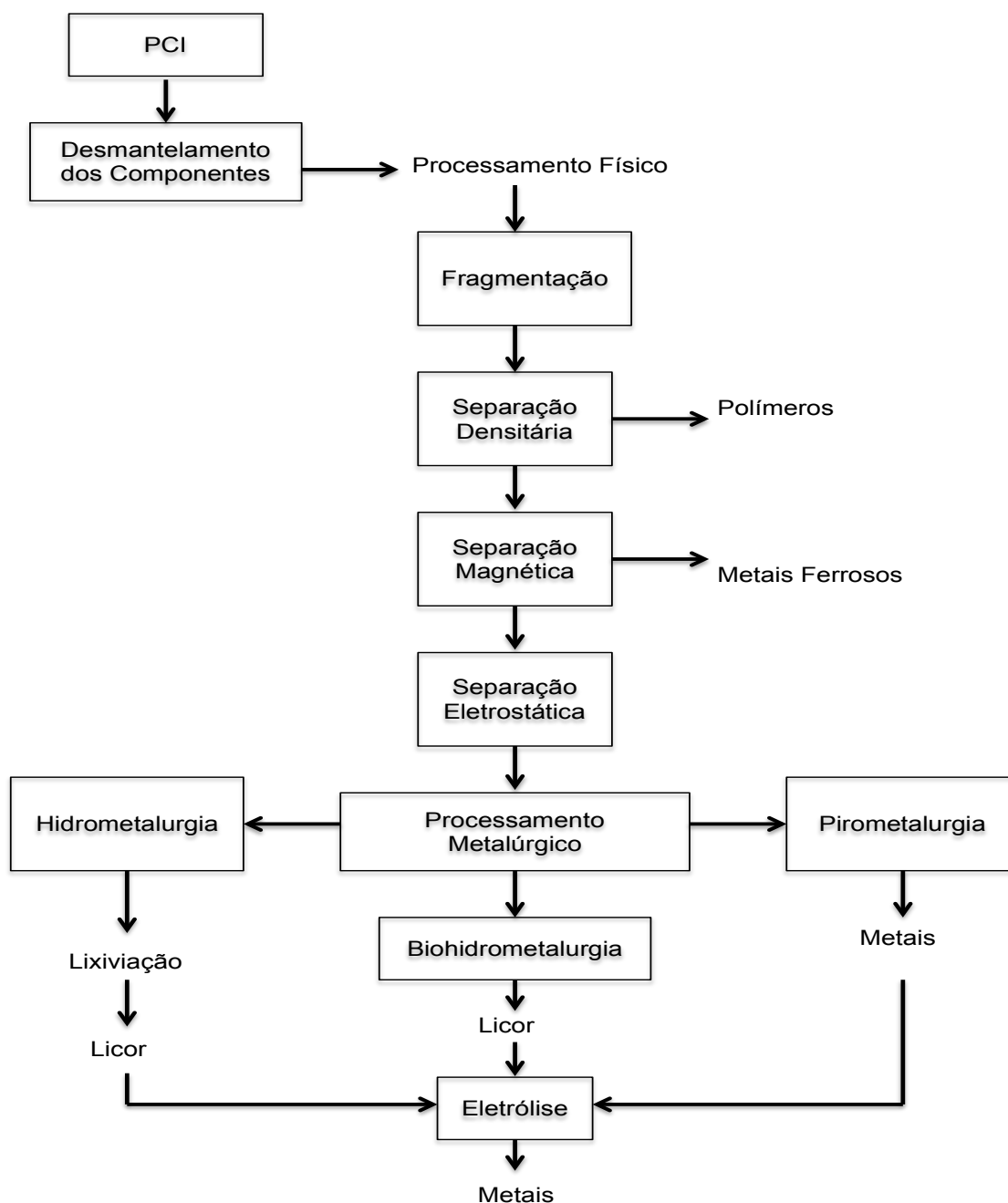


Figura 7 - Fluxograma dos processos de tratamento das PCI (Oliveira, 2012).

Os processos eletroquímicos com relação aos REEE têm como base as etapas de refino no final do processo, ou seja, os metais concentrados por processos hidrometalúrgicos / biohidrometalúrgicos podem ser eletrodepositados sobre um eletrodo inerte (Sum, 1991). Este processo de eletrodeposição é utilizado para a recuperação do cobre do lixiviado (Maguyon et al., 2012; Kasper et al., 2011; Oishi et al., 2007; Veit et al., 2006)

3.3.1. Processamento mecânico

As PCI são consideradas uma fonte secundária de metais e polímeros. O processamento mecânico das PCI inicia com a etapa de desmontagem, como um método para separar os componentes (Gungor et al., 1999; Li et al., 2004). Em seguida, realiza-se a etapa de cominuição para a liberação dos metais de outros constituintes das PCI (Rao et al., 2006; Guo et al., 2011; Tan et al., 2011). A separação granulométrica aumenta a concentração dos metais nas frações grosseiras (partículas > 5 mm) devido à diferença de resistência mecânica entre os metais e os materiais não metálicos como os plásticos e cerâmicas que se fragmentam com mais facilidade (Yoo et al., 2009). Veit e colaboradores (2002) verificaram uma concentração de 24,34 % em massa de cobre na fração com tamanho de partícula de $0,50 < d < 1,0$ mm contra apenas 6,28 % na fração com partículas de tamanho de $d < 0,25$ mm.

A técnica de separação magnética é utilizada na concentração de materiais com base na aplicação de um campo magnético que podem ser classificados em os materiais que são atraídos e os que são repelidos pelo campo magnético. Os materiais que são atraídos pelo campo magnético, estão os ferromagnéticos (níquel, cobalto, ferro) e os que são repelidos incluem-se os diamagnéticos como cobre, prata, zinco, cádmio, estanho. Os materiais que são atraídos fracamente pelo campo são os paramagnéticos como titânio, platina, alumínio, cálcio. (CETEM, 2010).

A separação magnética pode ser executada em artefato de alta e baixa intensidade e em aparelhagem de correia cruzada com as duas faixas de intensidade (Moraes, 2011). Os equipamentos de separação magnética de baixa intensidade são utilizados para os metais ferromagnéticos de não ferrosos e resíduos não condutores (Cui et al., 2003). Para a separação dos metais não ferrosos dos resíduos não magnéticos são utilizados separadores eletrostáticos que tem como base a separação na diferença de propriedades dos materiais como densidade, formato, possibilidade de captar cargas elétricas superficiais e condutibilidade elétrica (CETEM, 2010).

Para a separação do material em condutor, não condutor e fração mista, são necessários a presença de carga elétrica superficial nas partículas e um campo elétrico de intensidade o bastante para movimentar uma partícula carregada eletricamente na região do campo magnético (CETEM, 2010). Veit et al., 2006 mostraram o funcionamento do separador eletrostático no qual os materiais não condutores como os polímeros carregaram-se de carga no campo elétrico e foram

atraídos pelo tambor do separador. Os materiais condutores que não adquiriram carga, ficaram livres e os materiais de fração mista foram reprocessados. Após as separações eletrostática e magnética para as PCI, os produtos finais após os processos apresentam uma concentração dos metais nas frações magnéticas e condutoras. Veit et al., 2006 observaram nas frações resultantes no processamento mecânico de PCI de REEE, que o cobre foi o metal em maior quantidade e que ficou concentrado na fração condutora com 53,04 % em massa, assim como o estanho que foi de 20,22 % em massa. O ferro foi um dos metais retido, pelo separador magnético com 43,81 % em massa e o níquel com o teor de 14,96 % em massa. Contudo, mesmo com o aumento da concentração dos metais, os mesmos podem ser ainda mais enriquecidos e separados pelos processos metalúrgicos de pirometalurgia, hidrometalurgia, biohidrometalurgia e eletrometalurgia (Veit et al., 2006).

3.3.2. Processamento pirometalúrgico

O processamento pirometalúrgico tem, como princípio, a separação térmica dos materiais e inclui alguns processos como pirólise, incineração, fundição, formação de escória, sinterização e reações em elevadas temperaturas (Hoffmann, 1992). Na recuperação de metais de PCI (metais ferrosos e preciosos), o processamento térmico utiliza temperaturas entre 350 °C e 950 °C para a degradação do material polimérico, com conseqüente concentração dos materiais cerâmicos e alguns óxidos metálicos na escória (Cui et al., 2008; Sum, 1991). A Tabela 8 mostra alguns exemplos de patentes com processos pirometalúrgicos aplicados a PCI (Rocchetti et al., 2018)

Tabela 8 – Exemplos de patentes de processos metalúrgicos aplicados a PCI (Rocchetti et al., 2018).

Título da Patente	Número	Ano
Método de tratamento combinado de metalurgia para resíduos de PCI multi-metal em pó	CN106381391	2017
Método de reciclagem de metal em pó de resíduos de PCI	CN104694759	2015
Método para eliminar o retardante de chamas de plástico PVC a partir do concentrado de resíduos de PCI	CN104710708	2015

As PCI são constituídas de plásticos, metais e fibra de vidro (Hall et al., 2007b). A fibra de vidro é considerada um compósito termofixo ou material plástico não reciclável pois não pode ser fundida nem moldada (Jie et al., 2008). Os aditivos encontrados nos polímeros dos REEE como os retardantes de chama (hidróxido de alumínio, boratos, fosfatos, trióxido de antimônio, hidróxido de magnésio e

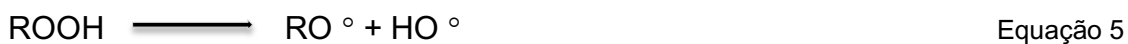
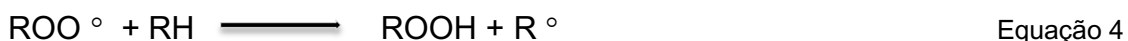
halogenados) que contêm bromados, reduzem o ponto de fusão dos polímeros e por isso impossibilitam o seu processamento mecânico; dificultam o seu coprocessamento (queima) em cimenteiras e o seu reprocessamento na produção de novos componentes plásticos. Os polímeros que contêm os compostos orgânicos bromados são conhecidos como os polibromados (PBDE), hexabromociclododecano (HBCD), tetrabromobisfenol A (TBBPA) e polibromofenilo (PBB) (De Wit, 2002).

A queima dos retardantes de chama pode produzir dibenzo-p-dioxinas e dibenzofuranos que se destacam pela toxicidade (Menad et al., 1998; Schwetz et al., 1973). O processo de pirólise a seco (sem oxigênio) pode ser um método para a reciclagem de PCI, na presença de óxidos de metais como ZnO, Fe₂O₃, CuO, La₂O₃, CaCO₃ e CaO. O propósito da utilização desses óxidos é de fixar o bromo como oxibrometo inorgânico, evitando a liberação de compostos organobromados, HBr e Br₂.

Na pirólise (na ausência de oxigênio) das PCI ocorre a decomposição dos compostos orgânicos com a formação de gases e um óleo da pirólise que são utilizados como combustíveis (Jie et al., 2008). Os gases da pirólise são constituídos de gases combustíveis (alcanos, alcenos, formaldeído e CO); gases não combustíveis (vapor d'água e CO₂); gases corrosivos (HCl e HBr). Os produtos líquidos da pirólise são compostos por fragmentos das cadeias dos polímeros como fenol, 4-(1-metiletilfenol), p-hidroxifenol, tetrabromobisfenol A (TBBPA) e produtos gerados da decomposição da resina epóxi. Os resíduos ou partículas sólidas da pirólise são formados por fuligem, fibra de vidro, metais e cargas minerais. As cinzas contêm cobre, ferro, zinco, alumínio, níquel, cálcio e prata (Hall et al., 2007a; 2007b).

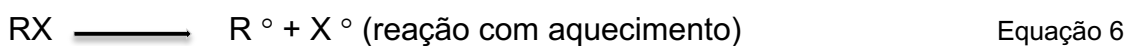
A presença de elementos como estanho, chumbo, mercúrio e cromo hexavalente na concentração acima de 1000 ppm e para o cádmio no teor acima de 100 ppm, impedem a reciclagem dos polímeros devido que esses metais catalisam a degradação dos polímeros nos processos de reciclagem (Martinho et al., 2012; Fujimori et al., 2012). Os problemas no processamento dos polímeros causados pelos teores dos metais, explica porque a separação das frações metálica e não metálica deve ser realizada com critério.

A pirólise dos polímeros de PCI ocorre por um mecanismo de radicais livres com oxigênio. O processo forma grupamentos hidroperóxidos (ROOH) e a sua decomposição produz as espécies reativas H° e HO°. Um possível mecanismo de pirólise com as poliolefinas é ilustrado:



Na presença de oxigênio, as reações 2 e 3 aceleram o processo e o resultado final é a formação de hidrocarbonetos de baixo peso molecular e radicais livres reativos como H° e HO° .

Os aditivos retardantes de chama halogenados são compostos carbohalogenados RX , onde R é um radical orgânico e X é um halogênio. Os radicais reativos H° e HO° formados na combustão são neutralizados pelo carbohalogenado, dissociando o agente halogenado:



O radical halogenado reage com C-H para formar o ácido halogenídrico:



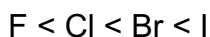
O ácido halonídrico reage com os radicais reativos H° e HO° estabilizando e interrompendo o mecanismo do processo de combustão:



Os radicais reativos H° e HO° são substituídos pelos radicais halogenídricos que atuam como retardante de chama e o ácido é regenerado pelo radical halogenídrico com C-H:



O ácido halogenídrico atua como um catalisador, não sendo consumido no decorrer do processo. A efetividade dos retardantes de chama halogenados segue a sequência:



Os retardantes de chama halogenados formam dois compostos pelos mecanismos de atuação: os organohalogenados e os ácidos halonítricos. Os compostos organohalogenados como os organobromados e os organoclorados são substâncias tóxicas e os ácidos halogenítricos possuem poder de corrosão.

Os compostos organo-halogenados podem aparecer nos óleos de pirólise e nos gases e a desalogenação deve ocorrer nos processos no tratamento de polímeros contendo retardantes de chama halogenados. Na pirólise libera HX (X = Cl, Br) no qual o cloro e o bromo são fixados como haletos inorgânicos.

No processamento pirometalúrgico de REEE estão associadas as vantagens de processar qualquer tipo de resíduo eletroeletrônico; de não necessitar de pré-tratamento e de ter poucas etapas no tratamento (Lewis, 2015). O processamento térmico de sucata eletrônica pode causar problemas como a formação de dioxinas e furanos através da queima de polímeros e outros materiais isolantes; a perda de metais através da evaporação de seus cloretos; cargas minerais e fibra de vidro aumentam a quantidade de escória no forno, elevando as perdas de metais nobres.

3.3.3. Processamento hidrometalúrgico

O tratamento de REEE pode ocorrer pela rota hidrometalúrgica com a lixiviação do resíduo através de uma solução lixiviante que pode ter características ácidas ou básicas ou ainda uma combinação das soluções lixiviantes para a dissolução dos materiais de interesse (Rosenqvist, 1974; Oliveira, 2012).

Na lixiviação o resíduo entra em contato com o agente oxidante em função dos metais que estão na forma reduzida ou em ligas (Dodson et al., 2012; Tuncuk et al., 2012). A lixiviação ácida (HCl, H₂SO₄, HNO₃) com um oxidante (Cl₂, H₂O₂, O₂, NaClO e Fe₃⁺) é utilizada para solubilizar metais como o cobre, na forma de cátions simples ou de ânions de ácidos complexos (Ackil et al., 2015; Yazici et al., 2013; Sun et al., 2015).

A lixiviação do resíduo com a produção de insolúveis e o liquor do processo de lixiviação, depende da afinidade com o lixiviante ácido (Buzatu et al., 2013). A solução lixiviada contém os materiais dissolvidos e segue para as etapas de separação e recuperação de metais de refino da prata e de metais preciosos (Jackson, 1986), com o emprego de soluções alcalinas (NaOH, KOH), de cianetos alcalinos (NaCN e KCN), utilizadas na extração de ouro de minérios de baixo teores (Ghosh et al., 2015). A

Figura 8 mostra de uma maneira geral, o fluxograma do processamento hidrometalúrgico para os resíduos de PCI (Jackson, 1986).

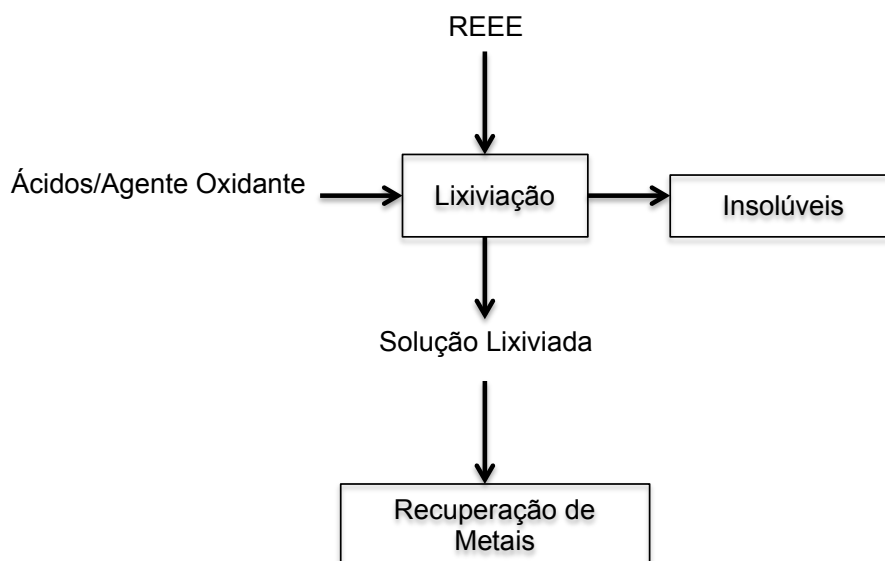


Figura 8 - Fluxograma de processamento hidrometalúrgico de REEE (Jackson, 1986).

Para o tratamento da sucata eletroeletrônica podem ser aplicadas diversas técnicas hidrometalúrgicas para a dissolução dos materiais. As técnicas hidrometalúrgicas podem envolver, na lixiviação química, o uso de reagentes químicos (cianeto, haleto, tiuréia, tiosulfato), os ligantes (EDTA, DTPA, NTA, oxalato), a decapagem hidrometalúrgica (FeCl_2 , CuCl_2 , ácido clorídrico e solventes orgânicos) e o tratamento envolvendo ácidos (H_2SO_4 , HCl , água régia, hipoclorito de sódio e mistura de ácidos como o H_2SO_4 com o HNO_3) (Pant et al., 2012). A Tabela 9 mostra alguns exemplos de patentes de processo hidrometalúrgicos para tratamento das PCI (Rocchetti et al., 2018).

Tabela 9 – Exemplos de patentes de processos hidrometalúrgicos – Extração e solubilização de elementos das PCI (Rocchetti et al., 2018).

Título da Patente	Número	Ano
Método para reciclar PCI obsoleto	JP2017041655	2017
Método para a remoção de Sn de resíduos de PCI multi-metal em pó e preparação com estanato de potássio	CN106381393	2017
Método de tratamento combinado de metalurgia para resíduos de PCI multi-metal em pó	CN106381391	2017
Método de pré-tratamento químico de mineração para resíduos de PCI multi-metal em pó	CN106381392	2017

O ácido sulfúrico (H_2SO_4) é um agente lixiviante utilizado em processos industriais, com as vantagens de que é mais barato que os demais ácidos, apresenta poucos problemas de corrosão durante o uso no processo e é indicado para a lixiviação de minérios (Habashi, 1970; CNI, 2012). Pode ser utilizado concentrado, diluído ou algumas vezes misturado com outros ácidos (Ferreira et al., 2011).

Na lixiviação estão envolvidos alguns princípios que podem afetar o processo como contaminação ambiental através do H^+ , CO_2 , O_2 , Cl^- , SO_4^{2-} , que podem causar fissuras ou tensões externas, assim como a erosão do material ou a degradação física da matriz sólida (Gupta, 2003; Volsky et al., 1978; Leaf, 2014). Outros fenômenos podem influenciar a lixiviação como os parâmetros físicos de tamanho de partícula, permeabilidade, porosidade e geometria.

Os parâmetros químicos como a composição do sólido, pH da solução, relação sólido/líquido, potencial de oxirredução, complexação, dessorção e atividade biológicas. Os fenômenos de transporte de massa como a difusão, equilíbrio, área superficial e a temperatura. Outros fatores como as concentrações das espécies, os sais insolúveis, OH^- e a composição do agente lixiviante como água, ácidos e quelantes também podem influenciar no processo da lixiviação (Rosenqvist, 1974; Jackson, 1986).

A dissolução da parte metálica está ligada à relação pH/Eh e pode ser estudada por meio dos diagramas de Pourbaix através dos sistemas metais/lixiviante de acordo com as temperaturas (Jackson, 1986; Habashi, 1970). A Figura 9 mostra o Diagrama de Pourbaix do sistema cobre-água a 25 °C e apresenta as espécies do cobre (HSC Chemistry).

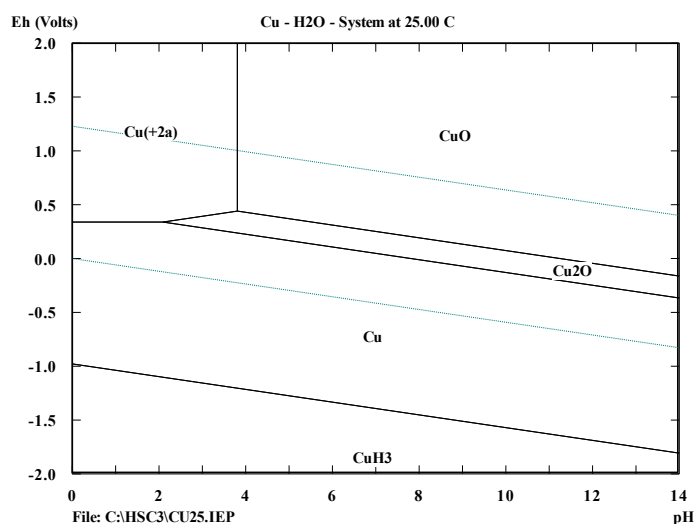


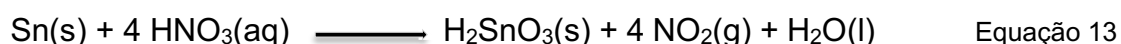
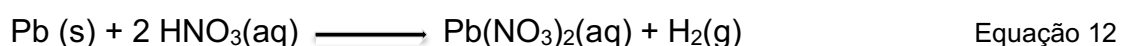
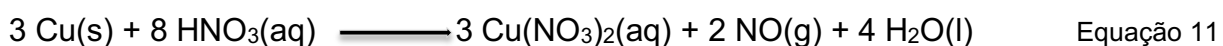
Figura 9 - Diagrama de Pourbaix: sistema Cu-H₂O, 25 °C, Software HSC Chemistry 3.02 (HSC).

O diagrama de Pourbaix do cobre-água a 25 °C mostra as regiões nas quais o cobre se apresenta na forma solúvel ou iônica e o campo de estabilidade de Cu^{2+} localiza-se na faixa de pH de 0 a 4 no potencial de oxirredução entre 0,4 V e 2 V (Moraes, 2011).

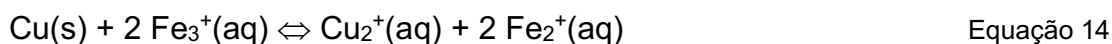
Na reciclagem de PCI, os agentes de lixiviação utilizados são os ácidos e a concentração depende do metal que se deseja solubilizar (Jackson, 1986; Deveci et al., 2010). Os metais básicos como cobre, alumínio, ferro, zinco, estanho, prata, chumbo entre outros, são solubilizados em meio ácido não muito concentrado e no qual não ocorre a solubilização dos metais nobres (Jackson, 1986; Kinoshita et al., 2003).

Kasper et al., 2011 recuperaram cobre de PCI de celulares e utilizaram água régia na razão sólido:líquido de 1:20 por duas horas a 60 °C e sem agitação. O cobre foi separado pelo processo de eletrodeposição com uma recuperação de 92,8 %. A água régia é utilizada na caracterização de REEE em função da capacidade de dissolução dos metais (Moraes, 2011; Yamane, 2012; Yamane et al., 2011).

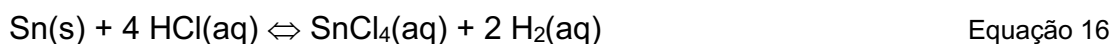
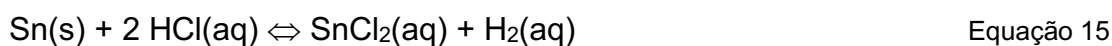
O HNO_3 pode ser utilizado para a dissolução de forma seletiva metais em PCI como Cu, Ni, Pb e Ag em relação ao Au e Sn (Bas et al., 2014; Kinoshita et al., 2003). Meccuci et al., 2002 realizaram experimentos com HNO_3 em temperaturas de 80 °C para a dissolução de Cu e Pb e obtiveram dissoluções de 83 % e 90 % respectivamente. Bas et al., 2014 extraíram 99,7 % de Cu utilizando HNO_3 5 mol / L após duas horas de dissolução. As equações a seguir, ilustram as reações com os metais Cu, Pb e Sn com HNO_3 :



Fogarasi et al., 2014 utilizaram H_2SO_4 na presença de um agente oxidante auxiliar como Fe_3^+ para promover a dissolução e recuperar o Cu. Íons de Fe_3^+ catalisam o processo de dissolução de metais (Gurung et al, 2013). Após a eletrodeposição com densidade de corrente de 4 mA/cm² e concentração inicial de Fe_3^+ de 0,37 mol/L, obtiveram 99,04 % de Cu. Segue a equação que mostra a reação pela dissolução do Cu em meio ácido com o oxidante Fe_3^+ :



Havlik et al., 2014 mostraram extrações de Cu com HCl < 1,0 % e concluíram que a pequena quantidade de Cu lixiviado foi devida à formação de óxido que recobriu as partículas de Cu. O HCl dissolve o estanho e pode manter o metal em solução de acordo com as reações envolvidas no processo de lixiviação:



Oishi et al., 2007 lixivaram PCI para recuperar Cu° e utilizaram sulfato de amônio e cloreto de amônio com cátions de Cu_2^+ como agente oxidante. Yang et al., 2012 utilizaram esse mesmo meio contendo amônia em concentrações iguais de 2 mol / L, em contato com cátions de Cu_2^+ como agente oxidante, na temperatura de 35 °C por 2 horas de lixiviação. Após o processo de lixiviação dissolveram 96,7 % de Cu e 99,7 % de Zn. Yazici et al., 2013 utilizaram ar/oxigênio em soluções de sulfato/cloreto (cloreto na concentração de 46,6 g/L) com Cu_2^+ como agente oxidante e dissolveram 92 % de Cu após 30 minutos.

Os metais em solução podem ser separados através de uma combinação de tecnologias como precipitação, extração por solventes, redução química, adsorção, troca iônica, cementação, eletrodeposição entre outras. A escolha dos processos de recuperação dos metais depende de parâmetros como o sistema de lixiviação, a concentração dos metais e os interferentes (Tuncuk et al., 2012; Yang et al., 2017).

As técnicas de separação dos metais possuem pontos positivos e negativos com relação ao consumo de insumos, geração de resíduos, seletividade e rendimento. Um ponto importante para a escolha da técnica de separação dos metais é a concentração dos mesmos presentes na solução.

A técnica de separação simples e de baixo custo é a precipitação química (Buzatu et al., 2013; Ferella et al., 2008; Ma et al., 2013) e a extração por solventes tem as vantagens de seletividade e de capacidade de ampliação da operação em escala comercial (Kasper et al., 2011; Lacerda et al., 2009; Sayar et al., 2009). A característica multicomponente da fração metálica, mesmo com as separações físicas, não escapa das etapas químicas de separação dos metais. A composição de

metais com propriedades químicas e físicas distintas, faz necessário a dissolução parcial ou total como meio para a separação e extração dos metais (Gotfryd et al., 2013; Willner et al., 2015).

A recuperação de metais das PCI pode seguir uma ordem geral como Cu, Ag, Pd, Al, Sn, Pb, Pt, Ni e Zn, mas a variação de composição pode mudar essa prioridade. Como desafio e incentivo aos estudos nesta área, muitos dos processos ainda não se viabilizaram em operação comercial devido ao consumo de energia, à quantidade de resíduos produzidos e à baixa seletividade de ácidos inorgânicos como agentes de lixiviação (Zhou et al., 2010; Ghosh et al., 2015; Zhu et al., 2012; Silvas et al., 2015).

3.3.3.1. Processamento biohidrometalúrgico

A biohidrometalurgia foi desenvolvida a partir da bioquímica dos microrganismos nos processos de solubilização dos metais (Yamane, 2012; Gupta, 2003). A base desses processos está nas interações físicas e ou químicas entre os microrganismos com o substrato e os seus subprodutos (Garcia, 1989; Morin, 2006).

Nos últimos anos, a recuperação e reciclagem de materiais a partir de REEE através da biotecnologia tem se mostrado uma técnica relevante como nas áreas da biometalurgia com o bioprocessamento de minérios de baixo teor da mineração (Garcia, 1989; Urenha, 1991). A Tabela 10 mostra alguns exemplos de patentes após o processo biometalúrgico (Rocchetti et al., 2018).

Tabela 10 – Exemplos de patentes com técnicas de precipitação e purificação, antes e após os processos metalúrgicos (Rocchetti et al., 2018).

	Título da Patente	Número	Ano
Após processos hidro/biometalúrgicos, incluindo eletrometalúrgicos	Processo para melhorar a eficiência biológica da lixiviação de cobre em resíduos de PCI usando nanotubos de carbono dopados com nitrogênio	CN104630488	2015
	Processo para reciclagem de cobre em resíduos de PCI	CN105039704	2015
Depois de Processos Pirometalúrgicos	Método de enriquecimento e separação de antimônio em multi-metal de PCI descartado	CN105039705	2015
	Método de enriquecimento e separação de níquel em multi-metal de PCI descartado	CN105039706	2015
	Método de enriquecimento e separação de cromo em PCI descartada	CN105039707	2015
	Método de enriquecimento e separação de cobalto em resíduos de PCI multi-metal de recursos híbridos	CN105039709	2015
	Método de enriquecimento e separação de cádmio em resíduos placa híbrida de metal híbrido	CN105039710	2015
	Enriquecimento e separação de estanho em multi-metal de PCI de resíduos	CN105039741	2015

Rosario (2017) investigou a capacidade de degradação bacteriana de cianeto com cepas nativas isoladas de rejeitos de mineração de ouro, e foram encontradas cepas como *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*. A cepa *B. licheniformis* apresentou uma taxa de degradação de cianeto de 99,5 % em temperatura de 32 °C e 190 rpm, comprovando o potencial de degradação das bactérias e o potencial na utilização como alternativa de tratamento em efluentes contaminados com cianeto.

Na recuperação de metais, as duas principais áreas da biohidrometalurgia são a biolixiviação e a bioissorção. A bioissorção se aplica nas propriedades como tamanho e estruturas da superfície, que determinados microrganismos vivos ou mortos, têm de interagir e concentrar íons de soluções metálicas (Dobson et al., 2007). A biomassa microbiana apresenta áreas superficiais específicas fornecendo sítios ativos com seletividade para sorção de íons metálicos. A aplicação da bioissorção se apresenta na tecnologia de biorremediação e pode ser utilizada para a recuperação de metais.

Baltazar (2017) estudou o potencial de bioissorção de cobre por dois microrganismos isolados de uma área de mineração: *Rhodococcus erythropolis* e *Enterobacter cloacae*, as quais apresentaram capacidades máximas de bioissorção de Cu^{2+} de cerca de 122 mg/g e 370 mg/g, respectivamente. As condições de bioissorção encontradas para as linhagens de bactérias foram de 28 °C, 180 rpm e 0,1 g/L de biomassa para pH de 5 e 6.

A biolixiviação encontra-se nos processos de solubilização dos metais por meio da ação de microorganismos (Brandl, 2008). O processo de lixiviação de metais a partir de fontes secundárias como matéria-prima com a ação de microorganismos tem apresentado resultados na recuperação dos metais de interesse, como no caso do lodo do processo de galvanização, do rejeito da fundição de cobre, da lama vermelha, dos solos contaminados entre outros (Bayat et al., 2010; Kaksonen et al., 2011; Qu et al., 2013; Ren et al., 2009).

A biolixiviação pode ser aplicada também em tratamento de REEE para a recuperação de metais pois é considerada uma tecnologia de baixo custo de instalação e operação, além de baixo consumo energético (Tuncuk et al., 2012). Alguns fatores devem ser considerados para determinar as condições adequadas para o processamento dos REEE como as propriedades e características do resíduo, tamanho da partícula e área superficial do substrato, adaptação dos microrganismos, pH, temperatura, potencial de oxirredução entre outros (Dodson et al., 2012).

A combinação das técnicas de bioissorção e biolixiviação é uma inovação que poderá auxiliar na interação dos microrganismos, recuperando e concentrando de forma seletiva os elementos, sem a necessidade do uso de reagentes tóxicos ou processos que produzem resíduos (Giese et al., 2018).

3.4. Biotecnologia no tratamento de resíduos

O uso da tecnologia microbiana tem se mostrado como um processo alternativo na recuperação de metais dos REEE. A combinação de processos como o de biolixiviação e bioissorção, têm se mostrado como tecnologias promissoras que podem ajudar na concentração de elementos contidos nos resíduos tecnológicos ou dispersos no meio ambiente, sem a necessidade do uso de produtos tóxicos ou processamentos com geração de resíduos (Górak & Stankiewicz, 2017).

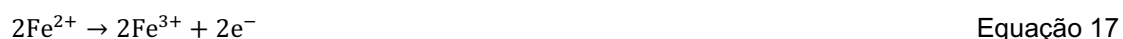
3.4.1. Parâmetros da ação bacteriana

Um dos aspectos físicos-químicos importantes da ação dos microrganismos que afeta a capacidade de oxidação inclui o pH. Os microrganismos acidófilos são capazes de crescer em ambiente ácido com uma variação do pH entre 1,5 e 4,5 como a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* que utiliza o ferro ferroso como fonte de energia (Tuovinen et al., 1990).

Para essa bactéria, valores na faixa de pH de 1,5 a 4,5 favorecem o crescimento, mas valores de pH menores que 1,5 e maiores que 4,5 resultam na inibição do crescimento bacteriano. Existem pesquisas que investigaram a resistência ao pH por parte dessa bactéria e sugeriram que a adaptação ao pH se deve ao contato do ambiente ácido à estrutura da membrana citoplasmática, assim como à composição da parede celular dos microrganismos (Smith et al., 1988; Pesic, 1996).

O pH de crescimento da *A. ferrooxidans* está em torno de 2,0 e o pH dentro da estrutura celular é de cerca de 6,5. Essa diferença de pH confere um gradiente na membrana celular e a quantidade necessária de prótons (H^+) para a redução do O_2 . (Cobley et al., 1983) As bactérias acidófilas necessitam de H^+ que associados com uma fonte energética (Fe^{2+}) e com a redução do O_2 , estabelecem um gradiente elétrico através da membrana para a formação da ATP (adenosina trifosfato). A ATP é uma molécula que tem a função de armazenar energia para as atividades vitais das células (Nelson et al., 2008).

A ATP pode ser produzida através de um processo de fosforilação oxidativa. Para a produção de ATP, um radical fosfato inorgânico (Pi) é acrescentado a uma molécula de ADP (adenosina difosfato), que utiliza a energia da decomposição de carboidratos como a glicose (fosforilação oxidativa) (Nelson et al., 2008). As equações 17, 18 e 19 mostram os elétrons na reação de oxidação do Fe^{2+} que liberam energia para a fosforilação oxidativa do ADP, com o O_2 aceitando os elétrons da reação.



O sistema ferro-oxidase, trata-se de um complexo enzimático que fica situado na membrana das células, que em conjunto com a cadeia respiratória, são responsáveis pela transferência dos elétrons de substratos oxidados. O sistema de transferência dos elétrons é composto por proteínas como o citocromo do tipo a_1 , dois citocromos do tipo c e a rusticianina (Ingledew et al., 1980). A Figura 10 mostra o sistema de captação e transferência de elétrons na oxidação do íon Fe^{2+} .

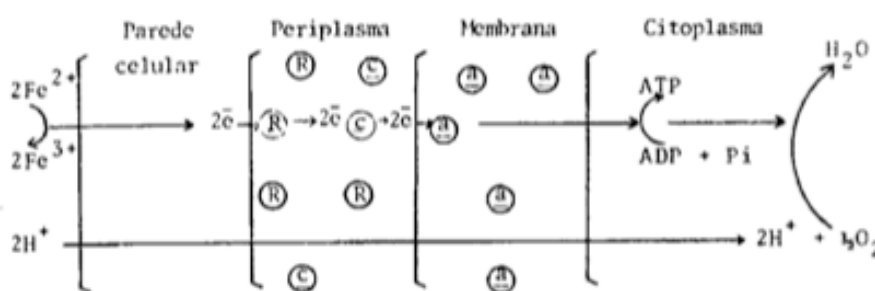


Figura 10 - Conjunto de captação e transferência de elétrons durante a oxidação de íons ferrosos (Ingledew et al., 1980).

A proteína rusticianina, situa-se no periplasma, que de acordo com a Figura 10, está entre a parede celular e a membrana, sendo o receptor inicial dos elétrons de substratos oxidáveis com os íons ferrosos. A sucessão de acontecimentos no sistema das células, durante a oxidação de íons Fe^{2+} , pode ser resumido de acordo com Ingledew et al., 1980:

O processo de adaptação de microrganismos aos substratos aumenta a velocidade da atividade microbiana. O cultivo sucessivo com acréscimos crescentes de substrato pode elevar a velocidade de oxidação. A adaptação dos microrganismos a doses progressivas de substrato aumenta a tolerância às concentrações maiores dos metais dissolvidos durante o processo da biolixiviação (Attia et al., 1985; Modak et al., 1995).

O mecanismo da tolerância de metais na bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* pode ser atribuído às bactérias não adaptadas que contenham uma quantidade de células tolerantes a substâncias tóxicas. As células tolerantes na presença de substâncias tóxicas e através do cultivo repetitivo, poderiam ser selecionadas. A maioria da população torna-se tolerante e se seleciona acima das outras (Modak et al., 1995).

3.4.2. Contagem das células bacterianas

O crescimento de uma população celular pode ser medido pelas alterações celulares ou na concentração de algum componente celular como uma proteína, ácidos nucleicos ou ao peso seco das células (Madigan et al., 2010). O desenvolvimento celular pode ser medido pelo método de contagem total de células com o uso de um microscópio em uma cultura microbiana e como um segundo método em amostras líquidas, pode ser utilizado o citômetro de fluxo.

A contagem microscópica é um método simples e rápido para estimar o número microbiano e a citometria de fluxo utiliza um equipamento complexo com raio laser para a contagem e diferenciação celular. A contagem dos números microbianos com o uso de microscópio apresenta desvantagens como sendo uma técnica que não é possível separar as células vivas de células mortas, sem o uso de colorações específicas; além de difícil visualização para células pequenas ou suspensões celulares de densidade menor do que 10^6 células/mL e ainda se a amostra apresentar precipitados podem ser confundidos com as células microbianas (Madigan et al., 2010).

Para se obter o número apropriado de células na amostra a ser contada, deve-se fazer diluições. Como não pode ser possível prever um número aproximado de células viáveis na amostra, realiza-se diluições seriadas da amostra. Para uma diluição decimal, pode-se misturar 1 mL da amostra a 9 mL de meio de cultura. Para uma diluição centesimal, deve-se misturar 0,1 mL da amostra a 9,9 mL de meio de

cultura ou de diluente. Uma diluição de 10^{-2} pode ser preparada com duas diluições decimais seriadas. Para uma diluição de 10^{-6} pode ser realizada com três diluições seriadas de 10^{-2} ou seis diluições sucessivas de 10^{-1} (Madigan et al., 2010).

A contagem de células viáveis pode ser realizada através do método de contagem em placas, uma vez que uma célula é capaz de crescer e dividir-se, formando uma colônia. Deste modo, o número de colônias e o número de células microbianas são proporcionais. A contagem em placas pode ser realizada pelo método de semeadura por espalhamento. No método de semeadura por espalhamento, um volume de 0,1 mL da cultura diluída é espalhado sobre a superfície de um meio sólido que pode ser ágar, com a ajuda de uma alça de vidro estéril. A placa fica incubada em uma estufa até que se desenvolva as colônias microbianas (Madigan et al., 2010).

A análise por citometria de fluxo é realizada com a metodologia de seleção das células ativas e exclusão das células mortas através da marcação com corante fluorescente. Esse equipamento diminui o tempo de análise e em comparação com a contagem visual. A contagem por citometria de fluxo permite a distinção das células de acordo com a dispersão ou absorção de luz e intensidade de fluorescência (Nebe-von-Caron et al., 2000; Givan, 2001).

Os parâmetros no citômetro de fluxo são realizados pela passagem da amostra por um feixe de laser com um determinado comprimento de onda e pela absorção da luz dispersa por cada célula ao passar pelo feixe de luz. Em cada análise podem ser passadas milhares de células por segundo. Os dados são analisados estatisticamente pelo software fornecendo as características celulares como tamanho, granulosidade e fenótipos das células de interesse (Invitrogen, 2011; Bacal et al., 2003; Shapiro, 2003). As células passam uma a uma pelo feixe do laser e são aspiradas e injetadas no meio de um fluxo contínuo. Conforme as células passam pelo laser, espalham a luz em todos os ângulos, como mostrado na Figura 11.

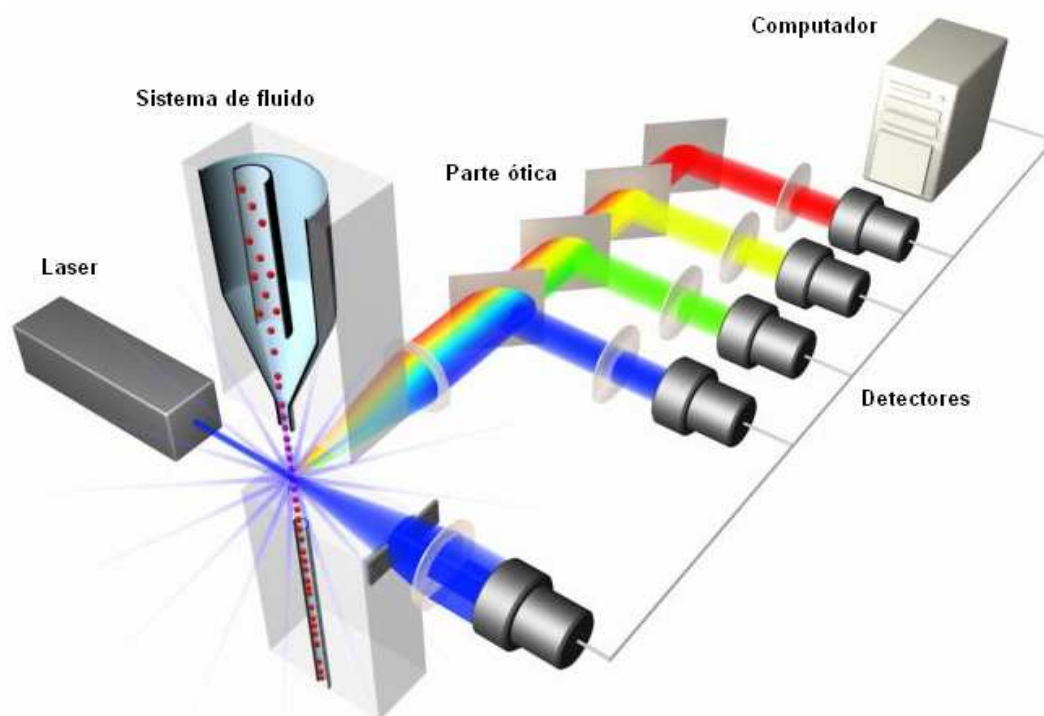


Figura 11 – Componentes do Citômetro de Fluxo (Invitrogen, 2011).

A dispersão frontal (*forward scatter* – FSC) é proporcional ao tamanho da célula e pode ser utilizada para analisar esse parâmetro. A luz espalhada é medida por um detector que transforma a intensidade em voltagem. As células de pequeno tamanho fornecem pequeno espalhamento de luz e células grandes espalham maior quantidade de luz, desta maneira, o pulso para cada célula é proporcional ao seu tamanho. A luz espalhada lateralmente (*side scatter* – SSC) é o resultado da sua granulidade e da característica estrutural da célula. A luz dispersa é focalizada por um sistema de lentes e coletada por um detector localizado a 90 graus do laser (Bacal et al., 2003; Ligler et al., 2010; Invitrogen, 2011).

As informações de fluorescência são coletadas da mesma forma que os dados de dispersão lateral e frontal. Na população de células marcadas com fluorófonos, algumas células emitirão mais fluorescência que as outras células. Cada célula que passa pelo laser, emite um sinal de fluorescência, conforme mostrado na Figura 12.

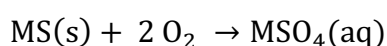


Figura 12 – Dispersões Frontal e Lateral e a Fluorescência (Invitrogen, 2011).

A luz fluorescente é direcionada ao detector, no qual é transformada em um pulso de voltagem. Este pulso de voltagem é equivalente a quantidade de fluorescência enviada ao detector. Os pulsos gerados são representados por gráficos ou por um histograma de intensidade de fluorescência em função do número de células. O gráfico de dispersão frontal (tamanho) e lateral (granulosidade) podem ser representados por um *dot plot*. Os *Beads* ou bilhas fluorescentes são usadas na calibração do equipamento e checagem da eficiência dos detectores, ou seja, verificar todas as condições do citômetro (Bacal et al., 2003; Invitrogen, 2011; Bushnell, 2015).

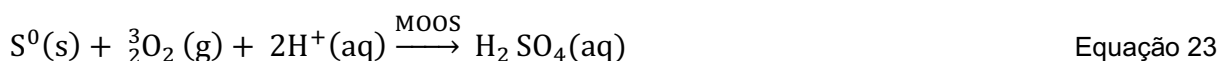
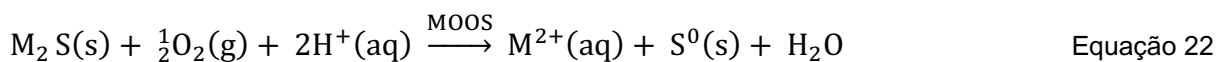
3.4.3. Mecanismos do processo de biolixiviação

Os mecanismos do processo de biolixiviação foram estudados a partir da reação de oxidação catalisada pela ação dos microrganismos que oxidam ions ferrosos e ou compostos sulfurados em minérios sulfetados (Holmes, 1989; Sand et al., 2001). A reação geral do processo de biolixiviação está representada pela Equação 21.

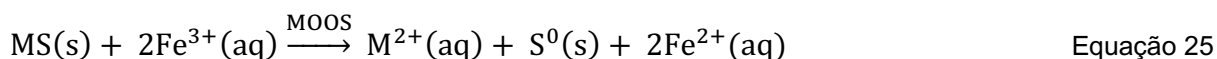
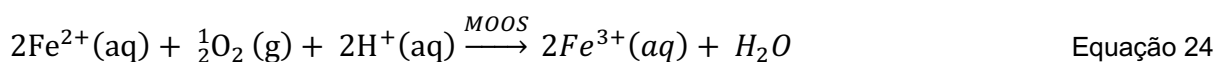


Equação 21

A oxidação dos minérios sulfetados pela ação dos microrganismos pode ocorrer através dos mecanismos direto e indireto (Crundwell, 2003). No mecanismo direto ocorre uma interação entre o microrganismo e a superfície do minério sulfetado sem a formação de sulfato (Ghauri et al., 2007). As reações do mecanismo direto estão representadas na Equações 22 e 23.



No mecanismo indireto a oxidação dos minérios sulfetados ocorre pela ação do Fe^{3+} como agente oxidante (Watling, 2006). A Equação 24 representa a oxidação do íon Fe^{2+} formando o íon Fe^{3+} e a Equação 25 representa a oxidação do sulfeto mineral pela ação do Fe^{3+} formando o íon Fe^{2+} que é reoxidado a Fe^{3+} pela ação dos microrganismos formando um ciclo de regeneração (Giaveno et al., 2011; Schippers et al., 1999).



Os mecanismos direto e indireto que podem ocorrer simultaneamente, são representados na Equação 26 com o ácido formado na oxidação do enxofre elementar pelo mecanismo direto da Equação 23 que auxilia na solubilização do minério sulfetado pelo mecanismo indireto (Crundwell, 2003).



No processo de biolixiviação, considera-se o Fe^{3+} e os prótons como os principais agentes pela solubilização do minério sulfetado (Sand et al., 2001; Crundwell, 2003; Valdivia, 2003; Lee et al., 2012). A função dos microrganismos foi considerada apenas como agente de regeneração do íon férrico e ou prótons.

A reação de oxidação do minério sulfetado dependerá das características da estrutura eletrônica. No caso de sulfetos metálicos com capacidade de transferência

de elétrons de maneira direta do metal para o íon férrico, podem ocorrer reações de oxidação e perda de elétrons. A partir dessas reações, há a quebra da ligação química entre o metal e o enxofre e com isso a formação de tiosulfato (Crundwell, 2003; Wathing, 2006; Schippers et al., 1999).

Nos minerais sulfetados que são parcialmente solúveis em ácidos pode ocorrer o extravio dos elétrons da camada de valência pelo íon férrico e por prótons, quebrando assim a ligação entre o metal e o enxofre. Neste caso, o metal pode ser solubilizado em parte ou totalmente em ácido e a oxidação ocorre pela ação do íon férrico. Nessas reações há a formação de polissulfeto que por sua vez é solubilizado pelos microrganismos que oxidam ferro ou enxofre (Crundwell, 2003; Watling, 2006).

O processo de biolixiviação de REEE ocorre com a oxidação do íon ferroso pela ação de microrganismos para a formação do íon férrico que, por se tratar de um agente oxidante forte, pode oxidar e solubilizar os metais contidos nos REEE (Tuncuk et al., 2012). Esta reação está representada pela Equação 27.



A solubilização do metal presente no substrato inorgânico pela oxidação faz com que o íon férrico se reduza a íon ferroso que passa ser utilizado como fonte de energia para os microrganismos que por sua vez regenera o íon férrico, contribuindo para o ciclo entre o íon ferroso, os microrganismos e o íon férrico (Ehrlich, 2001; 2004).

O REEE pode apresentar caráter alcalino e com isso elevar o pH, causando a precipitação do ferro na forma de hidróxido férrico. O hidróxido de ferro pode reagir com íons solúveis dos sais e nutrientes do meio de cultura como o NH_4^+ e com isso formar um precipitado denominado de amônio-jarosita. A formação da jarosita pode acontecer na presença de outros sais do meio de cultura como Na^+ e K^+ . Com isso a disponibilidade de ferro como agente oxidante diminui no sistema impactando negativamente a lixiviação das PCI (Tuncuk et al., 2012; Daoud et al., 2005).

Yamane et al., 2011 estudaram a biolixiviação de Cu de PCI de REEE utilizando a *A. ferrooxidans* - LR que resultou em uma dissolução de 56 % de Cu após 30 dias em um meio contendo íons férrico. Ilyas et al., 2007 extraíram cerca de 85 % Cu, 75 % Al, 80 % Ni e 80 % Zn de sucata eletrônica com as bactérias *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* e *Thermoplasma acidophilum*. Bas et al., 2013 investigaram a recuperação de Cu de PCI de TVs com o auxílio das bactérias *A. ferrooxidans*,

L. ferrooxidans e *A. thiooxidans*. Os investigadores conseguiram uma recuperação de 85 % do Cu com o auxílio de uma adição de 8 g/L de Fe_2^+ . Com esse procedimento, o mecanismo de dissolução é indireto com as bactérias gerando Fe^{3+} a partir do Fe^{2+} .

Silvas (2014) estudou uma cepa mista formada por *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans* e *L. ferrooxidans* para a lixiviação de Cu em PCI de REEE com adição de Fe^{3+} . Os resultados mostraram uma extração de 100 % Cu após quatro dias de ensaios com uma densidade de polpa de 2 %.

O processo de lixiviação bacteriana apresenta vantagens com relação ao tratamento pirometalúrgico (queima em altas temperaturas) que requer alto gasto energético e sendo viável apenas em minérios com alto teor do metal de interesse. Outro ponto negativo é com relação à queima de sulfetos minerais que provoca a liberação de SO_2 , um dos gases responsáveis pela chuva ácida (Garcia et al., 2001).

O processo hidrometalúrgico utiliza soluções básicas ou ácidas para o tratamento e recuperação de metal de interesse. Este tratamento também é aplicado aos minérios com elevado teor de metais em escala industrial uma vez que o valor agregado ao metal obtido no final do processo viabiliza os custos e a sua obtenção (Garcia et al., 2001).

Garcia et al., 2001 mencionaram as vantagens que a biohidrometalurgia apresenta em relação aos processos tradicionais de beneficiamento dos metais que seriam: o baixo custo dos ácidos e oxidantes uma vez que estes insumos são produzidos pelo próprio microrganismo; os reduzidos gastos de energia e operação, agregando valor aos rejeitos de minérios e resíduos de baixo teor de metais, sendo uma alternativa para jazidas de pequeno porte e com pequena infraestrutura.

3.4.4. Características gerais dos microrganismos

Os microrganismos que possuem a capacidade de ação como ferro ou sulfuro oxidantes podem ser destacados como sendo a *Acidithiobacillus ferrooxidans*, a *Acidithiobacillus thiooxidans*, a *Leptospirillum ferrooxidans* e as culturas mistas (Schippers, 2007; Rohwerder et al., 2003; Akcil et al., 2007; Plumb et al., 2008).

Acidithiobacillus ferrooxidans

O gênero *Acidithiobacillus* tem a forma de bastonetes com as extremidades arredondadas, com diâmetro de 0,4 a 0,8 μm e comprimento de 0,9 a 2 μm (Ehrlich et al., 2008). As bactérias deste gênero são Gram-negativas. As bactérias são

classificadas como Gram negativas ou Gram positivas conforme as características físicas da parede celular. O tipo de estrutura da parede celular é comumente utilizado para distinguir grupos de bactérias através de um método denominado de coloração de Gram (Urenha, 1991). Nos processos biohidrometalúrgicos são utilizadas essas bactérias devido à sua resistência às elevadas concentrações de metais nas soluções lixiviadas. Esta resistência pode ser atribuída à capacidade das células em excluírem os cátions metálicos da sua estrutura interna celular (Schippers, 2007; Ehrlich et al., 2008).

As bactérias *Acidithiobacillus ferrooxidans* são também conhecidas como *Thiobacillus ferrooxidans* e a característica desse tipo de bactérias é que crescem em temperatura ambiente entre 25 a 40 °C, sendo assim consideradas como mesófilas com pH de crescimento na faixa de 1,8 a 2,5 (Schippers, 2007; Donati et al., 2007). As bactérias desse tipo são quimiolitotróficas, o que significa que possuem um metabolismo em que a energia necessária para a sobrevivência é obtida a partir da oxidação de compostos inorgânicos (Schippers, 2007). Essas bactérias podem usar hidrogênio, compostos reduzidos de enxofre, óxidos de ferro entre outros como fontes de agentes redutores, que por sua vez, ganham energia da oxidação desses compostos inorgânicos como receptores de elétrons como o oxigênio (Rossi, 1990; Bas et al., 2013). A energia é obtida por meio de reações de óxido-redução (Oliveira et al., 2010). Uma outra condição interessante nesse tipo de bactérias é que são autotróficas, ou seja, têm a capacidade de usar o CO₂ da atmosfera como a única fonte de carbono para o crescimento (Dunlap et al., 2010). Os microrganismos autotróficos podem ser divididos nos grupos dos termofílicos moderados, que se desenvolvem na faixa de temperatura de 40 a 55 °C e dos termofílicos extremos, que florescem na temperatura acima de 55 °C (Schippers, 2007).

Acidithiobacillus thiooxidans

A bactéria *Acidithiobacillus thiooxidans* é semelhante à *Acidithiobacillus ferrooxidans*, sendo a diferença entre os microrganismos, a capacidade da *A. thiooxidans* de obter energia a partir da oxidação de enxofre elementar (S⁰), produzindo ácido sulfúrico (Sand et al., 2007). O pH para o desenvolvimento está compreendido na faixa de 0,5 a 3 e são consideradas mesófilas com a temperatura para o crescimento em torno de 30 °C (Bas et al., 2013).

Leptospirillum ferrooxidans

O gênero *Leptospirillum* pertence à família *Spirillaceae* e apresenta dimensões com 0,9 a 1,1 µm de comprimento por 0,2 a 0,4 µm de largura com formações espirais (Sand et al., 2007). São bactérias Gram-negativas e podem depositar os íons férricos na superfície externa da célula (Schippers, 2007). A fonte de energia são os íons ferrosos e a fonte de carbono é o CO₂ atmosférico (Rawlings et al., 1999). As características ideais de crescimentos estão na temperatura de 30 °C e pH 3,0 (Johnson, 2001).

Cultura mista de microrganismos

Culturas mistas de microrganismos podem ser mais ativas na oxidação de sulfetos metálicos e íons ferrosos (Akcil et al., 2007; Donati et al., 2007). Uma fonte de obtenção de cultura mista de microrganismos pode ser a água ácida de drenagem de uma mina (DAM) ou que apresente o desenvolvimento de microrganismos como em lodo de esgoto e outros rejeitos (Villar, 2003). A DAM ocorre de maneira natural após o contato dos minérios sulfetados à água e expostos ao oxigênio (Oliveira, 2014). Os microrganismos contidos na DAM agem como catalisadores na oxidação de minerais contendo enxofre elementar e sulfetos (Colmer et al., 1947; Hutchinson et al., 1992). As técnicas moleculares como o sequenciamento de genes 16s rDNA, têm se mostrado eficiente na identificação desses microrganismos (Amann et al., 1995; Auld et al., 2013). A comunidade microbiana encontrados em uma água de DAM está representada na Tabela 11 e classificada quanto à temperatura de crescimento (Johnson et al., 2003).

Tabela 11 – Classificação dos Microrganismos de ambientes ácidos da DAM (Johnson et al., 2003).

Microrganismo	Classificação
Oxidantes de ferro	
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	Mesófila
<i>Leptospirillum ferriphilum</i>	Mesófila
<i>Ferropasma acidiphilum</i>	Mesófila
Oxidantes de enxofre	
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	Mesófila
<i>Acidithiobacillus caldus</i>	Moderado Termófila
<i>Thiomonas cuprina</i>	Mesófila
<i>Sulfolobus spp.</i>	Termofila Extrema
Oxidante de ferro e enxofre	
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	Mesófila
<i>Acidianus spp.</i>	Termofila Extrema
<i>Sulfolobus metallicus</i>	Termofila Extrema
Redutores de ferro	
<i>Acidiphillum spp.</i>	Mesófila
Oxidante e redutores de ferro	
<i>Acidimicrobium ferrooxidans</i>	Mesófila
Oxidantes e redutores de ferro e oxidantes de enxofre	
<i>Sulfobacillus spp.</i>	Mesófila e moderado Termófila
Acidófilo heterotrófico	
<i>Acidocella spp.</i>	Mesófila
<i>Acidobacterium capsulatum</i>	Mesófila
<i>Acidomonas methanolica</i>	Mesófila
<i>Picrophillus spp.</i>	Moderado Termófila
Anaeróbica obrigatória	
<i>Acidilobus aceticus</i>	Termófila Extrema

3.5. Interação microrganismo e substrato

A biolixiviação é o processo em que metais contidos em minérios e em resíduos são solubilizados pela ação direta e indireta por microrganismos. As atividades de ação dos microrganismos acontecem em conjunto através de reações químicas. O domínio por parte da atuação bacteriana no processo de lixiviação ocorre com a interação entre os processos, com evidências da adsorção dos *Acidithiobacillis* na superfície do minério (Rohwerder et al., 2003).

A distribuição de corrosão e lixiviação na superfície dos substratos pode ser influenciada pelos microrganismos e esta operação pode ser restrita para alguns sítios de atração específicos. Esta diminuição na interação define um fator importante no ataque inicial e no desdobramento da corrosão na superfície da estrutura, ou seja, o controle do progresso da lixiviação (Ndlovu et al., 2005).

O processo de biolixiviação pode ser influenciado e monitorado indiretamente pelo pH, Eh, temperatura, tamanho de partícula e concentração de metais dissolvidos. A corrosão galvânica de um metal em preferência aos outros metais pode afetar e diminuir a velocidade de oxidação na superfície do material (Tuovinen et al., 1994).

A área específica é um fator importante que afeta a velocidade de oxidação bacteriana pois quanto maior a área superficial, maior a lixiviação do material e menor o tamanho de partícula (Deveci, 2004). A densidade de polpa ou relação sólido/líquido também influencia o sistema, já que a elevada concentração de sólidos aumenta a viscosidade e interfere no transporte de gases como o oxigênio (receptor dos elétrons na respiração celular das bactérias aeróbicas) e gás carbônico (biossíntese celular de espécies autotróficas), e dos nutrientes do processo (Rossi, 2001).

A interação dos microrganismos com os sulfetos minerais e a sua degradação foi anunciada por Schippers et al., 1999 como sendo iniciada pelos íons Fe^{3+} e/ou por prótons com intermediários como o polissulfito e resultando em enxofre elementar.

A adesão de microrganismos a superfícies é um efeito que acontece em meios aquosos e depende das propriedades superficiais (tensão superficial, composição da superfície, interface de adesão entre outros), das propriedades microbianas e das características do meio de cultura (nutrientes, pH, temperatura, estrutura celular, entre outros). Os mecanismos de adesão bacteriana ao mineral foram explicados por Devasia et al., 1993 como sendo identificados por forças de interação hidrofóbica e eletrostáticas.

Escobar et al., 1997 e Pogliani et al., 1999 manifestaram que os exopolímeros ou os polissacarídeos extracelulares (EPS) são os responsáveis da adesão dos microrganismos aos minerais. Barreto et al., 2005 anunciaram cinco genes envolvidos na formação de EPS. A bactéria *A. ferroxidans* teve o seu genoma sequenciado e identificados genes associados a rotas metabólicas (Jerez, 2008). Alguns destes genes fazem parte do metabolismo de enxofre, de carbono e metabolismo energético na presença de íon ferroso ou enxofre (Valdés et al., 2008).

Sand et al., 2006 explicaram como os íons férricos reagem com o sulfeto liberando enxofre que foram transportados para o periplasma (espaço entre a membrana plasmática e a membrana externa de bactérias Gram-negativas) e outros compostos como o tiosulfato onde são oxidados a sulfatos. A Figura 13 mostra o mecanismo de lixiviação com a representação do processo de adesão (Sand et al., 2006).

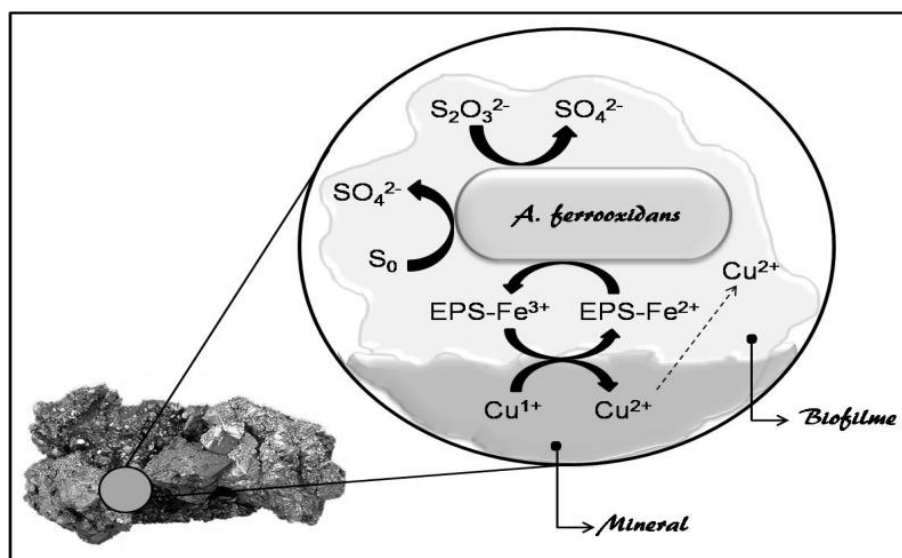


Figura 13 – Representação do processo de adesão com a bactéria *A. ferrooxidans* na superfície de um minério (Sand et al., 2006).

Rojas-Chapana et al., 2001 identificaram que a cisteína (aminoácido) que contém grupo tiol, é usada pela bactéria *A. ferrooxidans* para quebrar a interface do sulfeto de ferro formando pontes de enxofre com o sulfeto de ferro. A cisteína e fosfolipídios estão presentes nos EPS secretados na superfície dos microrganismos.

Blake et al., 2001 estudaram a adesão da *A. ferrooxidans* e de uma proteína encontrada na superfície da célula bacteriana (aporusticianina) que age como um receptor para a adesão do microrganismo ao mineral. Os investigadores sugeriram que a proteína se ligava aos íons ferro da superfície do mineral e os liberava no meio aquoso como ferro solubilizado. Outra suposição foi de que a proteína utilizava um mecanismo intramolecular para transferir elétrons do mineral para os componentes da cadeia respiratória do microrganismo.

Jerez (2008) estudou a interação bactéria-substrato (minério) e comentou que compostos presentes no meio de cultura como íons ferrosos, enxofre, tiosulfato e grupos funcionais do tipo *acyl-homoserine lactone* (AHL) são secretadas pelas células. As células aderidas no substrato iniciam a produção de biofilme e em seguida a oxidação do material.

3.6. Processo de adsorção

A adsorção é uma operação de transferência de massa, em que se analisa a capacidade de determinados sólidos em concentrarem na sua superfície, substâncias

líquidas ou gasosas e como resultado a separação dos componentes dessas substâncias. Os componentes adsorvidos concentram-se sobre a superfície externa e quanto maior for este substrato externo por unidade de massa sólida, mais promissor será o processo de adsorção. O componente que se aglomera na interface do substrato é denominado de *adsorvato* ou *adsorbato* e o material no qual o adsorbato se amontoa é designado de *adsorvente* ou *adsorbente*. Com isso, os adsorventes são substratos com partículas porosas (Ruthven, 2001).

As moléculas de adsorvato do líquido em contato com a superfície do adsorvente, sofrem um desequilíbrio de forças de van der Waals, resultando em um campo de força residual que, na superfície do sólido, atrai e aprisiona o íon. O tempo de ligação do íon do adsorvato com a superfície do adsorvente depende da energia ou das forças geradas pela superfície sobre esses íons e as forças de campo de outros íons (Homem, 2001).

Em função das forças envolvidas no processo, pode-se distinguir adsorção química ou específica (quimissorção) e adsorção física ou não específica (fisissorção). Na adsorção química ocorre a geração de ligações químicas entre o sólido e o soluto, constituindo uma camada de moléculas adsorvidas ou íons adsorvidos. Na quimissorção o processo é exotérmico e irreversível, enquanto na fisissorção o processo é mais lento (Hines et al., 1985; Sparks, 1995).

A adsorção de íons metálicos em superfície, depende dos cátions e das propriedades da superfície do adsorvente. Entre os cátions que podem ser adsorvidos estão alguns como o Cu, Zn, Co e Cs. A adsorção específica de cátions acontece em íons metálicos dos grupos IB e IIB da Tabela Periódica que apresentam elevada polaridade e número atômico assim como pequeno tamanho iônico quando comparado aos metais alcalinos e alcalinos terrosos (Yu, 1997). A afinidade da superfície em adsorver cátions eleva-se com a sua valência e, para cátions com valências distintas, a afinidade segue a seguinte ordem: $M^+ < M^{+2} < M^{+3}$. No caso de cátions com a mesma valência, a afinidade na adsorção é determinada pelo raio atômico (Ji et al., 1997).

A adsorção molecular ou física acontece com as forças intermoleculares de atração entre as moléculas de um líquido e da superfície sólida que são maiores que as forças atrativas entre as moléculas do próprio líquido (Dabrowski, 2001). A carga superficial do adsorvente, o pH e a concentração de íons podem afetar a adsorção

física e no caso de cátions metálicos, a adsorção depende da densidade de cargas negativas na superfície dos adsorventes (Ji et al., 1997).

O pH pode afetar a espécie química do metal em solução e alterar a quantidade de cargas na superfície do adsorvente. O efeito do ânion em solução acontece em substrato com cargas variáveis, no qual os ânions alteram a força iônica e as propriedades da superfície, formando pares-iônicos com os metais (Barros, 2006). Com a elevação do pH, aumentam as cargas negativas da superfície e com isto aumenta a atração eletrostática entre o metal e o adsorvente (Sposito, 1982).

A espécie de interação na adsorção dos metais depende de fatores como a quantidade e dos sítios ligados com a fase sólida do adsorvente; da concentração do metal e de outros elementos com a capacidade de formar complexos organo-minerais; do pH; da condutividade elétrica e do potencial redox do substrato (Kiekens, 1984; Hughes et al., 1969).

O potencial redox do adsorvente influencia a solubilidade de metais e com as reações de oxidação no processo, a solubilidade dos metais eleva-se com a redução do pH. Com isto, em baixos pH ocorre a solubilidade dos metais, em pH entre 4 a 6, a solubilidade dos metais é menor em função da geração de complexos organo-minerais insolúveis e em valores de pH elevados, há a formação de complexos com carbonatos e hidroxilas (Sposito, 1982; Kiekens, 1984).

3.6.1. Adesão microbiana

As superfícies em geral, podem ser colonizadas por microrganismos e esse agrupamento inicia-se pela adesão de células que em condições ideais ao crescimento, começa a desenvolver comunidades microbianas denominadas de biofilmes (Chen et al., 2007). Os biofilmes são definidos como comunidades microbianas envolvidas por uma matriz celular formada de polissacarídeos produzidos pelos próprios microrganismos, os quais interagem com os componentes do meio de cultura (Welch et al., 1999).

Em processos biotecnológicos, a adesão de microrganismos ou biofilme pode ser desejável como em biorreatores usados na produção de alimentos fermentados e em outro exemplo, as células imóveis que são utilizadas nos tratamentos aeróbios e anaeróbios de águas residuais para a remoção de matéria orgânica e inorgânica (Andrade, 2007).

Por outro lado, em alguns casos, as células agregadas que colonizam e formam o biofilme, implicam em problemas como a redução de vazão de tubulações de redes de água e esgoto; na disseminação de infecções em equipamentos médicos e odontológicos com o desenvolvimento das patologias bucais (formação da placa bacteriana acarretando cárie dental e doenças periodontais); na contaminação de superfícies de equipamentos e utensílios utilizados no processamento de alimentos, tornando-se uma fonte de contaminação microbiana, resultando em problemas de higiene e de saúde pública (Azeredo et al., 2000; Donlan, 2001; Masaaki, 2006; Beech, 2004).

A adesão microbiana é conduzida por interações físicas ou químicas entre as células e a superfície do material. Os microrganismos aderidos à superfície, incubam e provavelmente polímeros celulares são sintetizados no contato com o substrato (Hermansson, 1999).

Os fatores químicos, físicos e biológicos que determinam a adesão dependem do tipo de célula, da fase de crescimento, do meio de cultura, das interações hidrofóbicas e da carga superficial no processo de adesão microbiana. Esses fatores estimulam as forças de interação que determinam a adesão das células à superfície do substrato. As forças de interação são denominadas de eletrostáticas, de van der Waals, hidrofóbicas, hidratação entre outras (Busscher et al., 1987; Kuznar et al., 2004).

A adesão com microrganismos pode ser medida como o número de bactérias aderidas depois de uma lavagem para remover os microrganismos que não estão aderidos à superfície do substrato. O processo de adesão pode ser medido em um estado depois de um tempo definido ou uma função do tempo.

A teoria de estabilidade coloidal de Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DVLO) tem sido estudada para argumentar o fenômeno de adesão microbiana. Hermansson, 1999 utilizou essa teoria como um modelo qualitativo para calcular a energia livre de adesão bacteriana de maneira quantitativa. A teoria DVLO tem sido utilizada para descrever a interação total (V_{total}) entre a célula e a superfície do substrato e a relação de fatores como V_A que representa o resultado das interações atraentes de van der Waals (vdW) e as interações repulsivas (V_R) entre a dupla camada elétrica da célula e a superfície, as quais são repulsivas devido à carga negativa das células na superfície (Equações 28 e 29):

$$V_{\text{total}} = V_A + V_R \quad \text{Equação 28}$$

$$V_A = -Ar/6d. \quad \text{Equação 29}$$

Onde, A é a constante de Hamaker, d é a distância que separa a célula da superfície, r é o raio da célula. A interação da dupla camada (V_R) resulta das interações entre moléculas carregadas e a força são afetadas pela presença de íons (Jucker et al., 1998).

Em geral, as superfícies de substratos têm carga negativa, assim como a carga das bactérias o que pode atrapalhar a adesão. Hermansson (1999) argumentou que quando na presença de elevadas forças iônicas (I) ocorre uma atração entre as células e o substrato devido às forças atrativas de van der Waals. Quando na existência de forças iônicas medianas, a atração é fraca e a adesão pode ser reversível. Quando a força iônica é baixa ocorre uma repulsão.

Estruturas da superfície de microrganismos como pilus, fímbrias, flagelos, lipopolissacarídeos, material celular fazem parte do processo de adesão. Flagelos e fímbrias são estruturas mais hidrofóbicas que as demais partes da superfície celular, podem aumentar a adesão. Superfícies com cargas negativas e hidrofílicas como o vidro, podem ter sítios pequenos com carga positiva e assim, desenvolver pequenas interações (Zita et al., 1999).

As superfícies de substratos com defeitos como fraturas, falhas, porosidades, clivagens, entre outros, podem tornar-se locais de maior oxidação e corrosão. Essa tendência de oxidação se deve em função dos sítios de alta energia nos defeitos, resultando em uma preferência de adesão celular nestes locais (Edwards et al., 1998; Márquez et al., 2006).

A adesão da bactéria *A. ferrooxidans* sobre os minérios pode ser por forças eletrostáticas e o seu crescimento em meio de cultura com ferro facilita a geração de EPS que são constituídos em ácidos glucorônico, polissacarídeos e ácidos graxos. Estudos tem mostrado que a substituição do íon férrico pelo ácido urônico têm resultado em um EPS (exopolissacarídeos) com carga positiva. Outros estudos justificaram que minerais como a pirita podem estar carregados com carga negativa na superfície em contato com os meios de cultura, ricos em nutrientes e sulfatos com pH 2,0. Esses fatores favorecem a aderência da bactéria ao minério e podem contribuir para a formação contínua de EPS (Ghauri et al., 2007). A Figura 14 mostra

as diferenças na composição das estruturas das paredes celulares de bactérias (Vijayaraghavan et al., 2008).

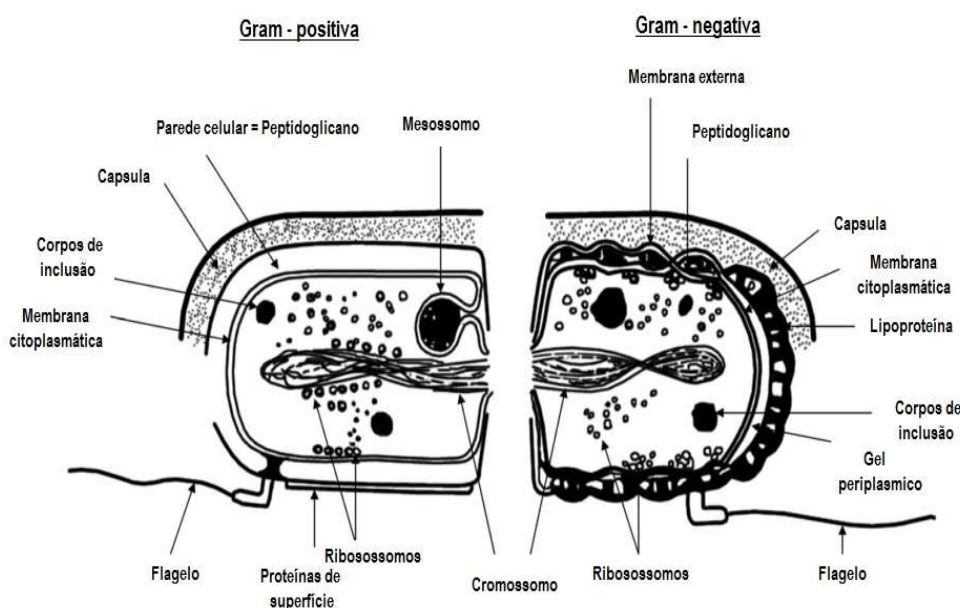


Figura 14 - Estrutura das paredes celulares de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Vijayaraghavan et al., 2008).

De acordo com a Figura 14, as bactérias são classificadas em Gram-positivas ou Gram-negativas devido a diferença na estrutura da parede celular. A parede celular de uma bactéria Gram-positiva é formada de uma camada de cerca de 30 nm de peptidoglicano, enquanto a parede celular de uma bactéria Gram-negativa é constituída de uma camada de peptidoglicano ao redor de 10 nm e a superfície externa da célula é formada por uma membrana que por sua vez é constituída de fosfolipídeos, proteínas e lipopolissacarídeos (LPS). O espaço entre o peptidoglicano e a membrana externa é denominado de periplasmático que por sua vez é cercado de enzimas e proteínas e exerce funções fisiológicas (Beveridge, 1999; Ubbink et al., 2007).

A membrana externa de uma bactéria Gram-negativa é que possui uma distribuição desordenada de lipídeos sobre as superfícies externas e internas das membranas. A superfície externa da membrana possui todos os lipopolissacarídeos (LPS). A superfície interna da membrana contém a maioria dos fosfolipídeos. Os LPS têm mais carga por unidade de área que os fosfolipídeos e grande parte desta carga é aniônica em pH neutro, em função de apresentar grupos carboxil e fosforil que por sua vez podem ser ionizados. A superfície externa é carregada e tem afinidade com cátions (Camesano et al., 2003).

As bactérias Gram-negativas com a presença de LPS na face externa torna a célula bacteriana hidrofílica e a perda de LPS na superfície celular torna a hidrofóbica. A redução de oxigênio do meio de cultura sugeriu modificações na estrutura do LPS, resultando em uma superfície hidrofóbica na célula bacteriana. Isto significa que a bactéria tem a capacidade de se ajustar e mudar as características da superfície celular em função das alterações que ocorrem no meio de cultura (Palmer et al., 2007).

A superfície celular que apresentam os grupos carboxil e fosforil atribui uma densidade de carga negativa e uma vez que a superfície está em contato com o meio de crescimento, os grupos da superfície se relacionam com os íons ou moléculas carregadas, resultando em uma ligação eletrostática entre a superfície celular e os cátions. Os metais são atraídos à superfície celular pelos grupos carboxil que se encontram dentro do peptildeoglicano e dos grupos fosforil de ácidos teicoicos e teicurônicos presentes nas superfícies dos microrganismos (Langley et al., 1999; Katsikogianni et al., 2004).

A dissociação dos grupos carboxil, amino e fosfato na parede celular são determinados pelo pH e pela concentração da solução eletrolítica. As interações eletrostáticas diminuem com o aumento da força iônica devido ao revestimento das cargas da superfície e pela forte influência da força iônica (Hong et al., 2008). Outros tipos de componentes podem estar presentes na superfície bacteriana como os EPS que são constituídos de polissacarídeos secretados pelos microrganismos, proteínas, ácido nucleico e lipídeos. Os EPS são determinantes das propriedades físico-químicas e oferecem estabilidade ao biofilme. As interações intermoleculares são consideradas em força de dispersão de London, ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas (Flemming et al., 2005).

3.6.2. Interações intermoleculares

As interações intermoleculares ocorrem devido às forças intermoleculares, que são de natureza elétrica, e na aproximação entre duas moléculas, fazem com que uma molécula influencie o comportamento de outra molécula. As forças intermoleculares que começaram do contato não reativo entre as moléculas, podem variar com o inverso da distância de separação entre as moléculas interagentes, ou seja, quanto menor for a distância de separação entre as moléculas, mais forte serão as interações. Portanto, as interações intermoleculares podem ser divididas em interações de curto e longo alcance, com atuação a pequenas e longas distâncias de separação

intermolecular (Rocha, 2001; Rocha, 2000). A seguir, alguns tipos de interações intermoleculares que serão descritas.

3.6.2.1. Interação eletrostática

A superfície dos microrganismos pode adquirir cargas por mecanismos como ionização de grupos presentes na superfície bacteriana, adsorção de íons e solubilização de moléculas na interface das bactérias. A interface de um microrganismo carregado eletricamente em conjunto com os íons presentes no meio de cultura e que estão em contato com a interface, fica sob o domínio do campo de força das moléculas da superfície bacteriana, formando uma camada difusa de íons conhecida como dupla camada elétrica (Riley, 2005).

A dupla camada elétrica foi estudada por Helmholtz que propôs um sistema com cargas organizadas em planos paralelos. O tipo sugerido por Helmholtz é impróprio uma vez que o movimento com aquecimento dos íons em solução produz uma distribuição desordenada dos íons na superfície carregada e com a formação da dupla camada difusa (Ni et al, 2003).

Quando o equilíbrio da distribuição dos íons na interface é adquirido, o potencial eletroquímico das espécies iônicas é mantido constante, assim ocorrem fatores que estão relacionados à configuração do íon na superfície como a energia de interação entre íons e moléculas presentes na interface; o trabalho químico no posicionamento dos íons na interface em função do movimento térmico das espécies carregadas; a energia proveniente de interações eletrostáticas formadas entre um íon carregado e a camada iônica que distribui o potencial elétrico (Lavalle et al., 2004).

As interações intermolecular e eletrostática determinam a distribuição de íons em uma camada densa produzida por espécies químicas não solvatadas. Esta camada é denominada de camada Stern-Helmholtz e fica próxima da superfície. A camada mais distante da interface é conhecida como camada Gouy-Chapman. Esta camada é difusa e a distribuição do íon depende de interações eletrostática e da organização dos íons no sistema (Fradique, 2002).

A lei fundamental que conduz as interações entre espécies carregadas é a Lei de Coulomb. Para a sua aplicação em soluções de eletrólitos e colóides, é empregada a Lei de Distribuição de Boltzmann. Esta lei mostra a possibilidade de uma unidade de uma espécie estar a um determinado ponto com uma energia livre específica relativa a um estado de referência específico (Ni et al., 2003).

O potencial eletrocinético ou potencial zeta de partículas ou superfícies é a diferença em um meio estável entre um ponto a uma distância da superfície e um ponto no plano de cisalhamento, sendo medido por métodos eletrocinéticos como eletroforese; diferença de potencial de sedimentação e diferença de potencial osmótico (Lameiras et al., 2008).

O potencial eletrocinético é utilizado para medir e controlar a estabilidade de sistemas coloidais, sendo usado nos estudos de química de superfície. O potencial zeta de célula microbiana é negativo e regular na superfície celular, sendo que a carga na interface bacteriana não varia. O potencial zeta de bactérias varia de -10 a -90 mV (Palmer et al., 2007).

3.6.2.2. Interação Lifshitz-van der Waals (LW)

As forças de van der Waals são responsáveis pela interação de moléculas, estabilidade e adsorção de variados elementos na superfície. Na adesão bacteriana, existe a interação eletrostática e as forças de van der Waals que são denominadas de dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido e interação de London (Liang et al., 2007; van Oss, 1994).

Haibo et al., 2005 estudaram as forças indutoras que acontecem na interação de uma molécula com dipolo permanente com outra molécula não polar. Com a interação, o campo elétrico da molécula dipolar produz um momento de dipolo induzido e essa energia é conhecida como de segunda ordem. A energia resultante está presente com a interação eletrostática de duas moléculas polares.

Lee et al., 2002 pesquisaram que as forças dispersivas acontecem com duas moléculas que não apresentam momentos de dipolos permanentes apesar de seus elétrons e a sua densidade estarem em constante movimento no tempo e espaço. Com isso qualquer molécula engloba um dipolo elétrico instantâneo que tem variação de acordo com a densidade eletrônica. O dipolo induzido interage com as demais moléculas e produz uma energia atrativa denominada de energia de dispersão, sendo este o resultado da variação da densidade de elétrons nas moléculas.

3.6.2.3. Interação ácido-base de Lewis (AB)

As forças de interação apresentam característica polar e podem ser atrativas ou repulsivas e as interações ácido-base são responsáveis pela tensão interfacial. As interações interfaciais são definições para hidrofobicidade e hidrofiliidade que

constitui a diferença entre a competição da energia livre interfacial do sólido em meio aquoso e a energia livre do líquido (van Oss, 1994; Jacobs et al., 2007; Meyer et al., 2006)

A interface microrganismo / líquido e a interface superfície de adesão / líquido terão de ser trocadas pela interface microrganismo/superfície de adesão, com isto a adesão acontece com uma redução da energia livre global (Blokzijl et al., 1993; van Loosdrecht et al., 1990). A energia livre da interação interfacial entre as moléculas de um substrato submerso em água é a forma adequada de medir a sua hidrofobicidade, sendo a tensão interfacial determinada pela soma entre a componente polar e apolar da superfície.

As superfícies bacterianas como de *E. coli*, *P. fluorescens*, *B. subtilis* e *P. aeruginosa* têm caráter doador de elétrons em função da presença do oxigênio do ar e da hidratação da superfície da célula bacteriana (Strevett, 2003). A energia de interação entre um líquido e um sólido a uma distância de equilíbrio mínima pode ser determinada através da medida do ângulo de contato. A obtenção desta medida só é possível quando a energia de coesão do líquido é maior que a energia de adesão entre líquido e sólido (Schneider, 1997; van Oss, 1994 e 2007).

Os modelos para a conversão de ângulo de contato em valores físico-químicos da superfície são a equação de estado (ES), a média geométrica (GME) e Lifshitz van der Waals ácido-base (LWAB), sendo o método LWAB, o que fornece informações da química de superfície como valores dos componentes ácido-base e de dispersão da energia livre da superfície (Long et al., 2001; Jurak et al., 2009). A conversão dos ângulos de contato em valores físico-químicos da superfície é possível com a medida dos componentes da tensão interfacial de três líquidos de polaridades distintas como a água, a formamida e o alfa-bromonaftaleno, no qual os componentes da tensão interfacial são conhecidos (van Oss, 1994 e 2007).

A energia livre de interação hidrofóbica de um substrato entre as moléculas da superfície submersa em água é determinada pela soma das componentes apolar e polar da energia livre de interação. A energia livre está relacionada à tensão interfacial da variação da energia de adesão. Das medidas das componentes da tensão interfacial pode-se calcular a variação da energia de adesão entre as superfícies como a célula bacteriana e a superfície do substrato (van Oss, 1994 e 2007).

4 Materiais e métodos

Para o estudo de recuperação do cobre presente nos resíduos eletroeletrônicos através do processo biohidrometalúrgico, foram realizados os ensaios de lixiviação bacteriana em PCI oriundas de computadores e impressoras obsoletas. Os equipamentos foram doados pelo Centro de Descarte e Reuso de Resíduos de Informática da Universidade de São Paulo (CEDIR).

O trabalho foi desenvolvido, sendo a primeira etapa o processamento e a caracterização das PCI. A segunda etapa envolveu a recuperação do cobre, e para isso, foi utilizado o processamento biohidrometalúrgico com o uso de cepas distintas como a *Acidithiobacillus ferrooxidans* e a *Leptospirillum ferrooxidans*, assim como uma comunidade microbiana proveniente de uma drenagem ácida de uma mina de carvão.

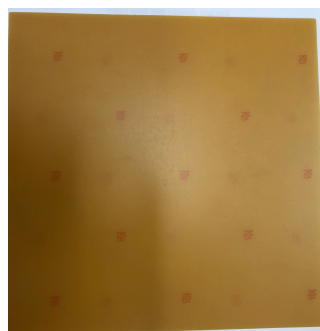
Nos ensaios de lixiviação bacteriana das PCI, foram avaliados os parâmetros que influenciam a extração do metal, sendo eles: adaptação dos microrganismos nas PCI, pH, potencial de oxirredução (Eh) e o controle das condições necessárias para garantir o crescimento das espécies utilizadas nos ensaios de biolixiviação.

4.1. Processamento mecânico

Os equipamentos eletrônicos obsoletos como os computadores e impressoras, foram desmontados e as PCI foram separadas para o processamento físico. Foram utilizadas operações unitárias de Tratamento de Minérios para a liberação e separação física como moagem, separação magnética, separação eletrostática e classificação granulométrica. Foram também utilizadas placas de circuito impresso virgens, ou seja, sem a presença dos componentes. A Figura 15 mostra (a) uma PCI proveniente de REEE (b) uma PCI virgem.



(a)



(b)

Figura 15 - (a) PCI proveniente de REEE (b) placa virgem para circuito impresso.

4.1.1. Cominuição

O processamento físico começou pela cominuição das PCI obsoleta em moinho de facas para a liberação e moagem dos materiais (MM). As PCI obsoletas foram cominuídas primeiramente em um moinho de facas (Rone FA 2305) com grelha de 9 mm e depois com grelha de 6 mm. Continuou-se a moagem das PCI em um outro moinho de facas (Marconi, MA 340) com grelha de 1 mm. As placas de PCI virgem foram cominuídas em um moinho de facas (Marconi MA340) usando somente a grelha de 1 mm.

4.1.2. Separação magnética

Foi realizada a separação magnética das PCI obsoletas após a cominuição no moinho de facas com grelha de 1 mm em um separador magnético de tambor via seca (Inbras HFP-RE 15x12), de média intensidade de 6000 gauss. A regulagem do separador magnético foi com velocidade de rotação do rolo magnético em 27,6 RPM e a porcentagem de vibração na alimentação foi de 25%. A fração magnética (MMA) contendo principalmente Fe e Ni foi separada da fração não magnética (MNMA), a qual contém o cobre, além de outros metais, polímeros e cerâmicos.

As etapas do processamento mecânico e as frações da separação magnética estão destacadas na Figura 16.

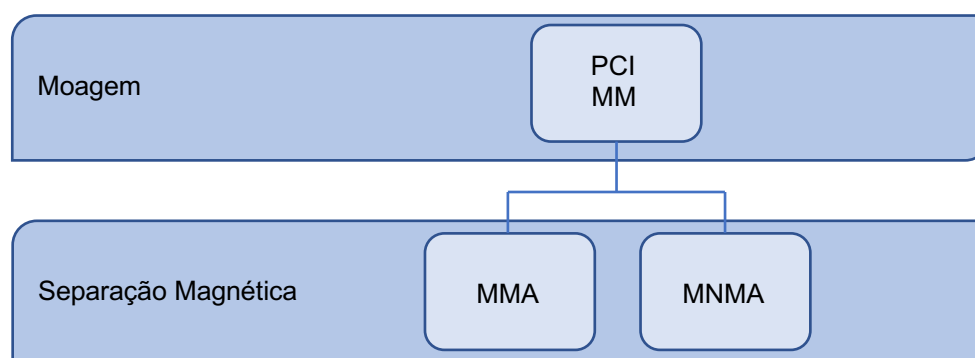


Figura 16 – Processamento mecânico com a moagem dos materiais (MM), frações de material magnético (MMA) e material não magnético (MNMA).

4.1.3. Análise granulométrica

As amostras do material não magnético (MNMA) das placas obsoletas foram separadas para os ensaios de análise granulométrica com peneiras de abertura de 2,000 mm; 1,000 mm; 0,500 mm; 0,250 mm e 0,106 mm, que permaneceram sob

vibração durante o período de 15 minutos. As frações granulométricas foram quarteadas em quantidades de 5 g.

A placa virgem foi peneirada em frações de tamanho: $-2,83+2,00$; $-2,00+1,00$; $-1,00+0,50$; $-0,50+0,30$ e $-0,30$ mm.

4.1.4. Etapas de caracterização

A primeira etapa de caracterização das PCI foi feita a partir de uma amostra de 5 g de fração granulométrica na faixa de 0,50 mm a 1 mm que foi lixiviada em água régia (3:1, HCl:HNO₃) na proporção de 1:10 (sólido: líquido) por 24 horas à 25 °C. Em seguida, a mistura foi filtrada em papel de filtro quantitativo de filtração rápida e o liquor foi diluído em 5 vezes com água ultrapura. A solução diluída foi encaminhada para análise química pela técnica de Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (FRX PANalytical Epsilon3 XL) para a identificação e quantificação do cobre presente na amostra de PCI.

A segunda etapa de caracterização das PCI foi realizada com uma amostra de 0,5 g da fração granulométrica na faixa de 0,5 mm a 1 mm que foi pesada em uma balança analítica com precisão de 1 mg e preparada no sistema de digestão por microondas (CEM Mars 5) com potência máxima de 1000 W. O procedimento de preparação da amostra para solubilização ácida assistida por microondas, foi realizada com a amostra macerada e transferida para o vaso de digestão de teflon.

Em seguida foi adicionado 10 mL de HNO₃ concentrado, p.a. O vaso de digestão de teflon contendo a amostra e o ácido nítrico ficaram em repouso por cerca de 15 minutos. O vaso foi fechado e aquecido por 10 minutos em forno de microondas (5,5 minutos para atingir a temperatura de 175 °C e permanecendo por mais 4,5 minutos à temperatura de 175 °C e 180 °C).

Após a digestão no microondas, o vaso foi resfriado para alcançar uma pressão de cerca de 10 psi (69 KPa) e o conteúdo foi filtrado e transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 50 mL, aferindo-se o volume com água ultrapura. O licor foi enviado para a análise química por espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP-OES Agilent Technologies – 700 series) para a quantificação e identificação dos elementos presentes na amostra. A Tabela 12 mostra a programação das etapas no forno de microondas.

Tabela 12 – Programação de aquecimento do forno de microondas.

Programação das etapas de aquecimento no forno de microondas	
Potência	950 W
Pressão	70 psi
Temperatura	175 °C em 5,5 minutos
Tempo para permanência na temperatura	175 °C e 180 °C em 4,5 minutos

4.2. Processo de lixiviação bacteriana

Os estudos de biolixiviação foram realizados a partir do pré-tratamento e da caracterização das PCI provenientes de resíduos de equipamentos eletroeletrônicos (REEE) como mostra a Figura 17.

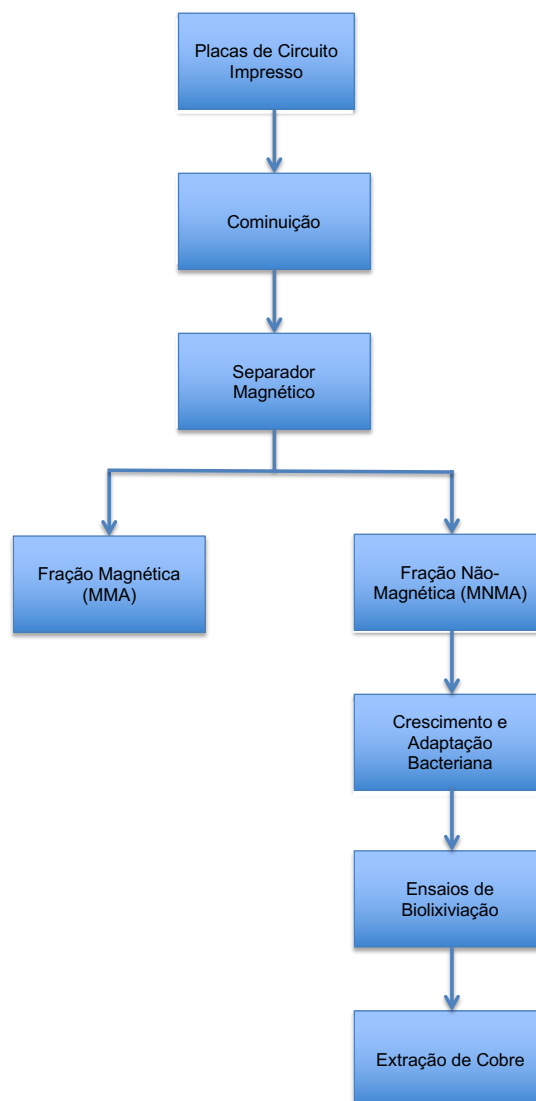


Figura 17 - Diagrama de blocos dos estudos de biolixiviação das PCI proveniente de REEE.

Os estudos de biolixiviação das PCI tiveram como objetivo a determinação a extração do cobre. Em seguida, foram analisados os fatores que influenciam o processo de biolixiviação como a adaptação das bactérias com as PCI, controle do pH, monitoramento do potencial de oxirredução e o controle das condições necessárias para a lixiviação bacteriana.

4.2.1. Aquisição das bactérias

Para o estudo, utilizaram-se cepas de *Acidithiobacillus ferrooxidans* e de *Leptospirillum ferrooxidans* adquiridas do Banco de Microrganismos e Culturas Celulares do Instituto Leibniz DSMZ da Alemanha. A amostra de drenagem ácida (DAM) foi adquirida de uma mina de carvão proveniente do Estado de Santa Catarina (SC). A amostra de DAM, foi isolada e identificada as espécies de bactérias através do sequenciamento específico de fragmento de 16s rDNA. Os experimentos envolvendo os microrganismos foram realizados no Laboratório de Reciclagem, Tratamento de Resíduos e Metalurgia Extrativa (LAREX), do Departamento de Engenharia Química (PQI) da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (POLI - USP).

4.2.1.1. Sequenciamento 16s rDNA da DAM

O sequenciamento do fragmento 16s rDNA foi realizado com o isolamento do DNA genômico das bactérias da amostra da DAM. Para isso foi retirada uma alíquota de 2 mL da amostra da DAM e centrifugada por 2 minutos a 1000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o centrifugado foi lavado por duas vezes com 500 µL de uma solução de HCl 10 mM e centrifugado a 5000 rpm durante 15 minutos. O centrifugado contendo os microrganismos, foram utilizados para isolar o DNA genômico utilizando o kit de purificação da DNA Genomic Wizard, seguindo as instruções do fabricante. A presença do DNA genômico foi confirmada por eletroforese em agarose (Sambrook et al., 2001; Miranda et al., 2010).

Para a determinação da espécie bacteriana presente na amostra da DAM, foi utilizado o DNA genômico isolado como padrão para amplificar por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) uma região variável do 16s rDNA usando o *primer forward* (5' 'gcacaagcgggtggagcatgtgg 3') e o *primer reverse* (5' gcccggaacgtattcaccg 3'). Os *primers* amplificam o fragmento que inclui as regiões variáveis V6, V7 e V8 do 16s

rDNA. A Tabela 13 mostra os reagentes utilizados para a reação de PCR que foi realizada no volume total de 25 μL .

Tabela 13 – Reagentes da análise de PCR para o volume final de 25 μL .

Reagente	Volume	Final
Buffer de amplificação 1 x	2,5 μL	
dNTPs 0,2 mM	0,5 μL	(200-250 μM)
Primer forward 20 mM	1,25 μL	(0,1-0,5 μM)
Primer reverse 20 mM	1,25 μL	
DNA polimerase 1-5 U	0,5 μL	(0,5-1U/25 μL)
Água	18 μL	(Completar o volume)
DNA templado 10 ng/ μL	1 μL	(1-100 ng/ μL)
Total	25 μL	

O programa de PCR empregado no termociclador foi ajustado aos *amplicons* e aos *primers*. A desnaturação de DNA foi realizada a 94 °C por 5 minutos, seguido de 30 ciclos de 94 °C por 45 segundos, 50 °C por 45 segundos e 72 °C por 1 minuto com uma extensão final de 72 °C por 10 minutos. O perfil no sequenciador foi esquematizado e a Tabela 14 mostra as concentrações utilizadas na reação de PCR.

94 °C: 5 minutos

94 °C: 45 segundos
 50 °C: 45 segundos. } 30 ciclos
 72 °C: 1 minutos
 72 °C: 10 minutos

Tabela 14 – Concentrações utilizadas na reação de PCR.

Mg ₂ ⁺	KCl	dNTPs	Primers	DNA polimerase	DNA template
1,5 mM	50 mM	200 μM	1 μM	1-5 U	1 pg – 1 μg

Após a reação de PCR a amostra foi utilizada para a reação de sequenciamento e para isso foi utilizado o kit de sequenciamento do ciclo Big Dye Terminator v3.1. A Tabela 15 mostra os reagentes utilizados para a reação de sequenciamento.

Tabela 15 – Reagentes da reação de sequenciamento para o volume de 20 μL .

Reagente	Volume
Produto de PCR	5 μL
<i>Buffer</i> de sequenciamento 1 x	2,5 μL
<i>Primer forward</i> ou <i>Primer reverse</i>	1,25 μL
Big Dye	2 μL
Água Ultrapura	9,25 μL
Total	20 μL

Para esta amplificação foi realizada a desnaturação da amostra a 94 °C por 5 minutos, seguidos de 40 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 50 °C por 30 segundos e 60 °C por 4 minutos. Segue abaixo o perfil no sequenciador:

94 °C: 5 minutos

94 °C: 30 segundos
 50 °C: 30 segundos
 60 °C: 4 minutos

} 40 ciclos

O produto foi precipitado com 80 μL de isopropanol 70 % e centrifugado a 4000 rpm a 4 °C por 40 minutos. O sobrenadante foi descartado e a amostra foi injetada no equipamento ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer. O resultado do analisador genético foi utilizado para obter a sequência similar no banco de dados do NCBI Genbank.

4.2.2 Manutenção das bactérias

A técnica de repique, também denominada de repique contínuo ou subcultivo ou ainda repicagem periódica, é um método de manutenção das culturas em laboratório. O método consiste na conservação do microorganismo em meio favorável à multiplicação e estocagem. Para o processo de repique das bactérias, foi preparado o meio de cultura cuja composição encontra-se na Tabela 16.

Tabela 16 - Composição do meio de cultura (Yamane et al., 2012).

Soluções	Reagentes	Concentração (mmol/L)
Solução A	(NH ₄) ₂ SO ₄	4,73
	K ₂ HPO ₄	3,59
	MgSO ₄ .7H ₂ O	2,54
Solução B	Sulfato Ferroso	598,92

A solução com os nutrientes foi denominada de “solução A” na qual os sais foram dissolvidos em 1 L de água ultrapura com o pH ajustado a 1,8 com H₂SO₄ 5M. A solução A foi esterilizada em autoclave a 121 °C e 1 atm por 30 min.

A outra solução utilizada no meio de cultura foi denominada de “solução B” e corresponde a uma solução de sulfato ferroso. O sulfato ferroso foi pesado na quantidade de 166,5 g e dissolvido em 1 L de água ultrapura e ajustado o pH em 1,8 com H₂SO₄ 5M. A solução B foi esterilizada mediante um sistema de filtração com membrana de 0,2 µm.

As soluções A e B foram conservadas sob refrigeração a 4 °C, sendo que a solução B deve ser armazenada em vidro âmbar para evitar a oxidação do sulfato ferroso. O preparo do meio de cultura consistiu na mistura das soluções A e B na proporção de 4:1 (solução A:solução B).

Existem trabalhos que mostraram dificuldades em determinar se as bactérias agem de maneira direta ou indireta na solubilização dos metais, no entanto, alguns estudos mostraram que o mecanismo indireto predomina nos trabalhos de biolixiviação e que o aparecimento de ions férricos seja por meio químico ou pela ação dos microrganismos, impactaram a solubilização, acelerando a lixiviação do cobre (Giaveno et al., 2011; Tuncuk et al., 2012; Saidan et al., 2012; Brandl et al., 2001; Welch et al., 1999).

O processo de repique das bactérias foi realizado em erlenmeyer de 250 mL contendo o meio de cultura nos volumes de 72 mL da solução A, 18 mL da solução B e 10 mL de inóculo. O crescimento foi realizado em um agitador orbital (Infors HT) com as condições controladas como a temperatura de 30 °C e a rotação em 170 rpm.

O procedimento de manutenção seguiu o método de repiques sequenciais, no qual um novo repique foi realizado assim que o potencial de oxirredução da solução atingiu o valor igual ou superior a 600 mV. O processo de manutenção por microrganismo foi realizado com 3 repiques sequenciais monitorando o potencial de oxirredução para valores iguais ou superiores a 600 mV e com a mudança de

coloração da solução verde-claro (Fe^{2+}) para a coloração laranja ou vermelho (Fe^{3+}) em um período de 3 a 5 dias. A mudança na coloração da solução ocorreu devido à oxidação do íon ferroso proveniente da fonte de energia da solução B (sulfato ferroso) e resulta na formação do íon férrico, que em pH na faixa de 2 a 3 precipita na forma de hidróxido de ferro, e assim apresenta a coloração avermelhada.

4.2.3 Crescimento bacteriano

O crescimento dos microrganismos foi acompanhado através do método de plaqueamento de unidade formadora de colônias (UFC/mL) ou método de semeadura por espalhamento. Para o plaqueamento foi utilizado como solução A, com a seguinte composição de sais basais: 13,64 mmol/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 4,02 mmol/L K_2HPO_4 , 0,11 mmol/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. A composição da solução B: 232,05 mmol/L $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. A solução C: 111,11 mmol/L de agarose.

A solução A foi acidulada com H_2SO_4 5M ao pH 2,5 e a solução B foi ajustada para o pH em 2. As soluções A e C foram esterilizadas na autoclave, durante 15 minutos a 1 atm na temperatura de 121 °C. A solução B foi esterilizada no sistema de filtração com membrana de 0,2 μm . A solução para o plaqueamento consistiu na mistura de 70 % da solução A, 5 % da solução B e 25 % da solução C. Com a mistura do ágar sólido, foram cultivadas as bactérias por 15 dias. Para a contagem de células viáveis foi utilizada o método de diluições seriadas da amostra líquida com as bactérias.

Um outro método de crescimento das bactérias utilizado foi a contagem microscópica das células e foi realizada a partir de amostras líquidas aplicadas em lâminas ou câmara de contagem com uma lamínula. A câmara de contagem consta de uma grade quadriculada onde os quadrados têm área conhecida, e marcada sobre a superfície de uma lamínula de vidro.

Cada quadrado tem um volume conhecido e o número de células por unidade de área do quadrado pode ser contado ao microscópio, resultando na determinação do número de células no volume da câmara. O número de células por mililitro da amostra pode ser calculado utilizando um fator de conversão com base no volume da amostra da câmara.

Um outro método para a contagem celular em amostras líquidas que foi utilizado foi a técnica de Citometria de Fluxo que tem como base a aplicação de radiação laser, fluxo hidrodinâmico, ótica e substâncias fluorescentes (Fluoróforos).

A citometria de fluxo foi aplicada para quantificar a bactéria *A. ferrooxidans* por meio de marcadores de membrana. Os fluoróforos usados nos estudos de viabilidade das células foram o Calcein AM e o Ethidium homodimer III (EthD-III) da Biotium (Biotium Brochure).

A preparação das amostras foi realizada com a alíquota de 1 mL da amostra com uma população estimada de 1×10^7 bactérias/mL, que foi centrifugada (Minispin) por 8 minutos na velocidade de 10000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o centrífugo foi lavado três vezes com uma solução diluída de H_2SO_4 em pH 2 e centrifugado por 3 minutos em velocidade de 13800 rpm. Na última lavagem, foi descartado o sobrenadante e adicionado no centrífugo 1 mL de uma solução de NaCl (0,9 %).

Com o fluoróforo Calcein AM foi adicionado uma alíquota de 0,5 μ L em 1 mL de amostra e com o fluoróforo EthDIII foi adicionado uma alíquota de 2 μ L em 1 mL de amostra. A Figura 18 mostra o equipamento de citometria de fluxo (Cytotflex – Beckman Coulter) e as amostras foram analisadas com os canais de fluorescência de 488 nm no azul e 638 nm no vermelho.

A amostra com a Calcein AM foi utilizada para marcar as células vivas e viáveis, assim como a amostra marcada com o EthDIII foi utilizada para identificar as células mortas e inviáveis (Biotium PI-30002).

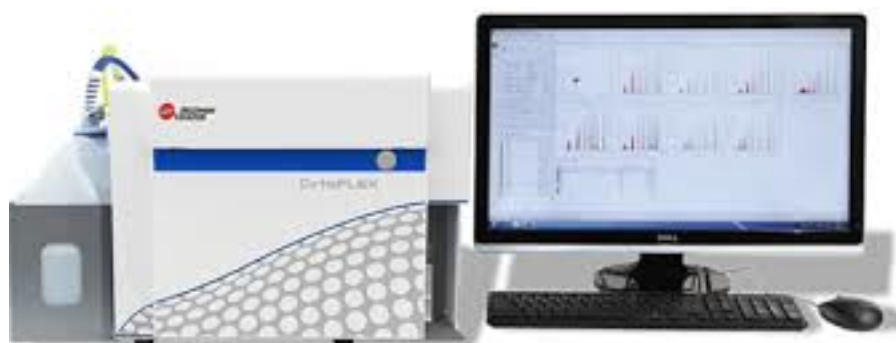


Figura 18 - Equipamento de Citometria de Fluxo – Cytotflex da Beckman Coulter.

4.2.4. Adaptação bacteriana

A adaptação dos microrganismos às diferentes concentrações das PCI obsoletas foi realizada através do cultivo sucessivo após o crescimento. As condições de crescimento foram realizadas no agitador orbital (Infors HT) com a velocidade de 170 rpm e temperatura de 30 °C.

O processo de adaptação foi realizado em etapas, em um erlenmeyer de 250 mL contendo meio de cultura na proporção de 4:1 (solução A:solução B) com os volumes de 72 mL de solução A, 18 mL de solução B, 10 mL do inóculo.

A primeira etapa do processo de adaptação ocorreu após o processo de crescimento, com a adição à solução de 0,5 g das PCI ao meio de cultura com os microrganismos. Assim que o potencial de oxirredução (Eh) da solução atingiu valor igual ou superior a 500 mV, um novo repique foi realizado e a nova solução foi preparada para o crescimento do microrganismo por um período de 3 a 5 dias até a mudança de coloração da solução de verde-claro para laranja ou vermelho.

Após o período de crescimento, foi adicionada 1 g das PCI ao meio de cultura com os microrganismos e assim seguiu o processo sucessivamente até a quantidade de 3,5 g de PCI de computadores obsoletos e 3 g de PCI de impressoras descartadas em 100 mL de meio de cultura.

A concentração mínima inibitória da placa de polímero virgem foi realizada com o cultivo sucessivo da *A. ferrooxidans* no meio de cultura nas condições de crescimento descritas para as PCI de computadores e impressoras obsoletas. A etapa de adaptação da bactéria iniciou com a adição de 0,05 g da placa de PCI virgem e o crescimento das bactérias foi analisado em plaqueamento com ágar sólido. A concentração mínima inibitória da placa de polímero virgem com a bactéria foi de 0,2 g em 100 mL de meio de cultura.

4.2.4.1 Processo de adaptação bacteriana

Para as amostras das PCI de computadores obsoletos, a primeira etapa de adaptação consiste da adição de 0,1 a 0,5 g das PCI no meio de cultura com a bactéria ativada. Assim que o Eh da solução atinge o valor acima de 500 mV e nesta primeira etapa de adaptação, o potencial redox foi de 540 mV.

Com a estabilização do pH em 1,8 pela adição de H₂SO₄ 5M, um novo repique foi realizado para o crescimento. A segunda etapa da adaptação iniciou-se quando o potencial da solução do novo repique atingiu o valor acima de 600 mV e que neste caso foi de Eh de 630 mV.

A segunda etapa do processo de adaptação iniciou-se com a adição de PCI na faixa de 0,6 a 1,0 g no meio de cultura com a bactéria adaptada na faixa anterior que foi de 0,1 a 0,5 g das PCI. Do mesmo modo que o processo anterior, o Eh da solução atingiu o valor acima de 500 mV e que no caso foi de 530 mV. Com o pH controlado

e estável em 1,8 com os ajustes realizados com a solução de H₂SO₄ 5M, um novo repique foi realizado para crescimento. A solução do novo repique foi inoculada até atingir o valor acima de 600 mV que neste caso foi de Eh de 625 mV.

A terceira fase da adaptação ocorreu com a adição na faixa de 1,1 g a 1,5 g das PCI na solução com a bactéria adaptada na faixa anterior de 0,6 g a 1,0 g das PCI. Assim como no processo anterior de adaptação, no momento que o Eh da solução atingiu o valor de 525 mV e o pH foi ajustado com H₂SO₄ 5M e ficou estável em 1,8, foi realizado um novo repique para o crescimento e o novo repique foi desenvolvido até que atingiu o Eh no valor de 620 mV.

O procedimento das etapas foi o mesmo variando apenas a quantidade de PCI. Foram realizadas sete etapas de adaptação até que as bactérias estivessem adaptadas para 3,5 g de PCI. A Tabela 17 mostra as etapas de adaptação de acordo com as quantidades adicionadas de PCI e os respectivos valores de potencial de oxirredução do processo de adaptação e do novo repique.

Tabela 17 - Adaptação das PCI de computadores obsoletos com o monitoramento do Eh (mV) na adaptação com o pH 1,8.

Etapas	Quantidade de PCI (g)	Potencial de oxirredução durante a adaptação (mV)	Potencial de oxirredução do repique (mV)
1	0,1-0,5	540	630
2	0,6-1,0	530	625
3	1,1-1,5	525	620
4	1,6-2,0	520	620
5	2,1-2,5	520	615
6	2,6-3,0	515	610
7	3,1-3,5	510	610

A Figura 19 mostra o diagrama de blocos com as etapas do processo de adaptação das bactérias utilizadas no presente estudo com até a quantidade de 3,5 g de PCI. A partir da última fase de adaptação foram realizados os ensaios de biolixiviação das amostras das PCI de computadores obsoletos para a extração de cobre.

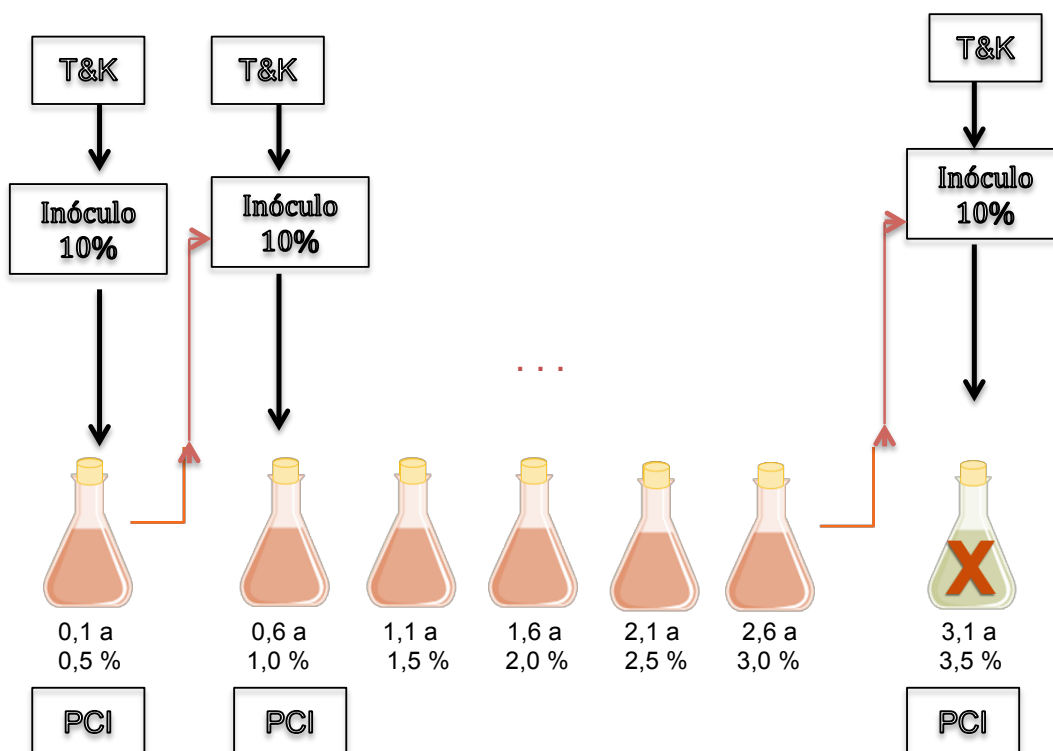


Figura 19 - Processo de Adaptação Bacteriana das PCI.

Para as amostras das PCI das impressoras descartadas, o procedimento das etapas foi o mesmo das PCI de computadores obsoletos. Foram realizadas seis etapas de adaptação até que as bactérias ficaram adaptadas para 3,0 g de PCI. A Tabela 18 mostra as etapas de adaptação de acordo com as quantidades adicionadas de PCI de impressoras descartadas e os respectivos valores de potencial de oxirredução do processo de adaptação e dos repiques.

Tabela 18 - Adaptação das PCI de impressoras descartadas com o monitoramento do Eh (mV) na adaptação com o pH 1,8.

Etapas	Quantidade de PCI (g)	Potencial de oxirredução durante a adaptação (mV)	Potencial de oxirredução do repique (mV)
1	0,1-0,5	530	620
2	0,6-1,0	520	615
3	1,1-1,5	515	610
4	1,6-2,0	510	610
5	2,1-2,5	510	605
6	2,6-3,0	505	605

A última etapa de adaptação ocorreu com a adição de 3,0 g das PCI no meio de cultura com a bactéria adaptada em 2,5 g das PCI e a partir desta fase foram realizados os ensaios de biolixiviação das amostras das PCI de impressoras obsoletas para a extração de cobre.

4.3. Experimentos de biolixiviação

Os ensaios de biolixiviação mostraram o envolvimento dos microrganismos na solubilização de metais em minérios de baixos teores e rejeitos, podendo ser aplicada na recuperação de metais dos resíduos eletroeletrônicos. As condições de operação da lixiviação bacteriana são de fundamental importância tanto no planejamento das operações, como nas variáveis envolvidas nos processos de lixiviação com a ação de microrganismos.

Os ensaios de biolixiviação foram realizados com as bactérias previamente adaptadas e considerando os experimentos abióticos (sem a presença de microrganismos) e bióticos (com os microrganismos).

4.3.1. Ensaios bióticos

Os experimentos de lixiviação bacteriana se iniciaram com os microrganismos previamente adaptados em amostras de PCI provenientes dos REEEs. Os ensaios bióticos foram realizados em erlenmeyer de 500 mL, com o meio de cultura no volume de solução A de 216 mL, 54 mL de solução B, 10 mL de inóculo adaptado previamente.

Os experimentos foram conduzidos em um agitador orbital (Infors HT) nas condições de crescimento de 170 rpm de velocidade e temperatura de 30 °C. Após o período de cultivo de 3 a 5 dias foi medido o potencial de oxirredução que deveria atingir o valor igual ou superior de 600 mV e então nesta fase foi adicionada a amostra de PCI proveniente dos REEEs.

De acordo com o diagrama de Pourbaix do sistema cobre-água a 25 °C, para desenvolver um sistema ideal de lixiviação para o cobre, o pH deve ficar de 3,0 até 3,8 com potencial de oxirredução superior a 0,4 V. A extração da parte metálica das PCI está diretamente relacionada com a quantidade de íons férricos em solução, conforme a equação de Nernst (Equação 20), de forma que a solubilização dos metais ocorre através da oxidação pelo íon férrico. De acordo com a Equação 20, a

concentração de íons férricos está relacionada com o potencial de oxirredução, ou seja, quanto maior a quantidade de íon férrico em solução, maior o Eh.

Nos ensaios de biolixiviação das PCI tanto de computadores como de impressoras obsoletas, foram monitorados o potencial de oxirredução que deveria atingir o valor igual ou acima de 500 mV e o pH foi ajustado a 1,8 com H₂SO₄ 5M.

Uma alíquota de 2 mL foi retirada diariamente de cada ensaio durante 15 dias, sendo que 1 mL foi para a análise do teor de cobre no FRX e o restante foi armazenado sob refrigeração como contraprova.

4.3.2. Ensaios abióticos

Os ensaios abióticos foram realizados e os resultados dos testes serviram como parâmetro de comparação entre a lixiviação biológica e a lixiviação química.

Os experimentos abióticos foram realizados em erlenmeyer de 500 mL, com o meio de cultura no volume da solução A de 216 mL, 54 mL de solução B e 30 mL de uma solução aquosa de Tymol a 10 % como bactericida.

Os testes abióticos foram iniciados com a adição de 10 mL da solução aquosa de Tymol a 10 % para garantir a eliminação de microrganismos presentes nos ensaios com frascos agitados. A solução de Tymol foi utilizada, não mostrando comprometimento dos resultados (Silvas, 2014).

Os ensaios foram conduzidos em um agitador orbital (Infors HT) nas condições de velocidade de 170 rpm, temperatura de 30 °C e foi adicionada a amostra de PCI proveniente dos REEes. Foram monitorados o potencial de oxirredução e o pH.

As alíquotas de 2 mL foram retiradas diariamente durante 15 dias, sendo que 1 mL foi para a análise do teor de cobre no FRX das PCI e o restante da amostra foi reservada sob refrigeração como contraprova.

4.3.3. Análises químicas

Para a determinação e ou identificação das características estruturais das PCI virgens, foi realizada a análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Os espectros no infravermelho das PCI virgens foram analisados antes da interação com as bactérias. A amostra de 1 mg das PCI virgens, foi colocada no cristal de ZnSe do equipamento FTIR Thermo Nicolet iS5.

Para a análise da carga de superfície da bactéria em diferentes pH foram realizadas as medidas do potencial zeta. A medida do potencial zeta determina o caráter da superfície em diferentes valores de pH.

O valor de pH em que se anulam as cargas e apresenta potencial zeta nulo é denominado de ponto isoelétrico (PIE). O PIE indica as características aniônicas e catiônicas da superfície da bactéria.

Em função da presença de grupos funcionais que estão presentes na superfície, pode-se determinar o comportamento total da carga. A presença de polissacarídeos estabelece um comportamento aniônico determinado pelos grupos fosfatos. Outro fato interessante é a presença de nitrogênio das proteínas e aminas que caracteriza um comportamento catiônico na superfície (Mozes et al., 1989).

As medidas de potencial zeta das células de *A. ferrooxidans* antes e após o contato com os íons metálicos e com os polímeros de PCI, foram realizadas utilizando o equipamento Zeta Meter 4.0. A medição foi realizada para estudar a influência do metal e do polímero nas propriedades de superfície da bactéria. Os valores de potencial zeta foram obtidos com a equação 30 (Equação de Smoluchowski) e o valor da atividade eletroforética foi obtido pelo programa integrado ao equipamento (Bueno, 2007).

$$Z_p = \frac{4\pi V_t}{D_t} X E_m \quad \text{Equação 30}$$

Onde:

Em: mobilidade eletroforética

V_t: viscosidade do líquido suspenso (Poises) em temperatura ambiente

D_t: constante dielétrica

Z_p: voltagem em unidades eletrostáticas

A preparação para o experimento foi realizada com o eletrólito de uma solução de KCl 0,001M e da bactéria *A. ferrooxidans* com concentração celular de 1 X 10⁷ células/mL. Os valores de pH foram ajustados utilizando soluções de KNO₃ e KOH 0,1 e 1 N respectivamente (Vilinska et al., 2011)

5. Resultados e discussão

O pré-tratamento das PCI dos REEE envolvendo as técnicas de Tratamento de Minérios foi realizada para liberar os metais e assim facilitar a sua recuperação (Silvas, 2014; Yamane, 2012). No presente estudo foi realizada a caracterização das amostras das PCI com o uso das técnicas de espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP-OES) e espectroscopia de fluorescência de raios x por energia dispersiva (FRX). Sendo assim, as etapas de extração com o uso de microrganismos para a solubilização e recuperação do cobre serão discutidas a partir deste ponto do trabalho.

5.1. Caracterização das PCI

As placas de circuito impresso de computadores e impressoras descartada foram submetidas aos ensaios de pirólise e lixiviação ácida para a determinação da composição dos materiais de acordo com os trabalhos de Silvas (2014) e Yamane (2012). A Tabela 19 mostra a composição dos materiais das PCI de computadores e impressoras obsoletas (% massa).

Tabela 19 - Composição das PCI de computadores e impressoras descartadas (% massa)

Materiais	PCI Computadores (Yamane, 2012)	PCI Impressoras (Silvas, 2014)
Metálico	49,6	44,0
Polimérico	21,6	28,5
Cerâmico	28,8	27,5

Os metais presentes nas PCI são classificados em metais ferrosos e não ferrosos. As PCI de computadores e impressoras descartadas cominuídas, foram submetidas aos ensaios de separação magnética para quantificar as frações como materiais magnéticos (MMA) e não magnéticos (MNMA). A Tabela 20 mostra o resultado de balanço de massa da separação magnética conforme os estudos de Silvas (2014) e Yamane (2012).

Tabela 20 - Comparação das frações da separação magnética dos diferentes tipos de PCI (% massa)

Material	PCI Computadores (Yamane, 2012)	PCI Impressoras (Silvas, 2014)
Material Magnético (MMA)	15	25,4
Material Não-Magnético (MNMA)	85	74,6

As frações de materiais magnéticos (MMA) e não magnéticos (MNMA) foram caracterizados para a determinação das quantidades de materiais metálicos, cerâmicos e poliméricos. A Tabela 21 mostra o percentual em massa dos materiais presentes em cada tipo de PCI, conforme os resultados dos trabalhos de Silvas (2014) e Yamane (2012).

Tabela 21 - Materiais presentes nas PCI de computadorras e impressoras obsoletas (% massa): Material Cominuído (MM), Fração Magnética (MMA) e Material Não-Magnético (MNMA).

	Materiais	Metálicos	Poliméricos	Cerâmicos
PCI Computadores (Yamane, 2012)	MM	49,6	21,6	28,8
	MMA	8,0		
	MNMA	41,6		
PCI Impressoras (Silvas, 2014)	MM	44,0	28,5	27,5
	MMA	2,9	6,2	16,3
	MNMA	41,2	22,2	11,2

Com a caracterização dos materiais metálicos, cerâmicos e poliméricos associados com os resultados de ICP-OES foi possível identificar os metais que se apresentavam em maior concentração em cada fração da separação magnética e assim seguir com o processo biológico de recuperação do cobre. A Tabela 22 mostra o percentual em massa dos metais das frações dos diferentes tipos de PCI dos estudos realizados por Silvas (2014) e Yamane (2012): material cominuído (MM), material magnético (MMA) e fração não-magnética (MNMA).

Tabela 22 - Resultados da análise de metais no ICP-OES das frações de material moído (MM), dos materiais magnéticos (MMA) e não-magnéticos (MNMA) das PCI de computadores e impressoras obsoletas (% massa).

	Materiais	Ag	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn	Outros
PCI Computadores (Yamane, 2012)	MM	0,13	23,79	5,28	0,37	4,19	4,22	11,62
	MMA	0,02	1,32	5,03	0,24	0,45	0,39	0,55
	MNMA	0,11	22,47	0,25	0,13	3,74	3,83	11,07
PCI Impressoras (Silvas, 2014)	MM	0,31	32,50	1,42	0,34	0,00	0,64	8,79
	MMA	0,00	0,50	1,42	0,34	0,00	0,20	0,44
	MNMA	0,31	32,00	0,00	0,00	0,00	0,44	8,45

Os resultados da análise de metais das PCI das frações cominuídas (MM), magnéticas (MMA) e não-magnéticas (MNMA) mostraram que a fração não-magnética era que apresentava maiores concentrações de cobre e que seria a fração interessante para ser submetida ao processamento biológico visando a recuperação do cobre.

Contudo, ainda na caracterização foi realizada a identificação dos metais nas frações não-magnéticas (MNMA) das PCI de diferentes tipos com granulometria de 1 mm. De acordo com Tuncuk et al., (2012), as partículas de tamanho maior de 2 mm podem haver a não liberação do cobre nos componentes poliméricos.

Portanto, a liberação do cobre acontece a partir de partículas com granulometria menor que 2 mm e por essa razão utilizou-se nos ensaios de processamento biológico, a granulometria de 1 mm das frações de material não-magnético (MNMA). A Tabela 23 mostra o resultado da análise de metais do ICP-OES nas PCI de computadores e impressoras descartadas do material não-magnético (MNMA).

Tabela 23 - Resultado dos principais metais na fração dos materiais não magnéticos (MNMA) nos diferentes tipos de PCI (% massa)

	Ag	Al	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
PCI Computadores	0,11	2,22	24,92	1,70	0,66	3,71	2,35
PCI Impressoras	0,05	5,57	34,64	0,96	0,33	0,02	0,63

O cobre foi o metal de maior concentração nas PCI devido à sua característica de condutividade nos componentes como os fios, bobinas, transformadores entre outros (Ernst et al., 2003; Veit et al., 2006). A concentração dos metais pode depender tanto do tipo da PCI, do método aplicado na liberação e análise dos materiais, assim como na tecnologia e nos materiais empregados na fabricação das PCI (Yamane et al., 2011; Park et al., 2009).

Conforme Murugan et al., 2008 esclareceram, mesmo com o processo de cominuição, a liberação do cobre da camada de resina das PCI pode não ser eficiente uma vez que as placas de computadores são constituídas de uma camada de celulose e resina fenólica ou de fibra de vidro, e o cobre está inserido em uma camada na superfície com o intuito de conectar os contatos elétricos.

Os teores de chumbo e de zinco nas PCI se justificam por estarem presentes na solda dos componentes eletrônicos (Zhang et al., 1999; Ogunniyi et al., 2009). O teor de chumbo na PCI das impressoras descartadas foi de 0,02 % em massa, indicando que se trata de uma placa *lead free*, fabricada por empresas que atendem aos requisitos das normas europeias (Xavier et al., 2014).

Os teores de ferro e níquel podem ter sofrido arraste para o material não magnético, não ficando concentrados no material magnético (Lewis et al., 2011).

O pré-tratamento e a caracterização das PCI são operações importante com a finalidade de concentrar os materiais magnético e não magnético para a sua recuperação de acordo com o interesse econômico.

5.2. Processo de lixiviação bacteriana

A partir das amostras das PCI de computadores e impressoras obsoletas, foram realizados os processos de crescimento, de adaptação bacteriana e de biolixiviação para a extração de cobre. As bactérias utilizadas nos experimentos biológicos foram a *Acidithiobacillus ferrooxidans* e a *Leptospirillum ferrooxidans*. Os ensaios de biolixiviação das PCI também foram feitos com a amostra de drenagem ácida de uma mina de carvão (DAM).

5.2.1. Sequenciamento 16s rDNA da DAM

A determinação das espécies bacterianas presentes na amostra da DAM foi realizada utilizando o sequenciamento da região V6, V7 e V8 do 16s rDNA que

resultou os nucleotídeos 986-1294 (Chakravorty et al., 2007) no 16s rDNA (numeração com base no sistema de nomenclatura de *E. coli*) (Brosius et al., 1978). A Figura 20 mostra o cromatograma do sequenciamento do 16s rDNA sem superposição de picos.

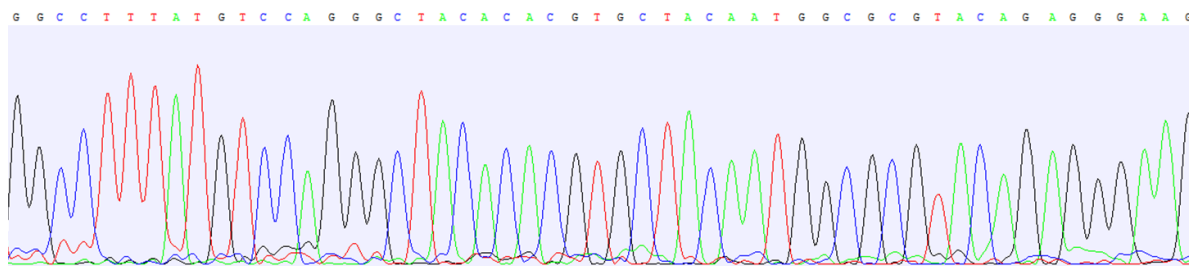


Figura 20 – Cromatograma obtido pelo sequenciamento do 16s rDNA da DAM.

A Figura 20 mostra o cromatograma obtido a partir da reação de sequenciamento e não mostra picos de superposição indicando que apenas uma sequência foi obtida no 16s rDNA. Este resultado era esperado em função da sequência de repiques realizados na amostra da DAM e este processo funciona como um seletor natural e mantém apenas as espécies que têm capacidade de desenvolvimento e sobrevivência nas condições de cultivo (Brandl et al., 2001; Ilyas et al., 2007; Yang et al., 2009; Utimura et al., 2019). A Tabela 24 mostra a consulta realizada à coleção de nucleotídeos do GenBank (NCBI) com a amostra sequenciada da DAM.

Tabela 24 - Resultados da DAM na coleção de nucleotídeos do GenBank (NCBI)

Length	Blast (Best Hits)	Accession Code	% identity
404	Acidithiobacillus ferrooxidans strain c 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	DQ909079.2	100
404	Acidithiobacillus ferrooxidans strain BYQ-5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KT633237.1	99
404	Acidithiobacillus ferrooxidans strain YQH-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KT633236.1	99

A Tabela 24 mostra que a consulta realizada à sequência na base de dados do GenBank identificou o sequenciamento de 100 % para a espécie *A. ferrooxidans*. Em comparação com as outras espécies bacterianas, a região difere em elevado grau da *Salmonella*, *Bacillus*, *Acetobacter* e *Leptospirillum* conforme é mostrado na Figura 21.

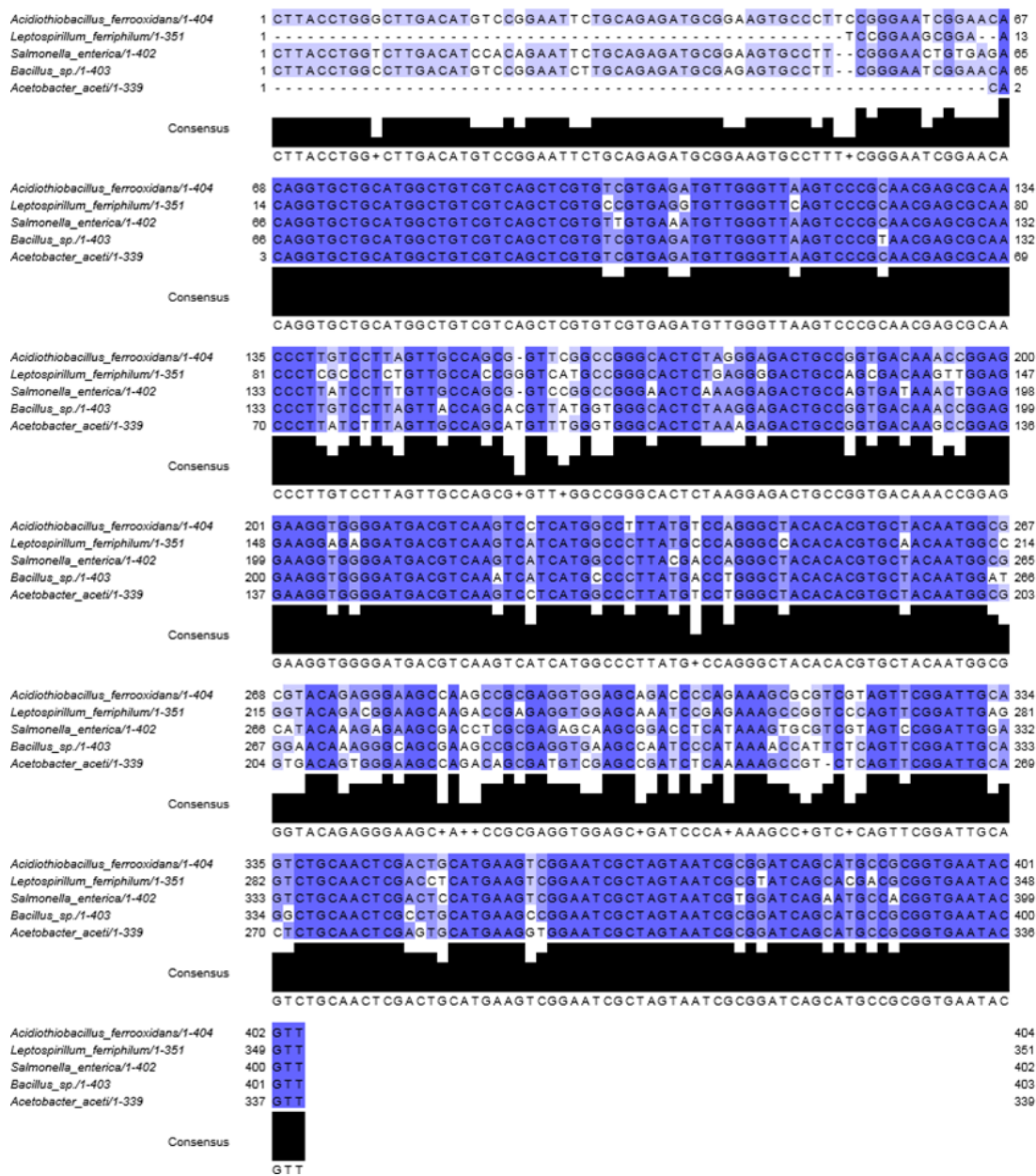


Figura 21 - Dados da sequência obtida na amplificação do gene 16S.

Em comparação com a sequência da espécie *A. thiooxidans* mostra que esta espécie bacteriana possui apenas 5 nucleotídeos diferentes na região analisada do 16s rDNA. A Figura 22 mostra que devido à conservação desses nucleotídeos na *A. thiooxidans*, pode-se verificar que a sequência identificada por amplificação do gene 16S da amostra da DAM corresponde à espécie *A. ferrooxidans* quando comparada com o banco de dados NCBI.

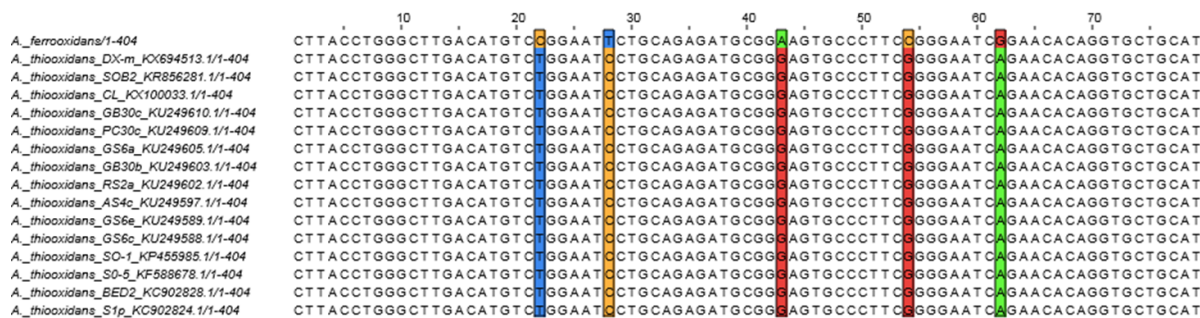


Figura 22 – Alinhamento da sequência da *A. ferrooxidans* com a sequência da *A. thiooxidans* com o grau de conservação de cinco substituições em relação ao sequenciamento da *A. ferrooxidans*.

A técnica de sequenciamento do gene 16s rDNA identifica espécies e gêneros com uma similaridade dos resultados maior que 90 % e com uma faixa de confiabilidade das informações a partir de 97 % (Janda et al., 2007).

5.2.2. Crescimento das bactérias

A contagem microscópica das células foi realizada através do microscópio de marca Leica Microsystem DM750M com as amostras líquidas diluídas em série na câmara de Neubauer. As diluições progressivas ou seriadas foram feitas com 0,1 mL do meio de cultura com as bactérias mais 0,9 mL do meio de cultura. As diluições seriadas iniciaram com soluções concentradas, chegando a soluções menos concentradas e assim amplificando o fator de diluição. A medida do número de células foi realizada com a transferência de 0,5 mL na câmara de Neubauer com uma lamínula para a contagem no microscópio.

O crescimento dos microrganismos foi também acompanhado através do método de plaqueamento de unidade formadora de colônias (UFC/mL) ou método de semeadura por espalhamento. Com a mistura do ágar sólido, foram cultivadas as bactérias por 15 dias. A Figura 23 mostra o plaqueamento da *A. ferrooxidans* no meio de ágar sólido na parte superior e as placas inferiores estão sem a bactéria.

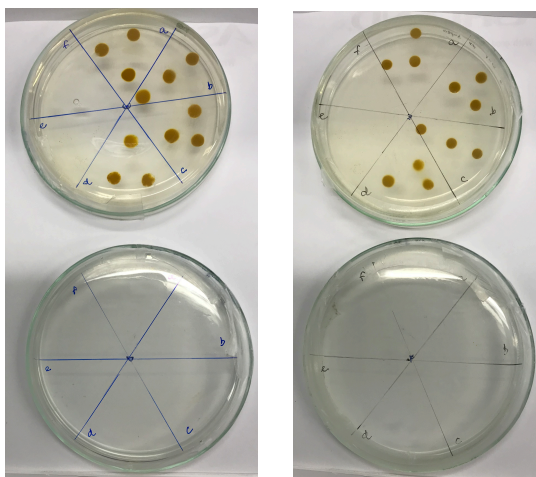


Figura 23 - As placas superiores mostram o crescimento da bactéria *A. ferrooxidans* na mistura de ágar sólido por 15 dias. As placas inferiores estão sem a bactéria e não mostram o crescimento.

Com os resultados das técnicas de mensuração do crescimento microbiano foi possível mostrar a curva de crescimento bacteriano, como mostrado na Figura 24.

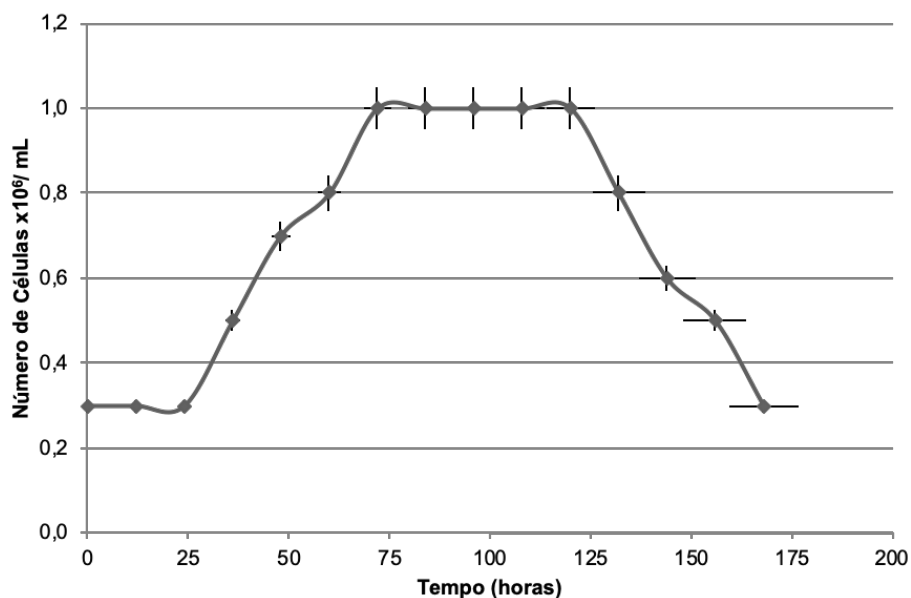


Figura 24 - Curva de crescimento da população bacteriana.

A contagem microscópica trata-se de um método simples e rápido para estimar o número de células microbianas, mas sem o uso de técnicas de coloração para as bactérias, não é possível identificar células vivas das mortas. Para aumentar a precisão da contagem microbiana, foi utilizada a técnica da citometria de fluxo.

Os ensaios com o citômetro de fluxo foram utilizados na aplicação com a bactéria *A. ferrooxidans*, na quantificação das células viáveis e mortas. A contagem das células ativas e mortas foi realizada com a aplicação de marcadores de membranas e de DNA.

Os fluorófonos utilizados para os experimentos com *A. ferrooxidans* foram a Calceína AM e o EthDIII (Biotium Brochure). A Calceína AM é um substrato de esterase permeável a membrana, não fluorescente, que entra no citoplasma e é clivado por esterases em células vivas para produzir a calceína corante verde fluorescente. A calceína é carregada negativamente e impermeável à membrana celular e é retida no citoplasma de células viáveis com membranas plasmáticas intactas. As células mortas não são marcadas com calceína devido à falta de atividade da esterase ou elas não mantêm a calceína no citoplasma em função das membranas plasmáticas comprometidas.

O EthDIII é um marcador de DNA impermeável à membrana plasmática que é excluído por células ativas. O EthDIII penetra nas células mortas com a integridade comprometida das membranas plasmáticas e cora o núcleo com fluorescência vermelha (Biotium PI-30002). A Figura 25 mostra o processo de marcação da Calceína AM quando entra em uma célula viva, com a clivagem das esterases celulares na calceína e produz um corante verde fluorescente que é retido na célula. As células mortas não terão esterases ativas e marcam o núcleo das células com fluorescência vermelha (Biotium Brochure).

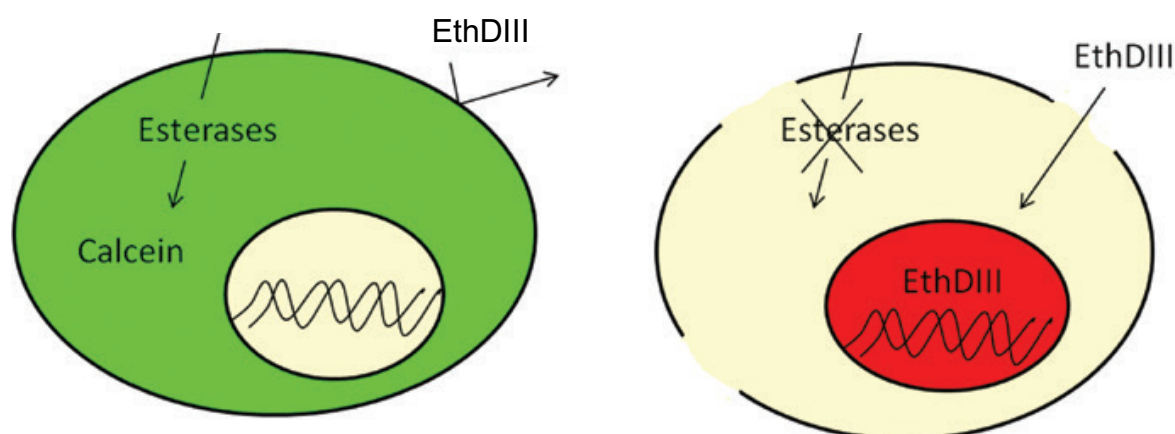


Figura 25 – Viabilidade da Calceína AM ao entrar em uma célula ativa formando um corante verde e o EthDIII marcando o núcleo da célula com um corante vermelho (Biotium Brochure).

As vantagens da contagem de células ativas de bactéria nos experimentos com o uso da citometria de fluxo são de resultados gerados com rapidez, confiabilidade e reprodutibilidade, elevado número de células contadas em poucos minutos (cerca de 10^5 células em poucos minutos).

Outro ponto importante no uso da citometria de fluxo em comparação à microscopia e outros métodos de contagem de células, estão a identificação e separação com a sensibilidade dos corantes, a tecnologia para identificar células positivas (fluorescência) e o software preparado para operar com as populações de células desejadas. Para isto, se faz necessário estabelecer parâmetros de referência específicos para cada método de análise para o uso da citometria de fluxo (Bacal et al., 2003; Invitrogen, 2011).

A análise por citometria de fluxo no citômetro Cytoflex da Beckman Coulter, com obtenção de dados pelo programa da Beckman Coulter e análise pelo programa *FlowJo* da BD (Empresa Becton Dickinson), gerou gráficos de tamanho (FSC) x granulosidade (SSC). A Figura 26 mostra os gráficos FSC x SSC representativos de uma amostra de água e de uma solução tampão de NaCl (0,9 %). O *gate* superior representa as células presentes nas amostras.

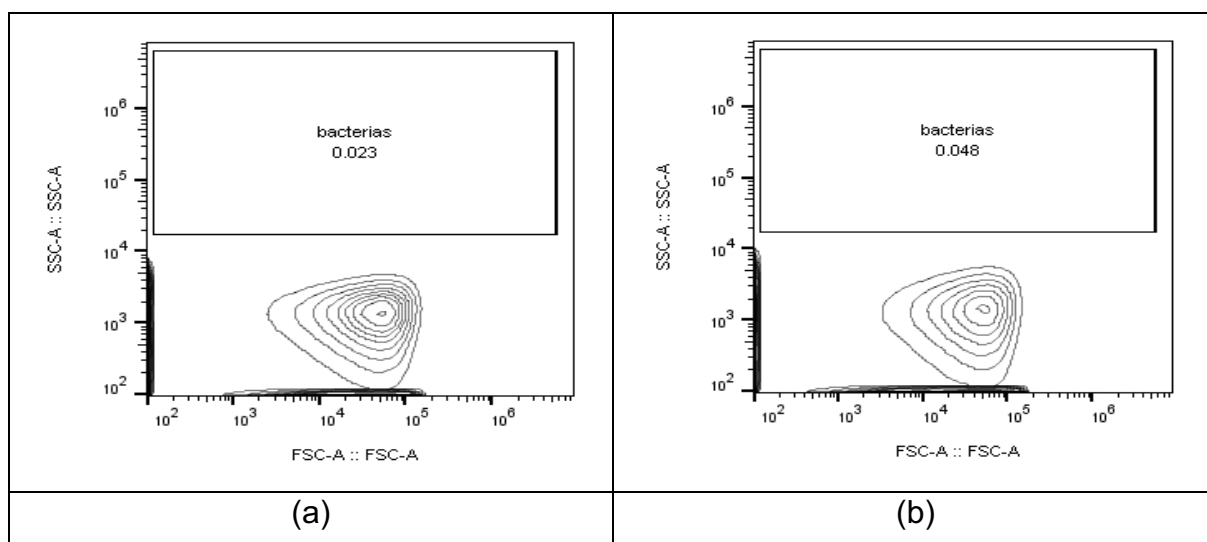


Figura 26 - Análise de Citometria de Fluxo: (a) água ultrapura (b) solução de NaCl 0,9 %.

A partir das células separadas pelo *gate* superior, foram geradas as informações de fluorescência x número de células, sendo possível calcular a porcentagem de células fluorescentes no total de células da amostra. As células fluorescentes são identificadas de acordo com os marcadores de células viáveis e

ativas, assim como as células inviáveis e inativas. A Figura 27 mostra (c) a bactéria *A. ferrooxidans* com 7 dias de crescimento e em solução tampão de NaCl sem os marcadores e (d) *A. ferrooxidans* vivas e ativas com a Calceína AM.

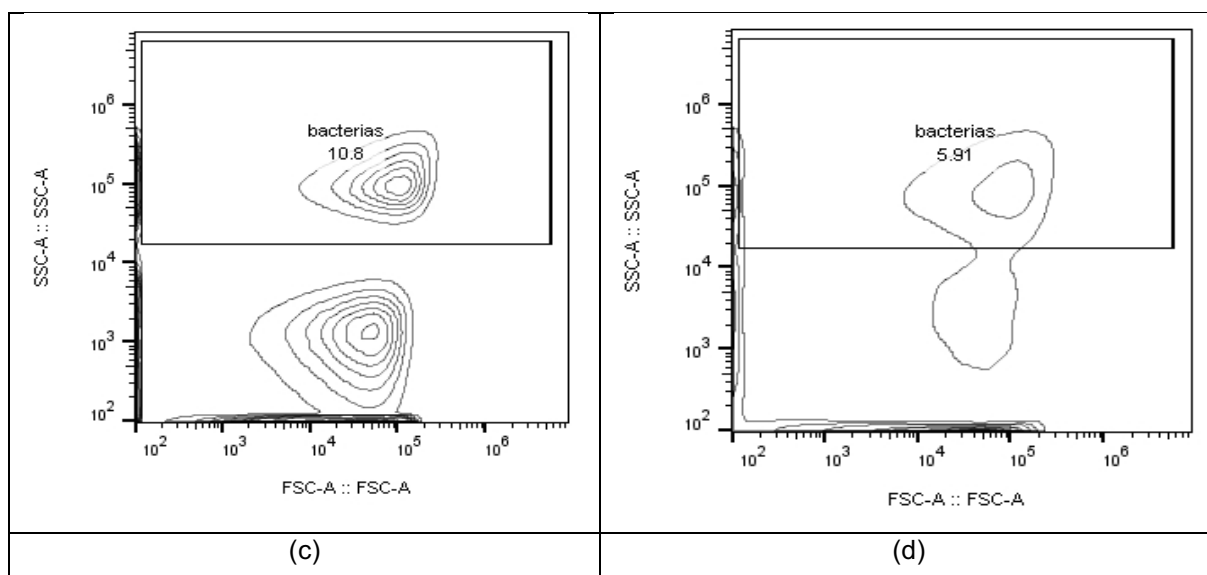


Figura 27 - Experimentos de Citometria de Fluxo: (c) *A. Ferrooxidans* vivas e ativas sem marcadores (d) *A. Ferrooxidans* vivas e viáveis com a Calceína AM.

Da área delimitada de fluorescência x número de células, tem-se as informações das células coradas em relação ao total de células da amostra. O *gate* do gráfico apresenta a porcentagem de células em relação ao total de células na amostra. A Figura 27 (c) identifica que 10,8 % de elementos na amostra, poderiam ser células, precipitação de ferro do meio de cultura, impurezas entre outros e (d) mostra que 5,91 % das células vivas e ativas foram identificadas através da Caseína AM, uma vez que a caseína é retida nas células viáveis e com as membranas intactas.

A partir das células separadas pelo gate, podem ser gerados histogramas de fluorescência x número de células que são comumente utilizadas em análises de sangue. As amostras de sangue inoculadas com marcadores como a alfaepoetina humana recombinante, fluoresce as células que contêm ácidos nucleicos ou os reticulócitos, que por sua vez, identifica os reticulócitos em relação ao total de células (Andrade, 2011).

Para a inativação das bactérias foi usada uma solução aquosa de hipoclorito de sódio a 10 %. Para o volume de 1 mL de amostra foram utilizados 5 μ L de hipoclorito de sódio para inviabilizar as células. A Figura 28 mostra o ensaio de

citometria de fluxo com (e) *A. ferrooxidans* mortas e inativas com o hipoclorito de sódio e com o marcador EthDIII.

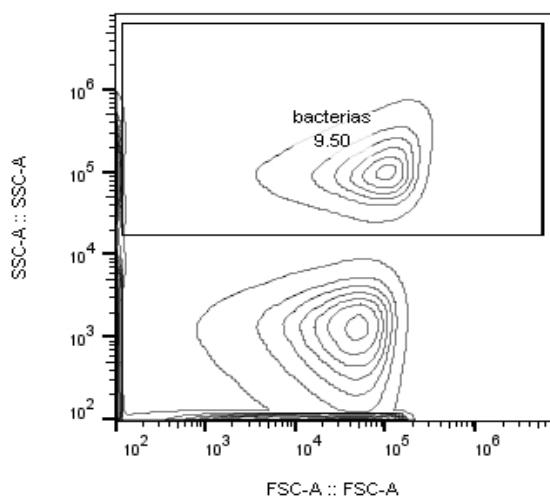


Figura 28 - Ensaio de Citometria de Fluxo: (e) *A. Ferroxidans* mortas e inativas com o EthDIII.

O resultado (e) mostra que 9,50 % das células estão mortas e inativas no total de elementos da amostra. Deve-se levar em consideração que a amostra pode conter células inativas, com a integridade parcialmente comprometida das membranas, assim como células vivas com uma parte da integridade das membranas comprometida. A Figura 29 mostra os experimentos de citometria com as bactérias mortas e inviáveis sem os marcadores (f) e as bactérias mortas e inviáveis com a calceína AM (g).

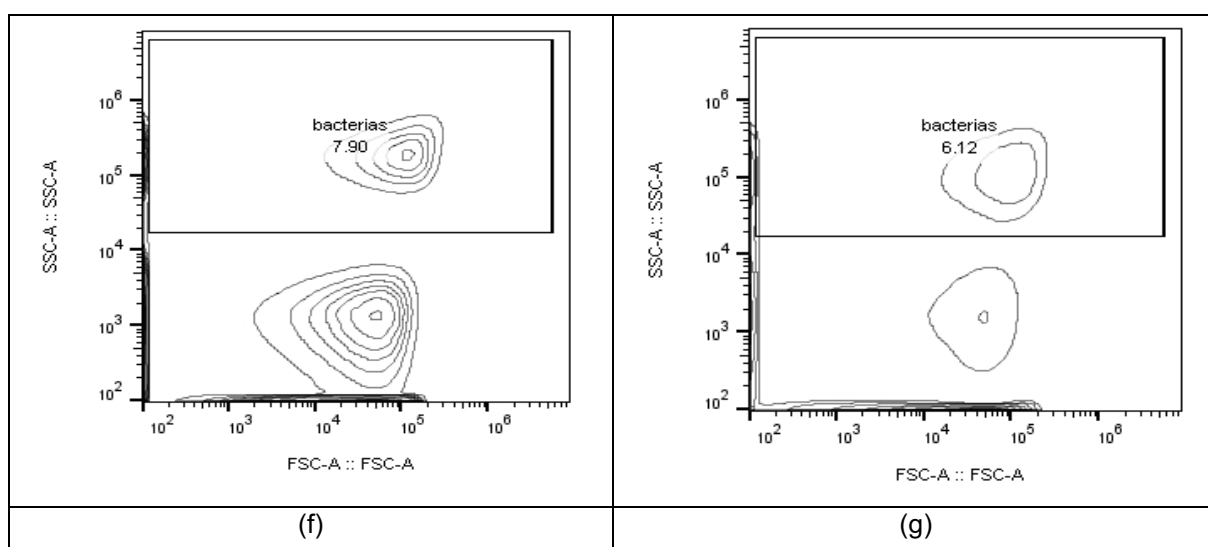


Figura 29 - Análises de Citometria de Fluxo: (f) *A. Ferroxidans* mortas e inviáveis sem marcadores (g) *A. Ferroxidans* mortas e inviáveis com a Calceína AM.

O resultado (f) mostra que 7,90 % das células estão mortas e inativas no total de elementos da amostra. No resultado (g) mostra que 6,12 % das células foram coradas com a calceína AM. Foi utilizado o hipoclorito para inativar e matar as células, mas não foi eficiente para inativar a população da amostra, devido a concentração utilizada de 10 % em solução aquosa. A Figura 30 mostra a análise de citometria com a bactéria com o marcador EthDIII.

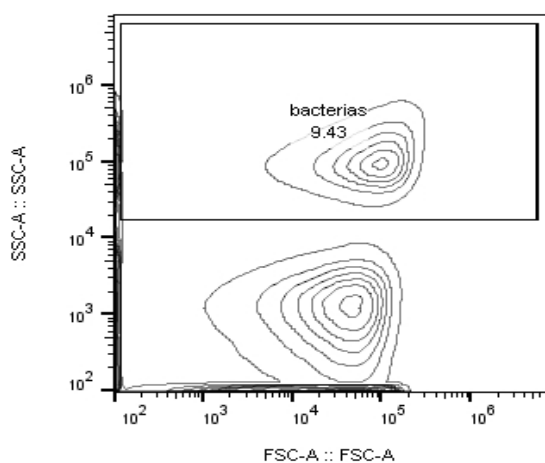


Figura 30 - Ensaio de Citometria de Fluxo: (h) *A. Ferrooxidans* inviáveis com o EthDIII.

O resultado (h) mostra que 9,43 % das células estão mortas e inativas no total de elementos da amostra. Um ponto importante a ser mencionado nos ensaios de citometria, é a necessidade da validação estatística e a repetitividade dos experimentos com a concordância dos resultados em um período de tempo, considerando o mesmo processo e o mesmo equipamento. A precisão dos resultados é outro fator importante a ser considerado, com a concordância dos ensaios com as informações obtidas em dias diferentes.

Com isso, a contagem das amostras com a bactéria *A. ferrooxidans* que foi realizada no citômetro de fluxo mostrou como resultado da análise de 1×10^5 células / mL. A diferença do resultado obtido na análise de citometria, com os dados da curva de crescimento através do método de contagens microscópicas, se deve à sensibilidade da técnica de citometria de fluxo, com o uso de colorações especiais celulares. Portanto, a contagem microscópica se mostrou pouco sensível pelo fato de não identificar as células mortas das viáveis e assim revelar números superiores observados de células.

5.2.3. Desenvolvimento bacteriano

As Figuras 31, 32 e 33 apresentam o desenvolvimento das bactérias *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* e DAM, respectivamente. As Figuras mostram os resultados de pH e do potencial de oxirredução nos primeiros três dias do processo.

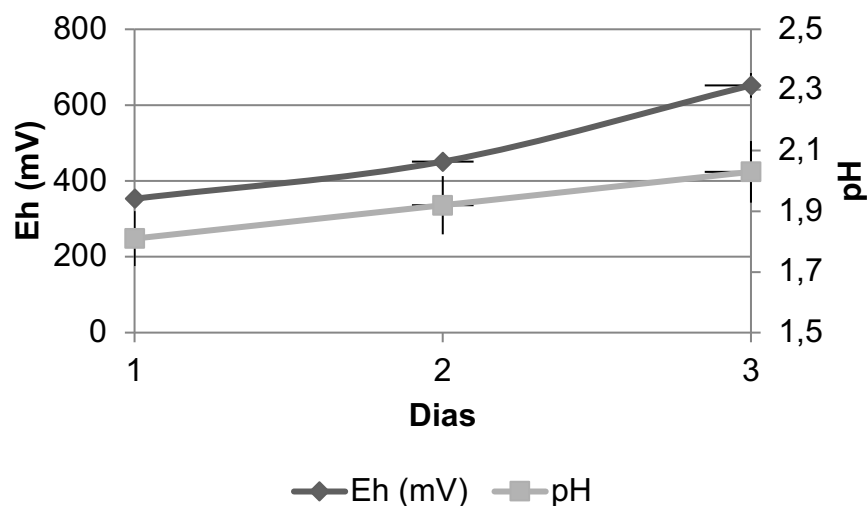


Figura 31 - Processo de manutenção da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* e as medidas de pH e potencial de oxirredução (mV).

A Figura 31 mostra o desenvolvimento da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*A. ferrooxidans*) no meio de cultura com pH de 1,8. O pH aumentou de 1,8 para 2,1 no terceiro dia de crescimento e o potencial de oxirredução inicial que era de 350 mV e no terceiro dia aumentou para 630 mV.

A Figura 32 mostra a bactéria *Leptospirillum ferrooxidans* (*L. ferrooxidans*) em desenvolvimento e o pH aumentou de 1,8 para 2,0 no terceiro dia, e o potencial de oxirredução iniciou com o valor de 320 mV e aumentou para 620 mV no terceiro dia de crescimento.

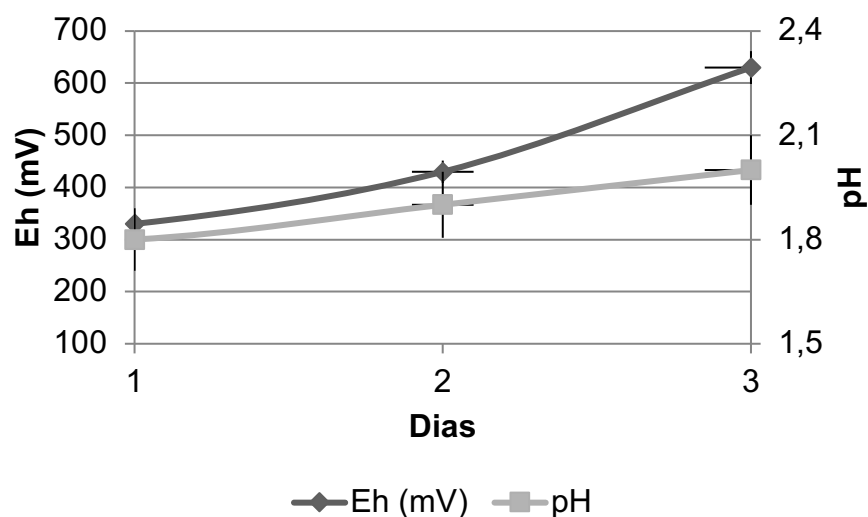


Figura 32 - Crescimento da bactéria *Leptospirillum ferrooxidans* e as medidas de pH e potencial de oxirredução (mV).

O monitoramento do potencial de oxirredução faz-se necessário uma vez que a elevação no valor do Eh está diretamente relacionada à concentração dos íons férricos e indiretamente relacionada à oxidação pela ação das bactérias nos íons ferrosos, conforme discutido anteriormente (Silvas, 2014).

A Figura 33 mostra o desenvolvimento da DAM com o valor de pH de 1,85 que aumentou no terceiro dia de crescimento para 2,05.

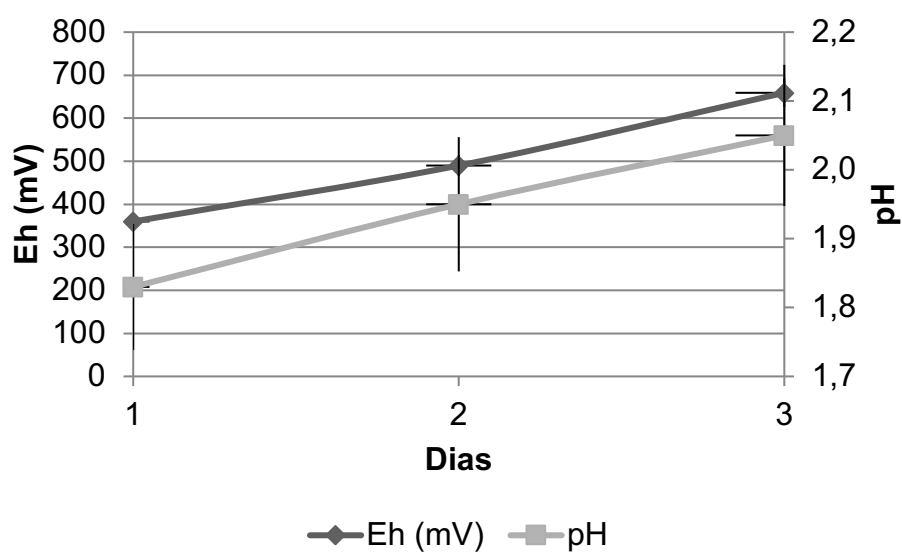
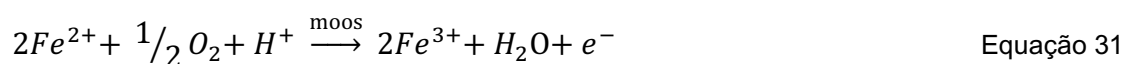


Figura 33 - Crescimento das bactérias da drenagem ácida de minas (DAM) e as medidas de pH e potencial de oxirredução (mV).

A partir da Figura 33, o potencial de oxirredução do processo de crescimento da DAM, iniciou-se com o valor de 360 e aumentou para 650 mV, indicando o desenvolvimento das bactérias contidas na amostra da DAM.

As bactérias utilizadas no estudo, utilizam o Fe^{2+} como fonte de energia e oxidam o Fe^{2+} a Fe^{3+} . A solução, no início do crescimento, mostrou uma cor esverdeada clara, indicando a presença de íons de Fe^{2+} da solução de sulfato ferroso. Com o passar dos dias, a solução passa a ter a coloração laranja-avermelhada, indicando a oxidação dos íons de Fe^{2+} para Fe^{3+} . O tempo de crescimento médio dos microrganismos acidófilos que oxidam ferro pode variar entre 3 a 5 dias e depende de alguns fatores como o valor do potencial de oxirredução que deve estar acima de 600 mV, as condições de cultivo, a composição dos nutrientes entre outros (Sobral et al., 2010). A equação 31 mostra a oxidação dos íons ferrosos a íons férricos com a ação dos microrganismos.



Durante a oxidação dos íons Fe^{2+} a Fe^{3+} com a ação bacteriana ocorre o aumento no valor de Eh que está diretamente relacionado à concentração de Fe^{3+} e indiretamente relacionado à oxidação bacteriana dos íons Fe^{2+} , de acordo com a equação de Nernst (Equação 20). As bactérias utilizam os íons Fe^{2+} presentes no meio de cultura como fonte de energia transformando-os em íons Fe^{3+} durante o processo de crescimento.

5.2.4 Adaptação bacteriana em PCI de computadores obsoletos

As Figuras 34, 35 e 36 mostram o tempo que foi necessário para completar o processo de adaptação das bactérias *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* e da DAM, respectivamente, em presença de 3,5 g das PCI de computadores obsoletos em meio de cultura.

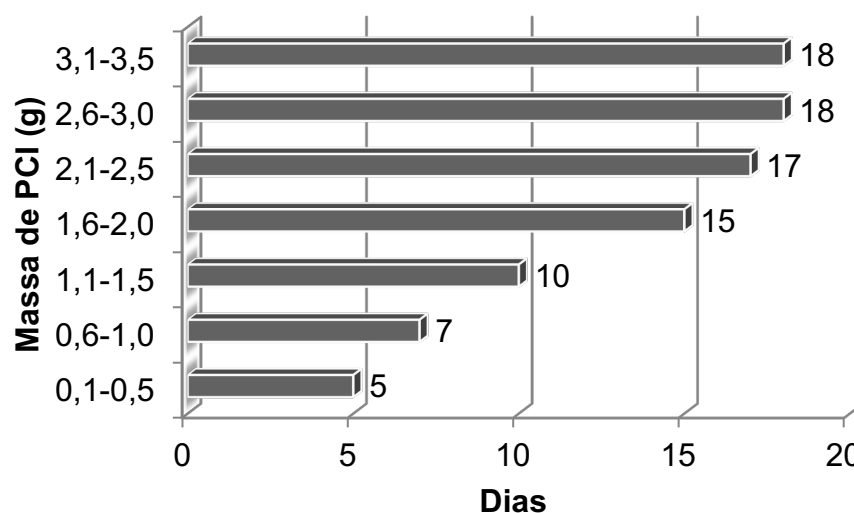


Figura 34 - Tempo necessário para o processo de adaptação da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* em contato com a fração MNMA das PCI proveniente de computadores obsoletos.

A Figura 34 mostra o tempo de adaptação da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* que foi de 90 dias para a quantidade de 3,5 g de PCI de computadores obsoletos. A comparação do período de adaptação da *Acidithiobacillus ferrooxidans* com as demais bactérias, mostrou menor tempo de adaptação. O motivo pelo qual este tipo de bactéria consegue se adaptar em um menor tempo aos teores elevados de substâncias tóxicas, é que este tipo de bactéria vive no seu próprio ambiente natural com a presença de metais dissolvidos como no caso dos efluentes da mineração (Schrader et al., 1988; Hutchins et al., 1986; Yates et al., 1988).

Ilyas et al. (2007) e Yang et al. (2009) informaram que a adaptação bacteriana pode ser uma alternativa para aumentar a resistência dos microrganismos aos íons metálicos e a outros tipos de substâncias como a resina e a fenolite, durante o processo de biolixiviação para o incremento da taxa de extração do metal de interesse.

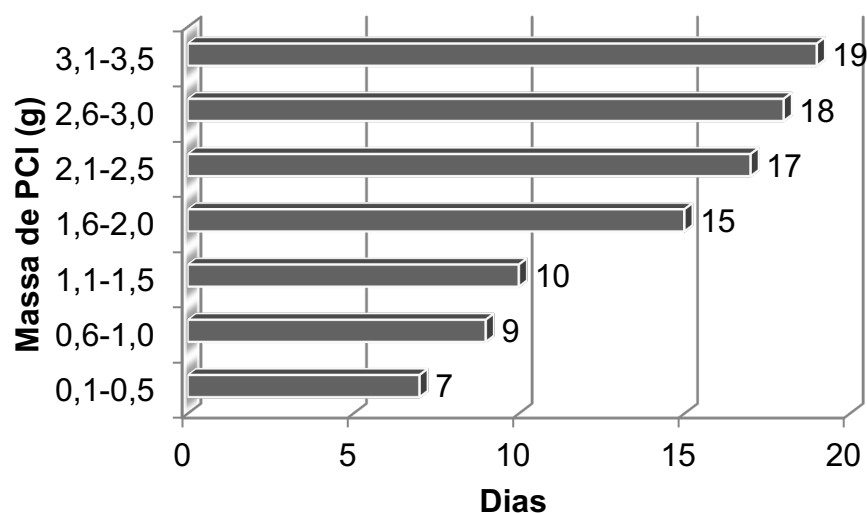


Figura 35 - Tempo requerido para a adaptação da bactéria *Leptospirillum ferrooxidans* com a fração MNMA das PCI de computadores descartados.

A Figura 35 mostra o período de adaptação da bactéria *Leptospirillum ferrooxidans*, que foi de 95 dias para 3,5 g de PCI de computadores obsoletos. Esta espécie de bactéria mostrou uma certa dificuldade no processo de adaptação, pois é menos resistente a um ambiente mineral com condições extremas de acidez e substâncias tóxicas (Balashova et al., 1979; Yang et al., 2009).

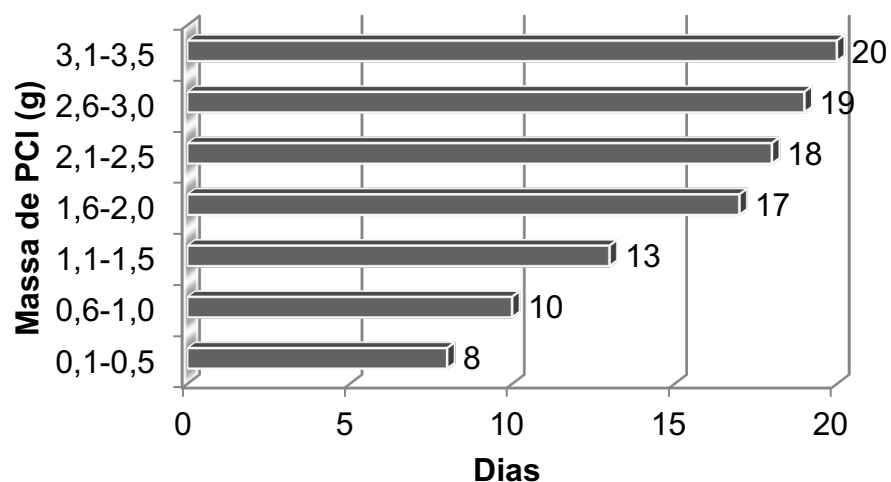


Figura 36 - Tempo de adaptação da DAM em contato com fração MNMA das PCI de computadores obsoletos.

A Figura 36 mostra o tempo de adaptação da DAM que teve uma duração de 105 dias em contato com as PCI de computadores obsoletos. Os fatores como as condições do ambiente de onde foi retirada a amostra e o tempo de crescimento podem contribuir no desenvolvimento microbiano. Em consórcios com diversas espécies, a concorrência de diferentes espécies de microrganismos pela sobrevivência, pode acarretar e dificultar o processo de adaptação na presença dos metais tóxicos (Rossi, 1990; Brandl et al., 2001).

5.2.5. Adaptação bacteriana em PCI de impressoras descartadas

O tempo necessário de adaptação dos microrganismos com as PCI de impressoras descartadas foi maior quando comparado com o tempo de adaptação dos microrganismos com as PCI de computadores obsoletos. As Figuras 37, 38 e 39 mostram o tempo requerido para o processo de adaptação das bactérias, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* e da DAM, respectivamente, na presença de 3 g de PCI de impressoras descartadas.

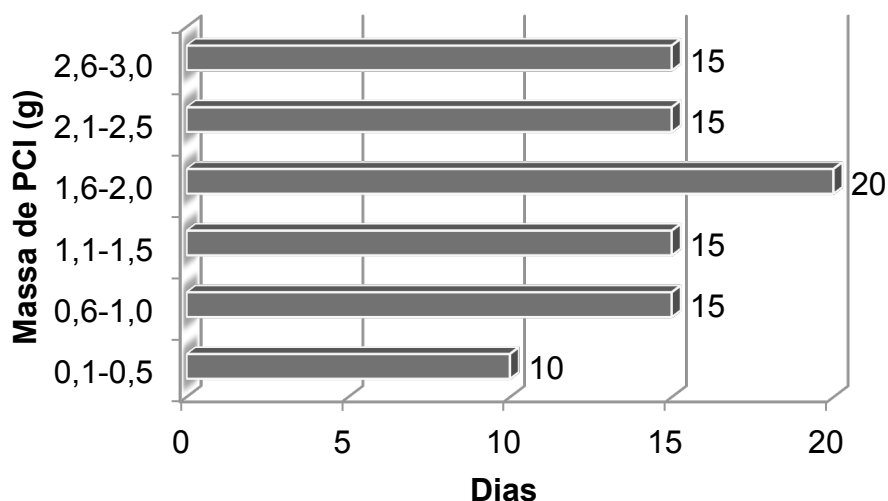


Figura 37 - Tempo necessário para a adaptação da *Acidithiobacillus ferrooxidans* com a fração MNMA das PCI proveniente de impressoras obsoletas.

A Figura 37 mostra o tempo de adaptação da *Acidithiobacillus ferrooxidans* com as PCI de impressoras descartadas, que demandou 105 dias para 3 g de amostra. Comparando com as PCI de computadores obsoletos, foram necessários 90 dias para o processo de adaptação dos microrganismos em 3,5 g de amostra ou 72 dias em 3

g das PCI. Resultando na diferença de 33 dias no processo de adaptação das PCI de impressoras em comparação com as PCI de computadores.

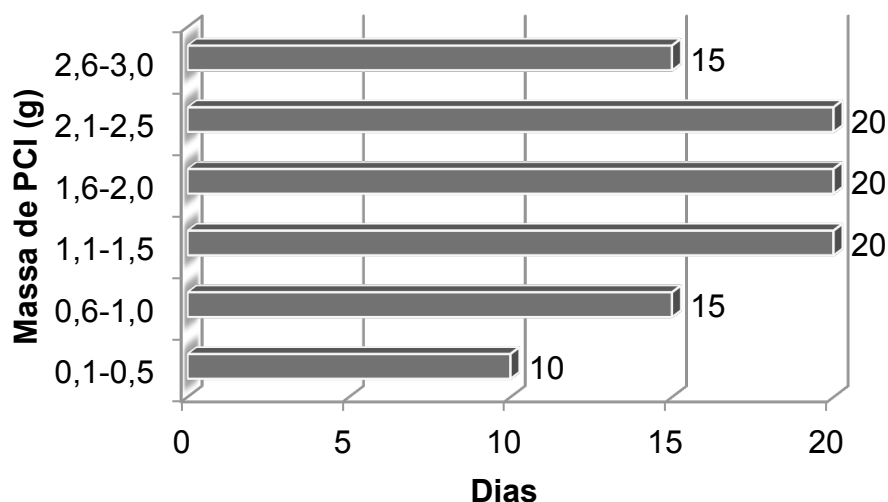


Figura 38 - O tempo requerido para a adaptação da bactéria *Leptospirillum ferrooxidans* com a fração MNMA das PCI de impressoras descartadas.

A Figura 38 mostra o tempo necessário de adaptação da *Leptospirillum ferrooxidans* com as PCI de impressoras obsoletas que foi de 115 dias para 3 g de amostra desse tipo de PCI. Em comparação com as PCI de computadores descartados, o tempo necessário de adaptação foi de 95 dias para 3,5 g das PCI ou 76 dias para 3 g das PCI. A diferença nos processos de adaptação das PCI de impressoras e computadores obsoletos foi de 39 dias.

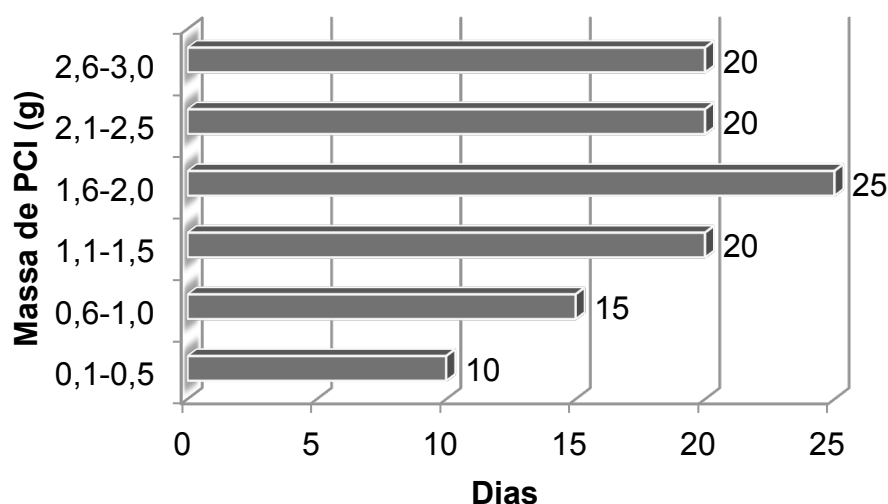


Figura 39 - O tempo de adaptação da DAM com a fração MNMA das PCI de impressoras obsoletas.

A Figura 39 mostra o período de adaptação da DAM nas PCI de impressoras descartadas que foi de 130 dias para 3 g das PCI. Comparando com o tempo necessário do processo de adaptação das PCI de computadores descartados que foi de 105 dias para 3,5 g das PCI ou 85 dias para 3 g das PCI, a diferença da adaptação entre as PCI de impressoras e computadores descartados foi de 45 dias.

A diferença no processo de adaptação entre as PCI de computadores e impressoras obsoletas pode estar associada à diferença da concentração dos metais (% em massa). Na caracterização das PCI, foi observado que além do teor de cobre presente (teor de cobre nas PCI de computadores: 24,92 % em massa e teor de cobre nas PCI de impressoras: 34,64 % em massa), o teor de alumínio nas PCI de impressoras foi mais do que o dobro do teor de alumínio das PCI de computadores (teor de alumínio nas PCI de computadores: 2,22 % em massa e o teor de alumínio nas PCI de impressoras: 5,57 % em massa). O teor de alumínio nas PCI se justifica nos componentes eletroeletrônicos, assim como na forma de alumina como carga na produção das placas (Basso et al., 1989; Basso et al., 2007).

Os efeitos causados pela toxicidade do alumínio podem ser justificados na dificuldade do processo de adaptação das PCI de impressoras obsoletas, tanto na estabilidade do pH no valor de 1,8 quanto em atingir o potencial de oxirredução em valores acima de 500 mV. Foram necessárias várias repetições de cada fase do processo de adaptação, demandando um tempo maior na adaptação dos microrganismos com esse tipo de PCI. A ação tóxica do alumínio sobre os microrganismos pode causar a inibição no crescimento devido ao bloqueio de aquisição e transporte de nutrientes, deixando de realizar as reações bioquímicas necessárias para a manutenção da viabilidade celular (Basso et al., 1989; Basso et al., 2007; Hamilton et al., 2001; Yoshino et al., 1992).

5.3.Experimentos de Biolixiviação nas PCI

Os ensaios de biolixiviação foram realizados com as bactérias previamente adaptados em agitadores orbitais para a recuperação do cobre proveniente das PCI de computadores e impressoras obsoletas.

5.3.1. Biolixiviação das PCI de computadores obsoletos

Os ensaios de biolixiviação das PCI de computadores descartados foram realizados com a adição de 3,5 g das PCI no meio de cultura com a bactéria adaptada. O volume total da solução contendo o meio de cultura e a bactéria foi de 300 mL. A composição do meio de cultura foi de 216 mL da solução A, 54 mL da solução B e 30 mL de inóculo.

Nos ensaios realizados durante 15 dias, foram retirados diariamente, 2 mL de amostra sendo que 1 mL foi mantido como contraprova em refrigeração e 1 mL foi feita uma diluição de 5x para a análise de cobre pela técnica de Espectroscopia de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva (FRX). A Figura 40 mostra o controle do pH durante o ensaio de biolixiviação das PCI de computadores descartados com as bactérias e o controle abiótico. O pH foi ajustado com ácido sulfúrico 5M durante todo o ensaio e mantido constante no valor de 1,8.

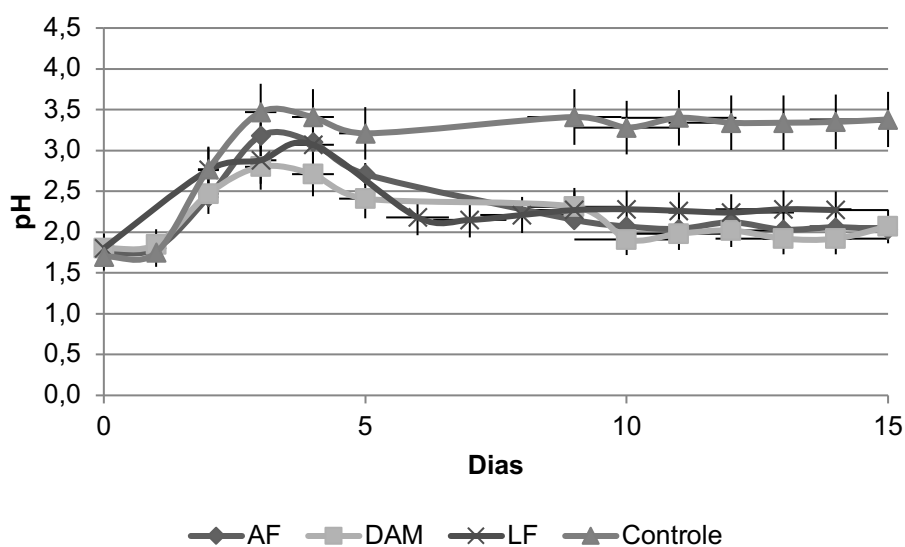


Figura 40 - Variação do pH no ensaio de biolixiviação das PCI proveniente de computadores obsoletos com as bactérias em estudo.

De acordo com a Figura 40, comparando o pH com os ensaios de biolixiviação da Figura 46, observou-se que com a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* o pH ficou estabilizado no décimo dia do processo. Com a bactéria *Leptospirillum ferrooxidans* o pH foi estabilizado no oitavo dia conforme a Figura 40. Com a DAM, o pH foi estabilizado no décimo dia no processo de biolixiviação das PCI de computadores obsoletos.

A necessidade da correção do pH com a adição de ácido sulfúrico 5M foi em função do caráter alcalino das PCI contribuindo para a elevação dos valores do pH (Kaksonen et al., 2011; Lee et al., 2012). A Figura 41 mostra o consumo de ácido sulfúrico 5M no ajuste do pH no processo de biolixiviação das PCI de computadores descartados com a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

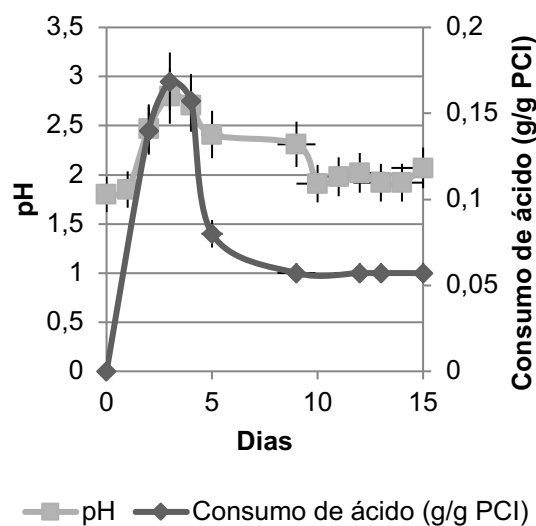
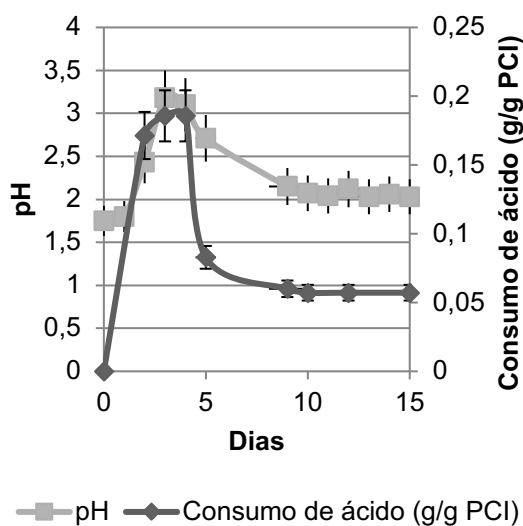


Figura 41 - Consumo de H_2SO_4 5M para o ajuste do pH na biolixiviação das PCI de computadores obsoletos com a *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Figura 42 - Ajuste do pH e o consumo de H_2SO_4 5M na biolixiviação das PCI de computadores descartados com a DAM.

A Figura 41 mostra que o ácido sulfúrico 5M foi consumido até o quarto dia. O consumo total de ácido foi de 2,99 g em 100 mL de meio de cultura com 3,5 g PCI para o acerto do pH em 1,8. Considerando a densidade do ácido sulfúrico concentrado de 1,841 g/ mL e sendo que a preparação de uma solução de ácido sulfúrico 5M consome o volume de 266,15 mL de ácido sulfúrico concentrado, o volume necessário de ácido sulfúrico concentrado para o ajuste de pH em uma operação de biolixiviação das PCI de computadores descartados foi de 1,2 mL em 1 L de meio de cultura por grama das PCI.

A Figura 42 mostra o consumo de H_2SO_4 5M para o ajuste do pH na biolixiviação das PCI de computadores obsoletos com a DAM. O ácido sulfúrico 5M foi consumido até o terceiro dia. O consumo total de H_2SO_4 5M na biolixiviação foi de 2,71 g em 100 mL de meio de cultura com 3,5 g das PCI para o ajuste do pH para o valor de 1,8. Com isso, no processo de biolixiviação, foram consumidos 1 mL de

H₂SO₄ concentrado em 1 L do meio de cultura por grama de PCI de computadores obsoletos.

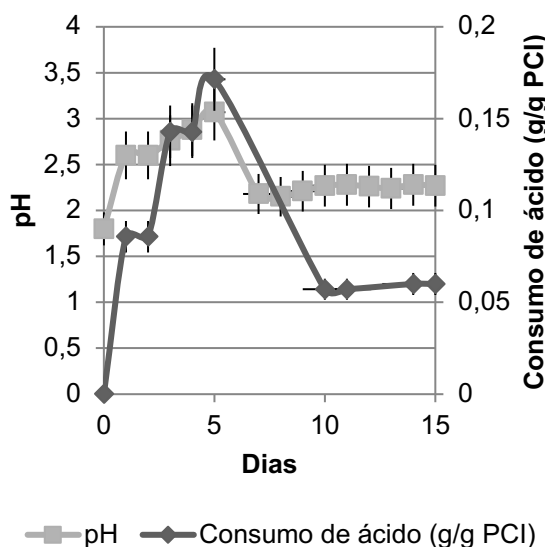


Figura 43 - Ajuste do pH e o consumo de H₂SO₄ 5M na biolixiviação das PCI de computadores obsoletos com a *Leptospirillum ferrooxidans*.

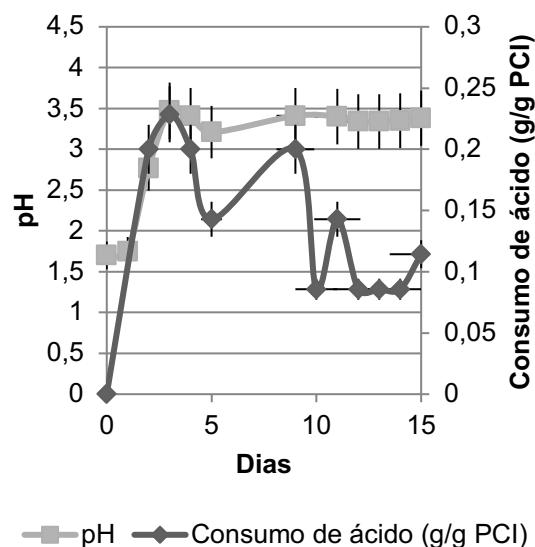


Figura 44 - Consumo de H₂SO₄ 5M para o ajuste do pH na biolixiviação das PCI de computadores descartados no ensaio abiótico (controle).

A Figura 43 mostra a quantidade necessária de solução de H₂SO₄ 5M para o ajuste do pH na operação de biolixiviação de PCI de computadores descartados com a bactéria *Leptospirillum ferrooxidans*. O ácido sulfúrico 5M foi consumido até o quinto dia. Foram necessários, para o ajuste do pH em 1,8, na biolixiviação de 3 g em 100 mL do meio de cultura por grama das PCI. Com isso, no processo de biolixiviação foram necessários 1,2 mL em 1 L do meio de cultura por grama das PCI de computadores descartados.

A Figura 44 mostra a quantidade necessária de H₂SO₄ 5M para o ajuste do pH na lixiviação das PCI de computadores obsoletos no controle abiótico. O consumo de ácido sulfúrico 5M cresceu até o terceiro dia. Foi consumida a quantidade de 5,5 g de H₂SO₄ 5M em 100 mL do meio de cultura com 3,5 g das PCI para o ajuste do pH em 1,8. Sendo assim, na lixiviação foram consumidos 2,5 mL de H₂SO₄ concentrado em 1 L do meio de cultura por grama das PCI de computadores obsoletos.

O ensaio abiótico consumiu mais ácido sulfúrico do que o ensaio biótico e essa diferença foi ocasionada pela ação bacteriana uma vez que no ensaio abiótico não há a ação das bactérias catalisando a reação de oxidação dos íons ferrosos e ocorrendo

apenas a ação do oxigênio na produção de ácido sulfúrico e íons férricos. A produção de ácido sulfúrico sem a interação das bactérias não foi suficiente para o controle do pH e por isto ocorreu a necessidade de maior quantidade de ácido no ajuste do pH no processo de lixiviação.

A Figura 45 mostra as medidas do potencial de oxirredução na biolixiviação de placas de circuito impresso dos computadores obsoletos com o uso das bactérias em estudo. O potencial de oxirredução no processo de biolixiviação iniciou em 400 mV com todos os microrganismos. Com relação à solução abiótica o potencial de oxirredução foi constante no valor de 300 mV ao longo de todo processo.

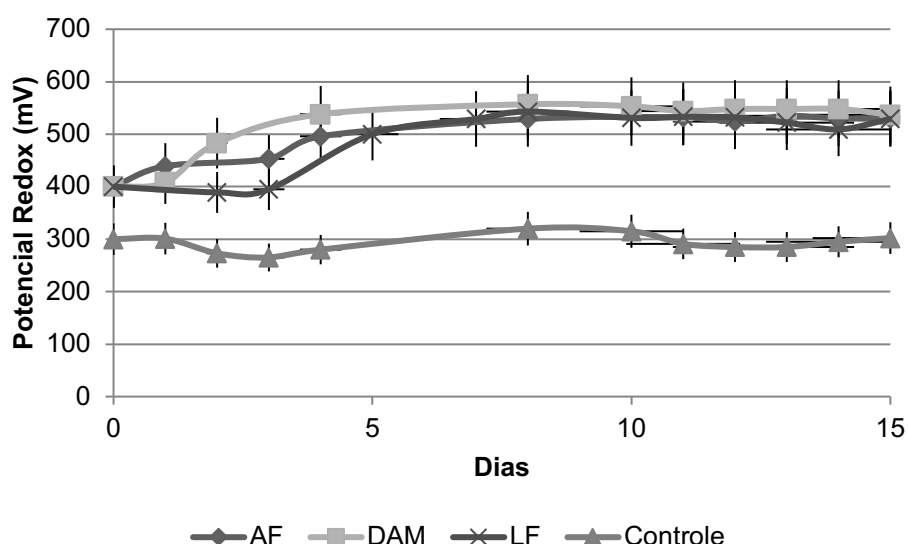


Figura 45 - Monitoramento do Eh (mV) na biolixiviação das PCI de computadores descartados com as bactérias em estudo.

A bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, até o quarto dia, manteve o potencial de oxirredução estável em cerca de 450 mV e após o quarto dia, o valor do potencial de oxirredução aumentou para 530 mV e manteve-se constante durante todo o processo de biolixiviação.

Com a bactéria *Leptospirillum ferrooxidans*, o potencial de oxirredução manteve o valor constante de 400 mV até o quarto dia do processo de biolixiviação. A partir do quarto dia, ocorreu aumento no potencial de oxirredução para 533 mV, que permaneceu constante durante o resto do ensaio.

Para a DAM, o potencial de oxirredução inicial foi de 400 mV e a partir do quarto dia foi para 548 mV permanecendo constante durante toda a biolixiviação das PCI de computadores obsoletos.

De acordo com a Figura 45, os ensaios com a *Acidithiobacillus ferrooxidans* e a *Leptospirillum ferrooxidans* mostraram que o potencial de oxirredução foi estável em cerca de 450 mV e 400 mV até o quarto dia, quando ocorreu a oxidação dos íons ferrosos proveniente da fonte de energia do sulfato ferroso, formando os íons férricos e com isto a elevação do potencial de oxirredução a partir do quarto dia aumentou para 530 mV e 533 mV, respectivamente.

Sand et al., 2001 sugerem que a comunidade microbiana tem maior capacidade de oxidação e com isto catalisa a reação de oxidação dos íons ferrosos a íons férricos mais rápido quando comparada à velocidade de oxidação dos íons ferrosos a íon férrico com as cepas distintas (Ghauri et al., 2007). Com isto, a DAM mostrou um aumento no potencial de oxirredução mais rápido do que as outras bactérias, como mostra a Figura 45.

O processo de oxidação com os microrganismos apresentou o valor médio de 540 mV. Com a elevação do potencial de oxirredução, o processo mostra que os microrganismos estão oxidando o íon Fe^{2+} do sulfato ferroso, produzindo o sulfato férrico que tem ação oxidativa sobre o substrato inorgânico, solubilizando desta maneira os metais presentes em estudo (Valdívia, 2003). Assim, a elevação no valor do Eh está diretamente relacionada à concentração dos íons férricos e indiretamente relacionada à oxidação pela ação das bactérias nos íons ferrosos (Silvas, 2014).

A Figura 46 mostra os resultados de extração de cobre nas PCI de computadores obsoletos com os microrganismos em estudo e com o controle abiótico. A extração de cobre com a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, atingiu cerca de 90 % no quarto dia do processo e, a partir desse dia, a extração de cobre continua de forma mais lenta no ensaio de biolixiviação.

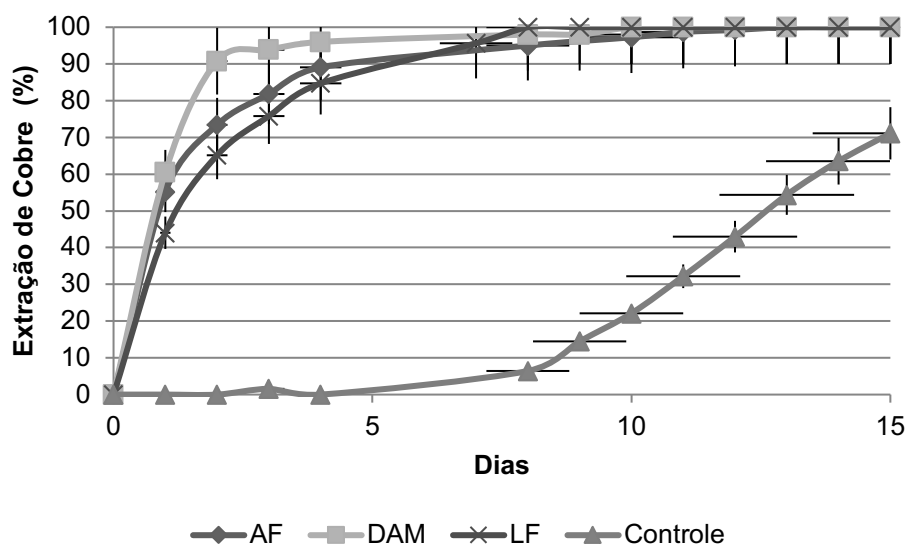


Figura 46 - Extração de cobre na biolixiviação das PCI de computadores obsoletos com as bactérias em estudo.

Com a bactéria *Leptospirillum ferrooxidans*, a Figura 46 mostra que no quarto dia havia sido extraído cerca de 85 % de cobre no processo e a extração de cobre apresentou de forma mais lenta no ensaio de biolixiviação. Com a DAM, foi possível observar 96 % de extração no quarto dia e a partir desse dia, permaneceu constante no ensaio de biolixiviação.

No controle abiótico foi utilizado 5 mL de uma solução aquosa de 5 % do bactericida Tymol para garantir que não houvessem microrganismos no estudo de biolixiviação. A Figura 34 mostra que a partir do quinto dia do processamento, a extração de cobre começou a crescer até o final do ensaio de lixiviação, atingindo o valor de cerca de 70 % de extração de cobre no final do processo, ou seja, após 15 dias.

Comparando os resultados encontrados do ensaio de lixiviação bacteriana nas PCI de computadores obsoletos (Figura 46) com os resultados da curva de crescimento bacteriano (Figura 24), que no quarto dia, as bactérias estavam na fase estacionária de crescimento, ou seja, não se observou aumento ou diminuição no número de células. Embora a população de células não aumente nesta fase, muitas funções celulares podem continuar, como o metabolismo energético e os processos biossintéticos. Na fase estacionária, as células podem permanecer vivas e metabolizando, porém, o crescimento exponencial pode cessar (Madigan et al., 2010).

A partir do quarto dia, o processo de biolixiviação permaneceu contínua e pode estar associada ao não aumento no número de células (fase estacionária de crescimento microbiano), com a manutenção das funções celulares.

5.3.2. Biolixiviação das PCI de impressoras descartadas

Os ensaios de biolixiviação das PCI foram realizados com a adição de 3 g das PCI proveniente de impressoras descartadas moídas na solução do novo repique com a bactéria adaptada em 2,5 g das PCI de impressoras obsoletas. Os testes de biolixiviação foram realizados com 3 g desse tipo das PCI devido à dificuldade no processo de adaptação dos microrganismos com este tipo de substrato. O motivo da dificuldade foi justificado no processo de adaptação dos microrganismos como a presença de alumínio contido na amostra das PCI de impressoras descartadas.

O volume total da solução contendo o meio de cultura e a bactéria foi de 300 mL. A composição da solução do meio de cultura foi de 216 mL da solução A, 54 mL da solução B e 30 mL de inóculo.

Em todos os dias de ensaios durante 15 dias, foi retirada uma alíquota 2 mL de amostra sendo que 1 mL foi mantido como contraprova em geladeira e 1 mL foi realizada uma diluição de 5x para a análise de cobre na técnica de Espectroscopia de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva (FRX-ED). A Figura 47 mostra o monitoramento do pH no processo de biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas com os microrganismos e o controle abiótico. O pH foi ajustado com ácido sulfúrico 5M durante todo o ensaio e mantido constante no valor de 1,8.

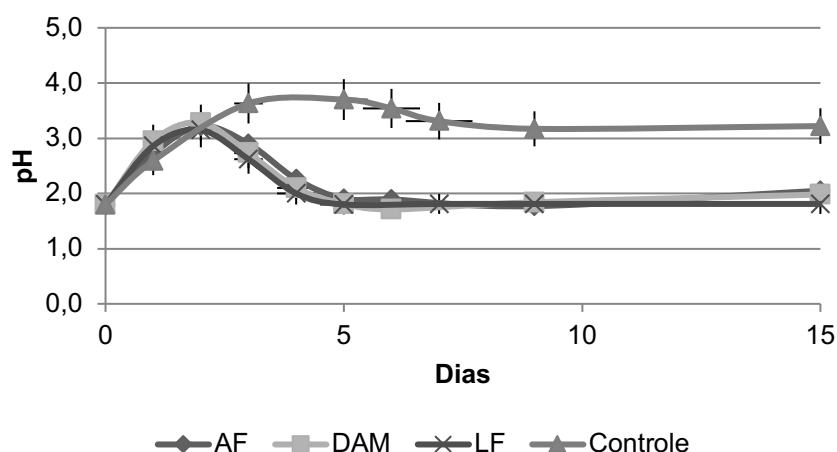


Figura 47 - Controle do pH na biolixiviação das PCI proveniente da fração MNMA de impressoras obsoletas com as bactérias estudadas.

De acordo com a Figura 47 foi observado que com a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* o pH ficou estabilizado a partir do oitavo dia do processo de biolixiviação. Com a bactéria *Leptospirillum ferrooxidans* o pH ficou estabilizado no quinto dia e com a DAM, o pH ficou estável no oitavo dia durante o processo de biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas.

A Figura 48 mostra o consumo de ácido sulfúrico 5M durante o ajuste do pH em 1,8 no ensaio de biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas com a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*. O ácido sulfúrico 5M foi consumido até o segundo dia, num total de 3,85 g em 100 mL de meio de cultura com 3 g PCI.

Considerando a densidade do ácido sulfúrico concentrado de 1,841 g/mL e, sendo que, para preparar uma solução de ácido sulfúrico 5M consome o volume de 266,15 mL de ácido sulfúrico concentrado, o volume necessário de ácido sulfúrico concentrado para o ajuste de pH de 1,8 na operação de biolixiviação das PCI de impressoras descartadas foi de 2 mL em 1 L de meio de cultura por grama das PCI.

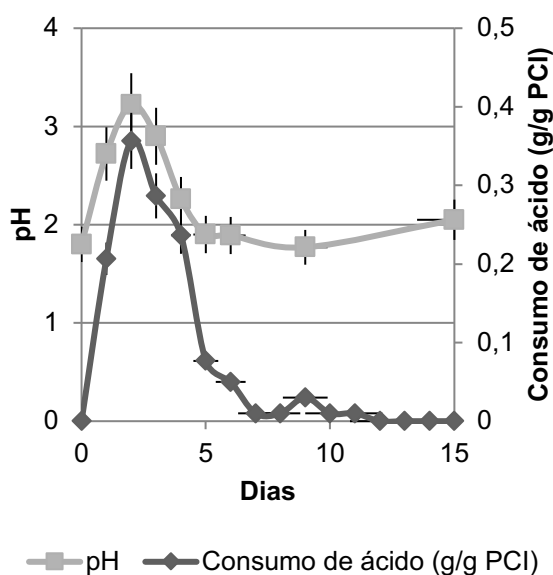


Figura 48 - Consumo de H_2SO_4 5M para o ajuste do pH na biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas com a *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

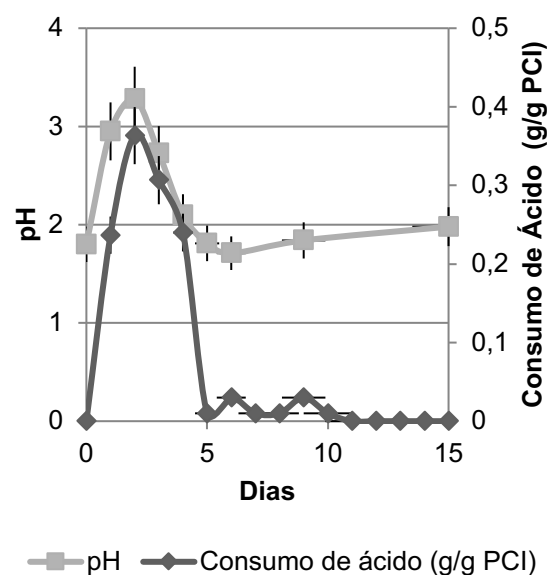


Figura 49 - Ajuste do pH e o consumo de H_2SO_4 5M na biolixiviação das PCI de impressoras descartadas com a DAM.

A Figura 49 mostra o consumo de H_2SO_4 5M para o ajuste do pH em 1,8 na biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas com a DAM. O consumo total de H_2SO_4 5M na biolixiviação foi de 3,74 g em 100 mL do meio de cultura com 3 g das

PCI. Com isso no processo de biolixiviação foram consumidos 2 mL de H_2SO_4 concentrado em 1 L do meio de cultura por grama das PCI de impressoras obsoletas.

A Figura 50 mostra a quantidade necessária de solução de H_2SO_4 5M para o ajuste do pH em 1,8 na operação de biolixiviação das PCI de impressoras descartadas com a bactéria *Leptospirillum ferrooxidans*. Para o ajuste do pH na biolixiviação foram necessárias 3,04 g em 100 mL do meio de cultura com 3 g de PCI. Contudo, na biolixiviação foram necessários 1,5 mL em 1 L do meio de cultura por grama das PCI de impressoras descartadas.

A Figura 51 mostra a quantidade necessária de H_2SO_4 5M para o ajuste do pH em 1,8 na biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas no controle abiótico. Foi consumido a quantidade de 5,99 g de H_2SO_4 5M em 100 mL do meio de cultura com 3 g de PCI. Com isso, na biolixiviação foram consumidos 3 mL de H_2SO_4 concentrado em 1 L de meio de cultura por grama das PCI de impressoras obsoletas.

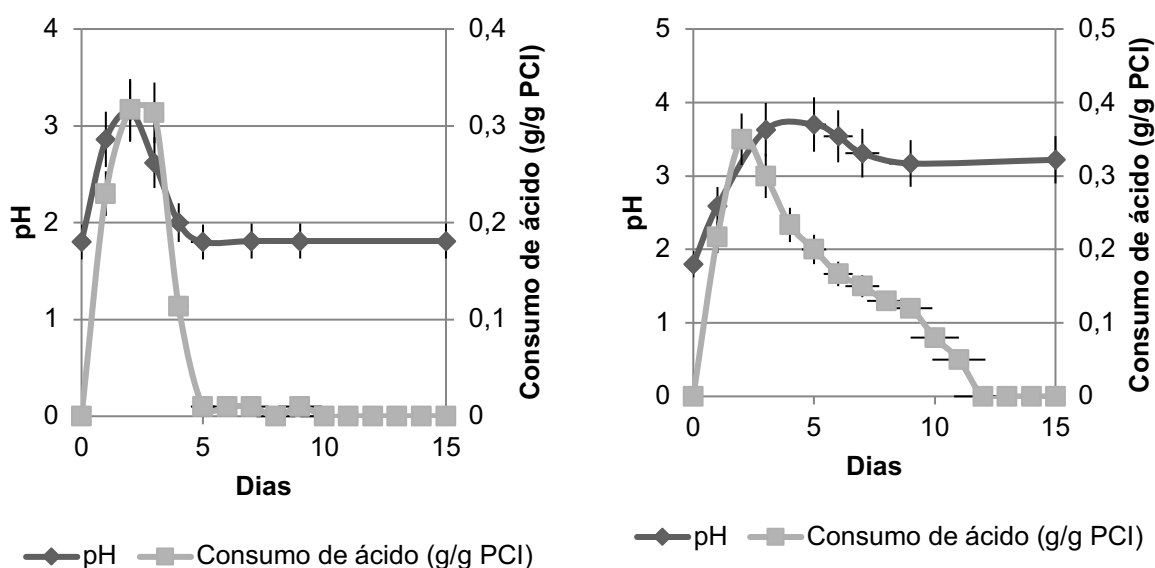


Figura 50 - Acerto do pH e o consumo de H_2SO_4 5M na biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas com a *Leptospirillum ferrooxidans*.

Figura 51 - Consumo de H_2SO_4 5M para o acerto do pH na biolixiviação das PCI de impressoras descartadas no ensaio abiótico (controle).

A Figura 52 mostra as medidas do potencial de oxirredução na biolixiviação de PCI de impressoras descartadas com o uso dos microrganismos em estudo. O potencial de oxirredução no processo de biolixiviação iniciou em 640 mV com todos os microrganismos. Com relação à solução abiótica o potencial de oxirredução iniciou-se e manteve-se constante no valor de 300 mV.

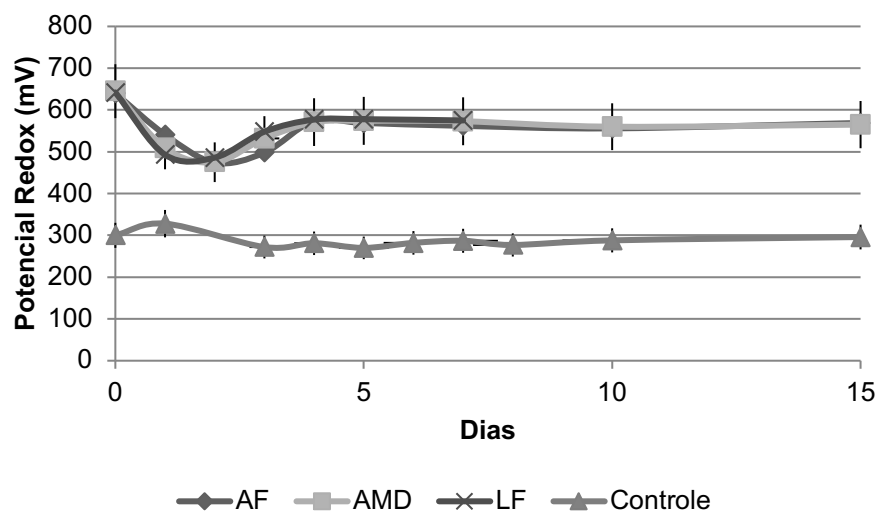


Figura 52 - Monitoramento do Eh (mV) na biolixiviação de PCI de impressoras descartadas com as bactérias em estudo.

A bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, no segundo dia, apresentou o potencial de oxirredução de 474 mV. Após o quarto dia, o valor do potencial de oxirredução aumentou para 569 mV e manteve-se nesse patamar durante todo o processo de biolixiviação.

Com a bactéria *Leptospirillum ferrooxidans*, o potencial de oxirredução, no segundo dia, apresentou o valor de 480 mV. No quarto dia do processo de biolixiviação ocorreu a elevação no potencial de oxirredução para o valor de 560 mV e manteve-se constante durante o ensaio de biolixiviação.

Para a DAM, o potencial de oxirredução, no segundo dia, apresentou o valor de 475 mV. No quarto dia, o valor do potencial de oxirredução foi de 565 mV e manteve-se constante durante toda a biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas.

O potencial de oxirredução elevado (640 mV), no início do processo de biolixiviação, ocorreu devido ao processo de desenvolvimento (potencial de oxirredução acima de 600 mV). De acordo com Brandl et al. (2001), o resíduo eletroeletrônico apresenta caráter alcalino contribuindo para a elevação do pH e, com isso, facilita a precipitação de ferro na forma de hidróxido férrico (Kaksonen et al., 2011). A Figura 53 mostra o diagrama de temperatura e pH de estabilidade dos compostos com íons férricos.

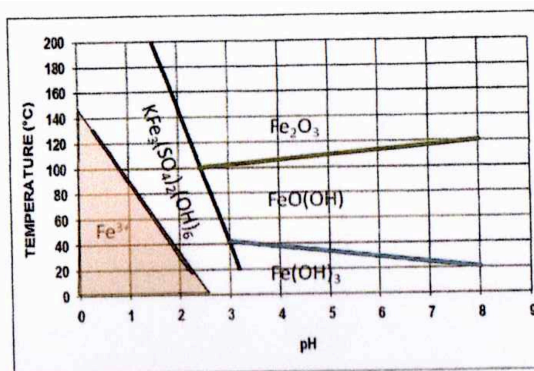


Figura 53 – Diagrama de temperatura e pH de compostos de íons férricos. Formação e estabilidade das espécies como jarosita e hidróxidos de ferro (goetita e hematita). A área em destaque, mostra onde é possível encontrar o íon férrico. Adaptado de van Weert e van Lier (1994).

A perda de íons férricos na forma de precipitados de hidróxido férrico, resultou em queda na concentração do agente oxidante e por consequência, em menor capacidade de oxidação e solubilização dos metais presentes na sucata eletrônica. Como o valor do Eh está diretamente relacionado à concentração dos íons férricos, uma menor concentração de íons férricos corresponde a uma queda nos valores do potencial de oxirredução.

A Figura 54 mostra os resultados de extração de cobre nas PCI de impressoras descartadas com os microrganismos em estudo e o controle abiótico. A extração de cobre com a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, mostra o valor de 90 % entre o terceiro e o quarto dia do processo de biolixiviação e que a partir do quarto dia, a lixiviação bacteriana permaneceu constante.

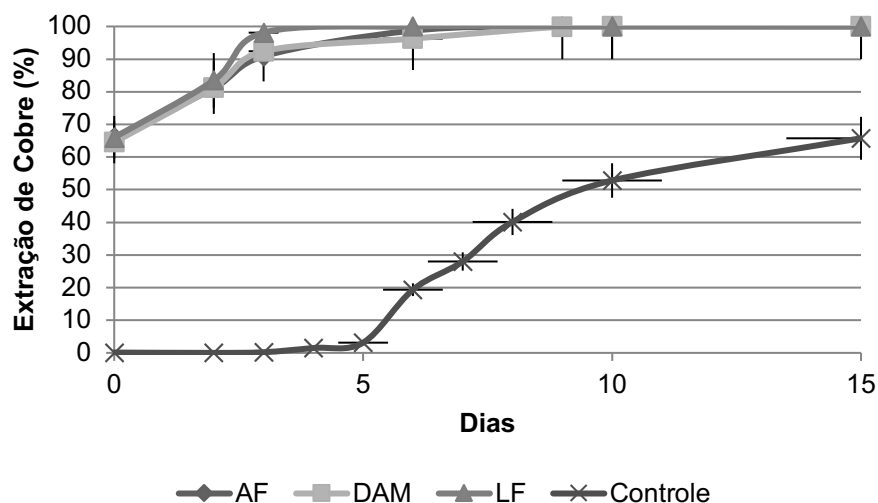


Figura 54 - Extração de cobre na biolixiviação das PCI de impressoras obsoletas com as bactérias em estudo.

Com a bactéria *Leptospirillum ferrooxidans*, a Figura 54 mostra que entre o terceiro e o quarto dia foi extraído 95 % de cobre e que no quinto dia, a biolixiviação aumentou e permaneceu constante. Com relação a DAM, a Figura 54 mostra que foi possível atingir 93 % de extração de cobre entre o terceiro e o quarto dia e que a partir do quarto dia, o processo de biolixiviação permaneceu estável.

No controle abiótico, no qual foi utilizado 5 mL de uma solução aquosa de 5 % do bactericida Tymol para que não houvesse microrganismos nos testes de biolixiviação, a extração de cobre foi de 66 % no final do ensaio de lixiviação. Os resultados encontrados do ensaio de lixiviação bacteriana nas PCI de impressoras descartadas (Figura 54) com os resultados da curva de crescimento bacteriano (Figura 24), mostram que no terceiro e quarto dia, as bactérias estavam na fase estacionária de crescimento.

Nesta fase, não se observou aumento ou diminuição no número de células e apesar da população de células não aumentar, muitas funções celulares podem continuar, como o metabolismo energético e os processos biossintéticos. A fase estacionária pode proporcionar que as células continuem vivas e metabolizando, mas o crescimento exponencial pode parar (Madigan et al., 2010).

A partir do quarto dia, o processo de biolixiviação permaneceu estável e constante para as bactérias da DAM e a *Acidithiobacillus ferrooxidans* e podem estar associadas ao não aumento na população de células (fase estacionária) com a constância das funções celulares. A bactéria *Leptospirillum ferrooxidans* mostrou um aumento na extração de cobre a partir do quinto dia e pode estar associada a uma maior tolerância em soluções ácidas e com crescimento em pH 1,2 (Rawlings, 1999). Outro fator interessante é o menor tempo (5 dias) para a estabilidade do pH no processo de biolixiviação em comparação com as outras bactérias (8 dias).

O processo de biolixiviação do cobre nas PCI de impressoras descartadas foi um dia mais rápido quando comparada com as PCI de computadores obsoletos. O processo de adaptação dos microrganismos aos substratos pode ser o motivo que incrementou a velocidade da atividade bacteriana e com isto aumentou a velocidade de oxidação (Ehrlich et al., 2004). O cultivo sucessivo com doses crescentes do substrato com concentrações maiores de metais que no caso foram as PCI de impressoras descartadas contribuiu com um aumento da tolerância às concentrações maiores de metais, resultando em aumento na velocidade de oxidação.

O processo de adaptação dos microrganismos com as PCI de impressoras descartadas levou um tempo maior de adaptação e foi mais lento quando comparado com as PCI de computadores obsoletos. Apesar da lentidão e do maior tempo para adaptação, as PCI de impressoras descartadas, aumentaram a tolerância às concentrações crescentes dos metais e com isto contribuíram para o processo de biolixiviação com um tempo um pouco menor na extração do cobre.

Os resultados do processo de biolixiviação das PCI de computadores obsoletos, mostraram que em quatro dias, o melhor resultado de extração foi da DAM com 96 % e que na lixiviação bacteriana das PCI de impressoras descartadas, mostraram que os resultados eficientes, em 4 dias de extração, foram da bactéria *Leptospirillum ferrooxidans* com 95 % de extração e da DAM com 93 % de extração. A Tabela 25 mostra os resultados da extração de cobre em 4 dias das PCI de computadores obsoletos e das PCI de impressoras descartadas (% massa).

Tabela 25 – Resultados da extração do cobre na lixiviação bacteriana das PCI de computadores e impressoras obsoletas (% massa).

Bactérias	PCI de Computadores Obsoletos (% massa)	PCI de Impressoras Descartadas (% massa)
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	90	90
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	85	95
DAM	96	93

A lixiviação bacteriana das PCI de computadores obsoletos com a DAM, mostrou o melhor resultado de extração de cobre e pode estar associada ao seu tempo de adaptação que foi maior (105 dias) em comparação com as demais bactérias. O maior tempo de adaptação pode contribuir com a tolerância da DAM nas concentrações crescentes dos metais.

Os resultados da biolixiviação das PCI de impressoras descartadas com as bactérias *Leptospirillum ferrooxidans* e da DAM, podem estar relacionadas com o tempo de adaptação que foi de 115 dias para a *Leptospirillum ferrooxidans* e 130 dias para a DAM. Os períodos de adaptação podem ter contribuído com a tolerância dessas bactérias com o aumento nos teores dos metais.

Os resultados do tempo de adaptação e a densidade de polpa das PCI de computadores obsoletos que em média foi de 97 dias para 35 g/L de PCI foi melhor

se comparado com os resultados das PCI de impressoras descartadas que foi de 117 dias para 30 g/L de PCI. As concentrações crescentes dos metais dissolvidos podem interferir nos resultados de adaptação e na capacidade de tolerância das bactérias.

A característica fisiológica das espécies de bactérias acidófilas como a *Acidithiobacillus ferrooxidans*, apresenta resistência a alguns metais com concentrações de até 0,37 M para o Al, de até 0,15 M para o Zn, de até 0,17 M para o Co, e até 0,18 M para o Mn, de até 0,16 M para o Cu e de até 0,1 M para o Cr. Outros metais são tóxicos mesmo em baixas concentrações como a Ag com a concentração de 10^{-5} M, o Hg com 10^{-4} , o Mo com 10^{-3} e ânions de Se, Te e As com concentrações de até 10^{-3} M (Hutchins et al., 1986). O composto inorgânico de crescimento da bactéria como o íon ferroso (Fe^{2+}) e o produto da oxidação bacteriana como o íon férrico (Fe^{3+}), dependendo da concentração, podem ser inibidores da *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Jones et al., 1983).

Os metais como o alumínio, o ferro, o níquel, e o zinco são considerados metais contaminantes com relação a recuperação de cobre. Os metais contaminantes podem se dissolver com maior facilidade em soluções ácidas do que o cobre. No processo de biolixiviação, utiliza-se soluções ácidas e a tendência em se dissolver estes metais contaminantes é maior quando comparado com a dissolução do cobre (Moraes, 2012).

O processo de eletroobtenção pode ser uma alternativa na recuperação do cobre dissolvido contido no licor da biolixiviação, porém, metais como o ferro, o níquel e o zinco podem atrapalhar na eletrodeposição com a contaminação dos eletrodos recuperados de cobre (Moraes, 2012).

5.3.3. Análises químicas

As placas virgens de circuito impresso do estudo, são utilizadas em aplicações elétricas e eletrônicas em função da sua resistência química, compatibilidade com vários materiais e ser isolante térmico. A dissipação do calor em componentes eletrônicos pode ser alcançada com a adição de retardantes de chama e a adição de cargas para mudanças na condutividade térmica e elétrica dos materiais. A integração de grupo carboxila nos compósitos de epóxi pode reagir com moléculas de silano para elevar propriedades como a condutividade elétrica no polímero (Eitan et al., 2003; Prashantha et al., 2010; Andrada et al., 2011).

As PCI virgens foram cominuídas e para os ensaios foram utilizadas amostras com o tamanho de partícula de 1,00 mm. Silva et al., 2015 mostraram que as partículas de PCI em tamanho de 500-1000 μm foram ideais nos experimentos de contato e adesão da bactéria na superfície do substrato.

A Figura 55 mostra os picos de FTIR identificados na PCI virgem e os espectros de infravermelho foram registrados usando o método de Reflexão Total Atenuada – Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR-FTIR). A amostra foi colocada diretamente no cristal de ZnSe (seleneto de zinco) do equipamento FTIR Thermo Nicolet iS5 na gama de espectros de 400-4000 cm^{-1} a 16 digitalizações e resoluções de 2 cm^{-1} .

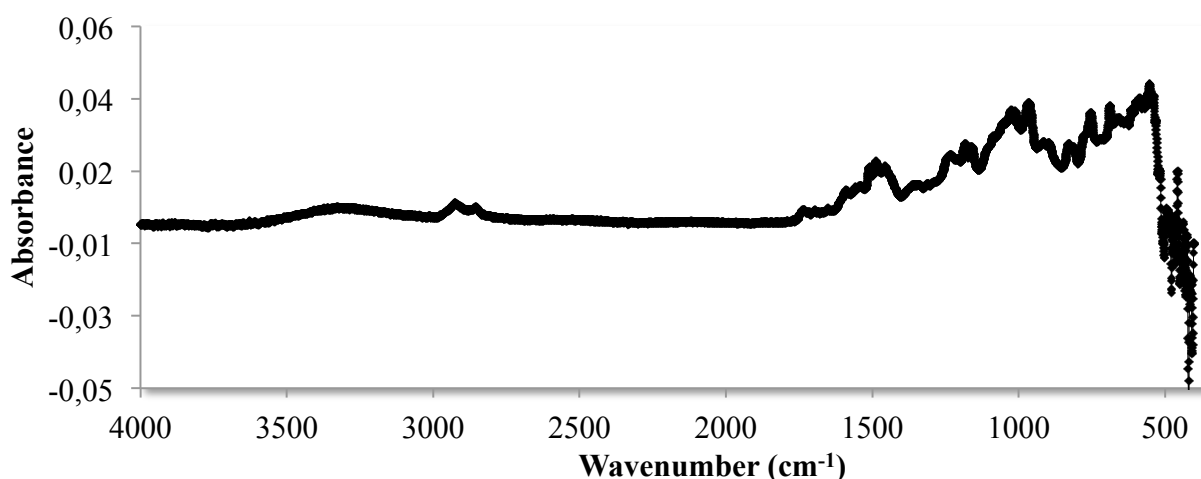


Figure 55 – Espectro da análise de FTIR da amostra estudada.

A Figura 55 e a Tabela 26 mostram a identificação das bandas através dos espectros do FTIR das PCI virgens, utilizado na fabricação de placas para os EEE.

Tabela 26 – Identificação das bandas na análise de FTIR das PCI virgens.

Comprimento (cm^{-1})	Grupos
780	C-H
1035	C-O Aromatico
1400, 1500, 1620	C=C Aromatico
2840-2980	C-H metil
1190-1130	2 nd Amina

Os grupos da banda de cerca de 780 cm^{-1} podem representar o grupo C-H e sugerem que o compósito seja de epóxi e pode ser representado pelos picos de

1250 cm^{-1} e entre 890-800 cm^{-1} . A região de 1035 cm^{-1} corresponde aos grupos aromáticos formados por C-O. Os picos na região ao redor de 1400, 1500, 1620 cm^{-1} podem ser identificados pelo grupo C=C. O espectro sugere ainda a presença do grupo metil C-H com as bandas entre 2840-2980 cm^{-1} . A amina secundária aparece próximo da banda entre 1190-1130 cm^{-1} (Borges, 2004; Tjong et al., 2010).

As PCI virgens foram submetidas aos ensaios de potencial zeta. Na análise de potencial zeta, o ponto isoelétrico (PIE) para a bactéria *A. ferrooxidans* foi encontrado em pH de cerca de 2. A Figura 56 mostra os resultados do potencial zeta com a bactéria *A. ferrooxidans*.

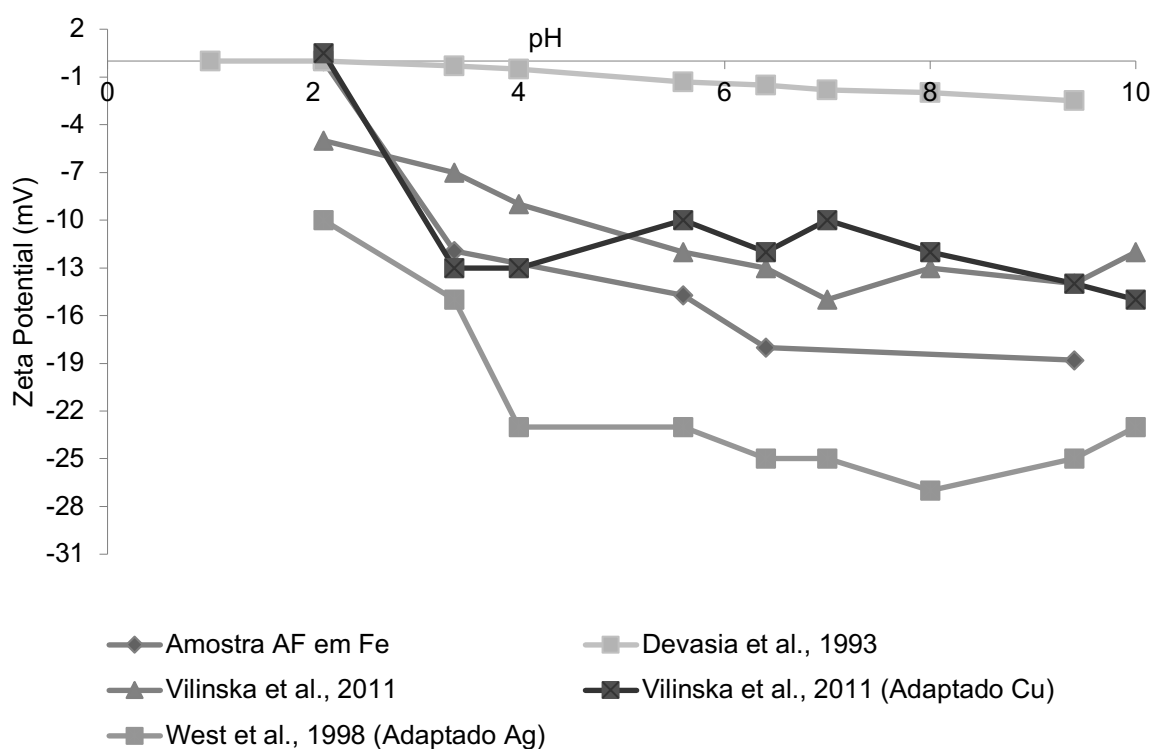


Figura 56 – Comparação dos resultados de estudos com a *A. ferrooxidans* nos ensaios com o potencial zeta.

A Figura 56 mostra o resultado obtido do PIE e consolida com outros trabalhos como os de Vilinska et al., 2011; West et al., 1998 e Devasia et al., 1993. Van der Wal et al., 1997 mostraram que a parede celular dos microrganismos possui cargas elétricas determinadas pela protonação ou dissociação de grupos ácidos ou básicos presentes em grupos amina, fosfatos e polissacarídeos.

Botero et al., 2008 concluíram que os valores de PIE entre pH 2 e 2,8 mostraram a presença de polissacarídeos ligados a grupos carboxílicos e ácidos glicurônicos. Shaw (1975) investigou o surgimento da carga superficial e isto pode acontecer em função da adsorção desigual de íons com carga de sinal contrário. A adsorção desses íons com carga de sinal oposto na superfície pode inverter a carga elétrica da mesma.

6. Conclusões

A partir dos resultados alcançados permite-se as seguintes conclusões:

1. As placas de circuito impresso de computadores obsoletos estudadas, são compostas pelos principais metais sendo 24,92 % Cu; 3,71 % Pb; 2,35 % Zn; 2,22 % Al; 1,70 % Fe; 0,66 % Ni e 0,11 % Ag.
2. As placas de circuito impresso de impressoras descartadas, são compostas pelos principais metais sendo 34,64 % Cu; 5,57 % Al; 0,96 % Fe; 0,63 % Zn; 0,33 % Ni; 0,05 % Ag e 0,02 % Pb;
3. A identificação da espécie presente na amostra da DAM foi confirmada pelo sequenciamento 16s rDNA, que mostrou a *Acidithiobacillus ferrooxidans*;
4. A curva de crescimento das populações bacterianas estudadas, mostrou que a fase estacionária iniciou no quarto dia e que a incubação permaneceu até o final do quinto para a concentração celular;
5. O processamento biohidrometalúrgico visando a recuperação de cobre deve seguir as etapas de controle de pH, Eh e adaptação bacteriana, que conferiu uma densidade de polpa de 35 g/L com as placas de computadores obsoletos e de 30 g/L com as placas de impressoras descartadas;
6. A lixiviação bacteriana das placas de computadores obsoletos, foi conduzida em pH 2 a 30 °C durante 4 dias, na qual as bactérias da DAM promoveram a maior extração de cobre que foi de 96 % em comparação com as outras bactérias;
7. A biolixiviação das placas de impressoras descartadas, foi realizada nas mesmas condições das placas de computadores obsoletos e os melhores resultados de recuperação, foram obtidos com a *Leptospirillum ferrooxidans*, com uma extração de 95 % e com as bactérias da DAM, com uma recuperação de 93 % de cobre.

REFERÊNCIAS

- ACKIL, A.; ERUST, C.; GAHAN, C. S.; OZGUN, M.; SAHIN, M.; TUNCUK, A. Precious metal recovery from waste printed circuit boards using cyanide and non-cyanide lixiviants – A review. **Waste Management**, 45, 258, 2015.
- AIZAWA, H.; YOSHIDA, H.; SAKAI, S. I. Current results and future perspectives for Japanese recycling of home electrical appliances. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 52, p. 1399–1410, 2008.
- AKCIL, H.; CIFTCI, I.; DEVECI, H. Role and Contribution of pure and mixed cultures of mesophiles in bioleaching of a pyritic chalcopyrite concentrate. **Minerals Engineering**, v. 20, p. 310-318, 2007.
- AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiol Review**, 59(1): 143-169, 1995.
- ANDRADA, A. S.; PINTO, L. S. P.; LAMOGLIA, M. S.; CARVALHO, T. P. Caracterização térmica e química da resina epoxy e do composto baseado em resina epoxy/particula de sílica. **Relatório de Materiais Compósitos** – EMT009. UNIFEI Itabira – Universidade Federal de Itajubá, 2011.
- ANDRADE, N. J. Higiene na indústria de alimentos, **Varela**: São Paulo, 2007.
- ANDRADE, A. R. **Aplicação da citometria de fluxo para otimização do método de determinação da potência da alfaopetina humana recombinante em Bio-Manguinhos / Fiocruz**. Dissertação Inst. Tecn. Immunob., p. 42-62, 2011.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO SETOR METALÚRGICO E DO SETOR DE TRANSFORMAÇÃO DE NÃO METÁLICOS – **Ministério de Minas e Energia**. Disponível: www.mme.gov.br. 2016.
- APISITPUVAKUL, W. LCA of spent fluorescent lamps in Thailand at various rates of recycling. **Journal of Cleaner Production**, v. 16, n. 10, p. 1046–1061, 2008.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CIRCUITOS IMPRESSOS - ABRACI. **Orientações para fornecimento de componentes para montagem de placas de circuitos impressos**. Disponível em: <http://www.abraci.org.br/arquivos/MANUAL_MONTAGEM.PDF>. Acesso em: 29 nov. 2010.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. NBR 10004: **Classificação de resíduos sólidos**, 2004.
- ATTIA, Y. A.; LITCHFLELD, J.; VAALER, L. Applications of Biotechnology in the Recover of Gold. In: **Microbiol. Effect. Metallurg. Proc. Clum**, J. A., Haas, L. A. (Eds), TMS – AIME, New York, p. 111-120, 1985.
- AULD, R.R.; MYRE, M.; MYKYTCZUK, N.C.S.; LEDUC, L.G.; MERRITT, T. J. S. Characterization of the microbial acid mine drainage microbial community using culturing and direct sequencing techniques. **Journal of Microbiological Methods**, 93: 108–115, 2013.
- AURUBIS - **Copper and Copper Recycling**. <https://www.aurubis.com>., 2017.
- AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R.; **Biofouling**, 16, 59, 2000.
- BACAL, N. S; FAULHABER, M. H. W. **Aplicação prática em citometria de fluxo**. Rio de Janeiro: Atheneu; 2003.
- BALASHOVA, V. V.; VEDENINA, I. Y.; MARROSYAN, E. E.; ZAVARZIN, G. A. The autotrophic growth of *Leptospirillum ferrooxidans*. **Microbiology**, 43, p. 491-494, 1979.
- BALDÉ, C. P.; FORTI, V.; GRAY, V.; KUEHR, R.; STEGMANN, P. **The Global E-waste Monitor – 2017**, United Nations University (UNU), International Telecommunication Union (ITU) & International Solid Waste Association (ISWA), Bonn, Geneva, Vienna, 2017.

BALTAZAR, M. P. G. **Estudo do Potencial de bioissorção de cobre por *Rhodococcus erythropolis* e *Enterobacter cloacae* isoladas de uma área de mineração.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2017.

BARRETO, M.; JEDLICKI, E.; HOLMES, D. S. Identification of a gene cluster for the formation of extracellular polysaccharide precursors in the chemolithoautotroph *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Applied and Environment Microbiology**, v. p. 71, 2902- 2909, 2005.

BARROS, A. J. M. **Estudo da formação de complexos pelo processo de bioissorção,** Tese de Doutorado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, Brasil, 2006.

BAS, A. D.; DEVECI, H.; YAZICI, E. Y. Bioleaching of copper from low grade scrap TV circuit boards using mesophilic bacteria. **Hydrometallurgy**, v. 138, p. 65–70, 2013.

BAS, A. D.; DEVECI, H.; YAZICI, E. Y. Treatment of manufacturing scrap TV boards by nitric acid leaching. **Separation and Purification Technology**, v. 130, n. 2, p. 151–159, 2014.

BASEL CONVENTION. **The control of transboundary movements of hazardous wastes and their disposal.** Disponível em: <<http://www.basel.int/text/documents.html>>. Acesso em: 26. abr. 2019.

BASSO, L. C.; BASSO, T. O.; AMORIM, H. V.; ANGELONI, L. H. P.; LUCATTI, L. Toxidez diferenciada do alumínio para leveduras industriais. **Relatório de Anual de Pesquisas em Fermentação Alcoólica, Piracicaba**, n.6, p. 48-58, 2007.

BASSO, L. C.; BOER, S. H.; GUTIERREZ, L. E. Efeitos tóxicos do alumínio na fermentação alcoólica. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FISILOGIA VEGETAL, 2. Piracicaba. **Anais Piracicaba: ESALQ/USP**, p. 243, 1989.

BAYAT, B.; SARI, B. Comparative evaluation of microbial and chemical leaching processes for heavy metal removal from dewatered metal plating sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 174, n. 1-3, p. 763–9, 2010.

BEECH, I. B. **Int. Biodet. Biodeg.**, 53, 177, 2004.

BERTUOL, D. A.; VEIT, H.; BERNARDES, A. M.; ESPINOSA, D. C. R.; TENÓRIO, J. A. S. Resíduos Urbanos Tecnológicos – Desafios e Tendências. **Revista Metalurgia e Metais**, v. 61, 554, p. 167-170, 2005.

BEVERIDGE, T. J. **Bacteriol.**, 181, 4725, 1999.

BIOTIUM Brochure. **Cell Viability and Cell Death.** <https://biotium.com/wp-content/uploads/2013/07/Cell-Viability-and -Cell-Death.pdf>.

BIOTIUM PI-30002. <https://biotium.com/wp-content/uploads/2019/03/PI-30002.pdf>.

BLAKE II, R. C.; SASAKI, K.; OHMURA, N. Does aporusticyanin mediate the adhesion of Thiobacillus ferrooxidans to pyrite? **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 357-372, 2001.

BLOKZIJL, W.; ENGBERTS, J. B. F. N. **Angew. Chem., Int. Ed.**, 32,1545, 1993.

BOLIDEN **Metals for Modern Life**, 2017. <http://www.boliden.com/>, 2017.

BORGES, S. G. **Síntese e Caracterização de Resinas Fenólicas Líquidas do Tipo Novolaca Aplicáveis no Processo de Pultrusão.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, RS. 2004.

BOTERO, A. E. C.; TOREM, L. M.; MESQUITA, L. M. S. Surface chemistry Fundamentals of biosorption of *Rhodococcus opacus* and its effect in calcite and magnesite flotation. **Minerals Engineering**, v. 21, p. 83-92, 2008.

BRANDL, H. Microbial Leaching of Metals. In: REHM, J. & REED, G. (Eds) **Biotechnology**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, p. 191–224, 2008.

BRANDL, H.; BOSSHARD, R.; WEGMANN, M. Computer-munching microbes: metal leaching from electronic scrap by bacteria and fungi. **Hydrometallurgy**, v. 59, n. 2-3, p. 319–326, 2001.

BRASIL. **Decreto Federal no 4.581**, de 27 de janeiro de 2003.

BRASIL. **Decreto Federal no 7.404**, de 23 de dezembro de 2010.

BRASIL. **Decreto Federal no 875**, de 19 de julho 1993.

BRASIL. **Instrução Normativa IBAMA no 03**, de 3 de março de 2010.

BRASIL. Lei no 11.445: **Política Nacional de Saneamento Básico - PNSB**, de 5 de janeiro de 2007.

BRASIL. Lei no 12.305: **Política Nacional de Resíduos Sólidos - PNRS**, de 2 de agosto de 2010.

BRASIL. **Resolução CONAMA no 23**, de 12 de dezembro de 1996.

BROSIUS, J.; PALMER, M., L.; KENNEDY, P., J.; NOLLER, H., F. "Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA from *Escherichia coli*". **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 75, p. 4801-4805, 1978.

BUENO, B. Y. M. **Remoção de Pb, Cr e Cu por processo combinado biossorção/bioflotação utilizando a cepa Rhodococcus opacus**. 172 f. Tese (Doutorado) - Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

BUSHNELL, T. **Modern Flow Cytometry**. Excyte Expert Cytometry. E-Book BKSURU.com. 7-49, 2015.

BUSSCHER, H. J.; WEERKAMP, A. H. Specific and non-specific interactions in bacterial adhesion to solid substrata. **FEMS Microbiology Letters**, v. 46, p. 165-173, 1987.

BUZATU, T.; POPESCU, G.; BIROLAGA, I.; SACEANU, S. Study concerning the recovery of zinc and manganese from spent batteries by hydrometallurgical processes. **Waste Management**, 33, 699, 2013.

CAMESANO, T.; ABU-LAIL, N. **Environ. Sci. Technol.**, 37, 2173, 2003.

CANAL MARQUES, A.; CABRERA, J. M.; MALFATTI, C. D. F. Printed circuit boards: a review on the perspective of sustainability. **Journal of environmental management**, v. 131, p. 298–306, 2013.

CETEM. Tratamento de Minérios. 5.a. ed. Rio de Janeiro: **Centro de Tecnologia Mineral - CETEM / Ministério da Ciência e Tecnologia - MCT**. p. 965, 2010.

CHAKRAVORTY, S.; HELB, D.; BURDAY, M.; CONNELL, N.; ALLAND, D. **J. Microb. Methods**. 69, 2, p. 330-339, 2007.

CHAVES, A. P.; PERES, A. E. C. **Teoria e prática do tratamento de minérios**. v. 3 eds. São Paulo: Signus, 1999.

CHEN, G.; WALKER, S. L. Role of solution chemistry and ion valence on the adhesion kinetics of groundwater and marine bacteria. **Langmuir**, v. 23, p. 7162-7169, 2007.

CHEN, Y.; LI, J.; CHEN, L.; CHEN, S.; DIAO, W. Brominated Flame Retardants (BFRs) in Waste Electrical and Electronic Equipment (WEEE) Plastics and Printed Circuit Boards (PCBs). **Procedia Environmental Sciences**, 16, 552, 2012

CHOI, B. C. Life Cycle Assessment of a Personal Computer and its Effective Recycling Rate. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, v. 11, n. 2, p. 122–128, 2006.

CNI/IBRAM. **Mineração e Economia Verde**. In: *Encontro da Indústria para a sustentabilidade*. Brasília: CNI; 2012.

COBLEY, J. G.; COX, J. C. Energy conservation in acidophilic bacteria. **Microbiological Reviews**, 47(4), p. 579-595, 1983.

COLMER, A.R.; M.E. HINKLE. The role of microorganisms in acid mine drainage: a preliminary report. **Science**, 106: 253-256, 1947.

COOMBS JR, C. F. Legislation and impact on printed circuits. In: COOMBS JR., C. F. (Ed.). **Printed Circuits Handbook**. 6. ed. Nova York: Mc Graw-Hill, p. 1615, 2008.

COX, D. P. Copper. In: BROBST, D. A.; PRATT, W. P. (Eds.). **United States Mineral Resources**. 3.a. ed. Washington, D.C.: Superintendent of Documents, U.S. Government Printing Office. p. 166–180, 1973.

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

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.

CUI, J.; ZHANG, L. Metallurgical recovery of metals from electronic waste: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 158, n. 2-3, p. 228–56, 2008.

DABROWSKI, A. Adsorption from theory to practice. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 93, pp. 135-224, 2001.

DAOUD, J.; KARAMANEV, D. Formation of jarosite during Fe²⁺ oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Minerals Engineering**, 19, 960-967, 2005.

DE WIT, C. A. An overview of brominated flame retardants in the environment. **Chemosphere**, v. 46, n. 5, p. 583–624, 2002.

DEVASIA, P.; NATARAJAN, K. A.; SATHYANARAYANA, D. N.; RAMANANDA, R. G. Surface chemistry of *Thiobacillus ferrooxidans* relevant to adhesion on mineral surfaces. **Applied and Environment Microbiology**, v. 59, p. 4051-4055, 1993.

DEVECI, H. Effect of particle size and shape of solids on the viability of acidophilic bacteria during mixing in stirred tank reactors. **Hydrometallurgy**, v. 71, p. 385-396, 2004.

DEVECI, H. Extraction of copper from scrap TV boards by sulfuric acid leaching under oxidizing conditions. In: **Proceedings of going Green-Care Innovation 2010 Conference**. Vienna, Austria, 2010.

DOBSON, R. S.; BURGESS, J. E. Biological treatment of precious metal refinery wastewater: A review. **Minerals Engineering**, v. 20, n. 6, p. 519–532, 2007.

DODSON, J. R.; HUNT, A. J.; PARKER, H. L.; YANG, Y.; CLARK, J. H. Elemental sustainability: Towards the total recovery of scarce metals. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 51, p. 69–78, 2012.

DONATI, E. R.; SAND, W. Microbial processing of metal sulfides. **La Plata**: Springer, cap. 1, p. 3-33, 2007.

DONLAN, R. M. **Emerging Inf. Dis.**, 7, 277, 2001.

DOWA **Eco-System**. <http://www.dowa-eco.co.jp/en/recycle.html>, 2017.

DUNLAP, P. V.; MARTINKO, J. M.; CLARK, D. P.; MADIGAN, M. T. Bactérias oxidantes de enxofre e ferro. **Microbiologia de Brock**. 12 ed. São Paulo: Artmed, p. 1160, 2010.

EDWARDS, K. J.; SCHRENK, M. O.; HAMERS, R. J.; BANFIELD, J. F. Microbial oxidation of pyrite: experiments using microorganisms from an extreme acidic environment. **American Mineralogy**, v. 83, p. 1444-1453, 1998.

EHRlich, H. L. Beginnings of rational bioleaching and highlights in the development of biohydrometallurgy: A brief history. **The European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection**, v. 4, n. 2, p. 102-112, 2004.

EHRlich, H. L. Past, present and future of biohydrometallurgy. **Hydrometallurgy**, v. 59, n. 2-3, p. 127-134, 2001.

EHRlich, H. L.; NEWMAN, D. K. **Geomicrobiology**, 5 Edição, 2008.

EITAN, A.; JIANG, K.; DUKES, D.; ANDREWS, R.; SCHADLER, L. S. 'Surface modification of multiwalled carbon nanotubes toward the tailoring of the interface in polymer composites', **Chem Mater**, 15, 3198-3201, 2003.

ERNST, T.; POPP, R.; WOLF, M.; van ELDIK, R. Analysis of eco-relevant elements and noble metals in printed wiring boards using AAS, ICP-AES and FRXRF. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 375, n. 6, p. 805-814, 2003.

ESCOBAR, B.; HUERTA, G.; RUBIO, J. Short communication: influence of LPS on the attachment of *Thiobacillus ferrooxidans* to minerals. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 13, p. 593-594, 1997.

ESPINOSA, D. C. R. **Reciclagem de baterias de níquel-cádmio**. Tese (Doutorado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, p.1-30, 2002.

ESPINOSA, D. C. R.; SILVAS, F. P. C. Resíduos sólidos: abordagem e tratamento. In: PHILIPPI JR., A.; ROMÉRO, M. de A. & BRUNA, G. C. (Eds.). **Curso de Gestão Ambiental**. 2. ed. São Paulo: Manole, p. 195-256, 2014.

EUA REGULATIONS. **Federal Register 10 FR 45508**, de 5 de agosto de 2005.

EUA REGULATIONS. **Federal Register 60 FR 25492**, de 11 de maio de 1995.

EUA REGULATIONS. **Federal Register 64 FR 36466**, de 6 de julho de 1999.

EUA REGULATIONS. **Federal Register 70 FR 45508**, de 5 de agosto de 2005.

EUROPEAN PARLIAMENT Directive 2002/96/EC of the European Parliament and of the Council on waste electrical and electronic equipment (WEEE). **Official Journal of the European Union**, v. 13, p. 1-24, 2003.

FADRIQUE, J. C.; **Langmuir**, 18, 3604, 2002.

FERELLA, F.; MICHELIS, I.; VEGLIO, F. Process for the recycling of alkaline and zinc-carbon spent batteries. **Journal of Power Sources**, 183, 805, 2008.

FERREIRA, B. C. S; LIMA, R. M. F.; LEÃO, V. A. Remoção de sulfato de efluentes industriais por precipitação. **Eng Sanitária e Ambient**. 16:361-368, 2011.

FLANDINET, L.; TEDJAR, F.; GHETTA, V.; FOULETIER, J. Metals recovering from waste printed circuit boards (WPCBs) using molten salts. **Journal of Hazardous Materials**, v. 213-214, p. 485-90, 2012.

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J.; GRIEBE, T.; MAYER, C. **Em Recent Advances in their study and control**; EVANS, L. V. ed. British Library: Amsterdam, 2005.

FOGARASI, S. Copper recovery and gold enrichment from waste printed circuit boards by mediated electrochemical oxidation. **Journal of hazardous materials**, v. 273, p. 215–21, 2014.

FORTI, C.; BALDÉ, C. P.; KUEHR, R. **E-WASTE STATISTICS – Guidelines on Classification, Reporting and Indicators**, United Nations University (UNU), Global E-waste Statistics Partnership, International Solid Waste Association (ISWA), Bonn, Germany, 2018.

FUJIMORI, T.; TAKIGAMI, H.; AGUSA, T.; EGUCHI, A.; BEKKI, K.; YOSHIDA, A.; TERAZONO, A.; BALLESTEROS JR., F. C. Impact of metals in surface matrices from formal and informal electronic-waste recycling around Metro Manila, the Philippines, and intra-Asian comparison. **Journal of Hazardous Materials**, 221-222, 139, 2012.

GARCIA JR, O.; URENHA, L. C. Lixiviação bacteriana de minérios. **Biotecnologia Industrial-Processos Fermentativos Industriais**. 1 ed. São Paulo: Edgard Blücher Editora, v. 3, p. 485-512, 2001.

GARCIA JR., O. **Estudos da bioxiliviação de minérios de urânio por *Thiobacillus ferrooxidans***. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1989.

GHAURI, M. A.; OKIBE, N.; JOHNSON, D. B. Attachment of acidophilic bacteria to solid surfaces: The significance of species and strain variations. **Hydrometallurgy**, v. 85, p. 72-80, 2007.

GHOSH, B.; GHOSH, M. K.; PARHI P.; MUKHERJEE, P. S.; MISHRA, B. K. Waste Printed Circuit Boards recycling: an extensive assessment of current status. **Journal of Cleaner Production**, 94, 5, 2015.

GHOSH, B.; GHOSH, M. K.; PARHI P.; MUKHERJEE, P. S.; MISHRA, B. K. Waste Printed Circuit Boards recycling: an extensive assessment of current status. **Journal of Cleaner Production**, 94, 5, 2015.

GIAVENO, M. A.; URBIETA, M. S.; DONATI, E. Mechanisms of bioleaching: basic understanding and possible industrial implications. **Biohydrometallurgical process: a practical approach**. Rio de Janeiro: CETEM/MCTI. p. 27–38, 2011.

GIESE, E. C.; XAVIER, L. H.; LINS, F. A. F. O futuro da reciclagem de resíduos eletroeletrônicos. **Biominação Urbana**. Brasil Mineral, n. 385, p. 36-39, 2018.

GIVAN, A. L. **Flow Cytometry – First Principles**. Wiley-Liss Publ. P. 59-76, 2001.

GLENCORE **Recycling, 2017**. <http://www.glencorerecycling.com>, 2017.

GOONAN, T. G. **Copper Recycling in the United States in 2004**. Disponível em: <<http://pubs.usgs.gov/circ/circ1196x/>>. Acesso em: 26 abr. 2019.

GOOSEY, M.; KELLNER, R. **A Scoping Study End-of-Life Printed Circuit Boards, 2002**.

GÓRAK, A.; ESTANKIEWICZ, A. Research Agenda for Process Intensification Toward a Sustainable World of 2050. **Creative Energy**, Institute for Sustainable Process, Netherlands. Disponível em: http://www.fvt.bci.tu-dortmund.de/cms/Medienpool/Downloads/Research_Agenda_for_Process_Intensification_Towards_a_Sustainable_World_of_2050.pdf.

GOTFRYD, L.; PIETEK, G. Contaminants of post leaching copper solutions and their behavior during extraction with industrial extractants. **Physicochemical Problems of Mineral Processing**, 49, 133, 2013.

GUILIANI, N.; JEREZ, C. A. Molecular cloning, sequencing and expression of omp-40, the gene coding for the major outer membrane protein from the acidophilic bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. **Appl. Environ. Microbiol.** Washington, v. 66, n. 6, p. 2318-24, 2000.

GUNGOR, A.; GUPTA, S. M. Issues in environmentally conscious manufacturing and product recovery: a survey. **Computers & Industrial Engineering**, v. 36, p. 811–853, 1999.

GUO, C.; WANG, H.; LIANG, W.; FU, J.; YI, X. Liberation characteristic and physical separation of printed circuit board (PCB). **Waste Management**, v. 31, n. 9-10, p. 2161–6, 2011.

GUPTA, C. K. Bacterial Leaching. **Chemical Metallurgy: Principles and Practice**. Wiley – VCH Verlag GMBH&Co. RGA, p. 496-499, 2003.

GUPTA, C. K. **Chemical Metallurgy. Principles and Practice**. 2003.

GURUNG, M.; ADHIKARI, B. B.; HAWAKITA, H.; OHTO, K.; INOUE, K.; ALAM, S. Recovery of gold and silver from spent mobile phones by means of acid thiourea leaching followed by adsorption using biosorbent prepared from persimmon tannin. **Hydrometallurgy**, 133, 84, 2013.

HABASHI, F. **Principles of Extractive Metallurgy**. Vol. 2. New York: Gordon and Brach Science Publishers; 1970.

HABASHI, F. Principles of Extractive Metallurgy. Vol.1. **General Principles**. Gordon and Breach, Science Publishers, Inc, p. 31-57, 59-71, 1969.

HABIB, M.; MILES, N. J.; HALL, P. Recovering metallic fractions from waste electrical and electronic equipment by a novel vibration system. **Waste Management**, 33, 722, 2013.

HAGELÜKEN, C. Recycling of electronic scrap at Umicore Precious Metals. **Acta Metall. Slovaca** 12, 111-120, 2006.

HAIBO YU, H.; VAN GUNSTEREN, W. F.; **Comput. Phys. Commun.**, 172, 69, 2005.

HALL, W. J.; WILLIAMS, P. T. Separation and recovery of materials from scrap printed circuit boards. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 51, n. 3, p. 691-709, 2007a.

HALL, W. J.; WILLIAMS, P. T. Processing waste printed circuit boards for material recovery. **Circuit World**, v. 33, n. 4, p. 43–50, 2007b.

HAMILTON, C. A.; GOOD, A. G.; TAYLOR, G. J. Vacuolar H⁺ - ATPase, but not mitochondrial F₁F₀-ATPase, is required for aluminum resistance in *Saccharomyces cerevisiae*. **FEMS-Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 205, p.231 – 236, 2001.

HAVLIK, T. The effect of mechanical–physical pretreatment on hydrometallurgical extraction of copper and tin in residue from printed circuit boards from used consumer equipment. **Minerals Engineering**, v. 65, p. 163–171, 2014.

HE J.; DUAN, C. Recovery of metallic concentrations from waste printed circuit boards via reverse floatation. **Waste Management**, 60, 618, 2017.

HE, W. WEEE recovery strategies and the WEEE treatment status in China. **Journal of hazardous materials**, v. 136, n. 3, p. 502–12, 2006.

HERMANSSON, M. The DLVO theory in microbial adhesion. **Colloids and Surfaces B**, v. 14, p. 105-119, 1999.

HINES, A. L.; MADDOX, R. N. **Mass Transfer: Fundamentals and Applications**, Prentice-Hall PTR, New Jersey, p. 542, 1985.

HOFFMANN, J. E. Recovering precious metals from electronic scrap. **JOM**, v.44, p. 43-48, 1992.

HOLMES, D. S. Biorecovery of Metals from Mining, Industrial and Urban Wastes. **Biotechnology**, p. 442–471, 1989.

HOMEM, E. M. **Remoção de chumbo, níquel e zinco em zeólita utilizando sistema de leito fluidizado**, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas: Faculdade de Engenharia Química, 112 p., 2001.

HONG, Y.; BROWN, D. G.; **Langmuir**, 24, 5003, 2008.

HSC Chemistry. **Outokumpu Research Oy** versão 3.02.

HUA, L.; CHAN, Y. C.; WU, Y. P.; WU, B. Y. The determination of hexavalent chromium (Cr⁶⁺) in electronic and electrical components and products to comply with RoHS regulations. **Journal of Hazardous Materials**, 163, 1360, 2009.

HUGHES, R. B.; SIDNEY, A. K.; STUBBINS, S. E. **Enzymologia** 36, 332–334, 1969.

HUTCHINS, S. R.; DAVIDSON, M. S.; BRIERLEY, J. A.; BRIERLEY, C. L. Microorganisms in reclamation of metals. **Annual Review of Microbiology**, 40, p. 311-336, 1986.

HUTCHINSON, I. P. G.; ELLISON, R. D. E. Mine waste management. In: A Resource for Mining Industry Professionals, **Regulators and Consulting Engineer**, 2a ed., Lewis Publishers, 1992.

ILYAS, S.; ANWAR, M. A.; NIAZI, S. B.; GHOURI, M. A. Bioleaching of Metals from Electronic Scrap by Moderately Thermophilic Acidophilic Bacteria. **Hydrometallurgy**, vol. 88, 1-4, p.180-188, 2007.

INGLEDEW, W. J.; COBLEY, J. G. A potentiometric and kinetic study on the respiratory chain of ferrous-iron-grown *Thiobacillus ferrooxidans*. **Biochimica et Biophysica Acta**, 590, p. 141-158, 1980.

INTERPOL (2009). **Electronic Waste and Organized Crime – Assessing the Links**. Phase II Report for the INTERPOL Pollution Crime Working Group. Available from: <http://www.interpol.int/content/download/5367/45070/version/3/file/Wastereport.pdf>

INTERPOL (2013). **INTERPOL operation targets illegal trade of e-waste in Europe**, Africa. [Online]. 25/02/2013. Available from: <http://www.interpol.int/en/News-and-media/News/2013/N20130225/>

INVITROGEN TUTORIALS. **Introduction to flow cytometry**. Califórnia, Estados Unidos; 2011. http://probes.invitrogen.com/resources/education/tutorials/4Intro_Flow/player.html

JACKSON, E. **Hydrometallurgical extraction and reclamation**. Nova York: Ellis Horwood Limited, p. 29–39, 1986.

JACOBS, A.; LAFOLIE, F.; HERRY, J. M.; DEBROUX, M.; **Colloids Surf. B**, 59, 35, 2007.

JANDA, J.; ABBOT, S. **J. Clin. Microb.**, p. 2761-2764, 2007.

JAWITZ, M. W. **Printed circuit board materials handbook**. Nova York: Mc Graw-Hill, p.784, 1997.

JEREZ, C. A. The use of genomics, proteomics and others OMICS technologies for the global understanding of biomining microorganisms. **Hydrometallurgy**, v. 94, p. 162-169, 2008.

JI, G.L.; LI, H.Y. **Electrostatic adsorption of cations**. In: YU, T.R. (Ed.) Chemistry of variable charge soils. New York: Oxford University Press, 1997. p.64-111, 1997.

JIE, G.; YING-SHUN, L.; MAI-XI, L. Product characterization of waste printed circuit board by pyrolysis. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 83, n. 2, p. 185– 189, 2008.

JODA, N. N.; RASHCHI, F. Recovery of ultrafine grained silver and copper from PC board scraps. **Separation and Purification Technology**, 92, 36, 2012.

JOHNSON, D. B. Importance of microbial ecology in the development of new mineral technologies. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 147-157, 2001.

JOHNSON, D. B.; K. B. HALLBERG. The microbiology of acid mine waters. **Research in Microbiology**, 153: 466-473, 2003.

JONES, C. A.; KELLY, D. P. Growth of *Thiobacillus ferrooxidans* on ferrous iron in chemostat culture: influence of product and substrate inhibition. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 33 (8), p. 241-261, 1983

JUCKER, B. A.; HARMS, H.; ZEHNDER, J. B. Polymer interactions between five gram- negative bacteria and glass investigated using LPS micelles and vesicles as model systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 11, p. 33-45, 1998.

JURAK, M.; CHIBOWSKI, M.; **Adsorption**, 15, 211, 2009.

KAKSONEN, A. H.; LAVONEN, L.; KUUSENAHO, M. Bioleaching and recovery of metals from final slag waste of the copper smelting industry. In: **Minerals Engineering**. 2011.

KASPER, A. C.; BERSELLI, G. B. T.; FREITAS, B. D.; TENÓRIO, J. A. S.; BERNARDES, A. M.; VEIT, H. M. Printed wiring boards for mobile phones: Characterization and recycling of copper. **Waste Management**, 31, 2536, 2011.

KATSIKOIANNI, M.; MISSIRLIS, Y. F. **Eur. Cells Mater.**, 8, 37, 2004.

KELLEY, E. J. Introduction to base materials. In: COOMBS JR., C. F. (Ed.). **Printed Circuit Handbook**. 6a. ed. New York: McGraw-Hill, 2008. p. 6.1–6.24, 2008.

KHETRIWAL, D. S.; KRAEUCHI, P.; WIDMER, R. Producer responsibility for e-waste management: Key issues for consideration – Learning from the Swiss experience. **Journal of Environmental Management**. v. 9, p. 153-165. 2009.

KIDDEE, P.; NAIDU, R.; WONG, M. H. Electronic waste management approaches: An overview. **Waste Management**, 2013.

KIEKENS, L. **Behaviour of metals in soils**. In: Berglund, S.; Davis, R.D, and L'Hermite, P.L. (eds) Commission of the European Communities. Utilization of sewage sludge on lands: rates of application and long-term effects on metals. Proceedings of a seminar held at Uppsala June 7-9, 1983. D. Reidel Publishing Company, 1984.

KINOSHITA, T.; AKITA, S.; KOBAYASHI, N.; NII, S.; KAWAIZUMI, F.; TAKAHASHI, K. Metal recovery from non-mounted printed wiring boards via hydrometallurgic processing. **Hydrometallurgy**, v. 69, p. 73–79, 2003.

KOYAMA, K.; TANAKA, M.; LEE, J. Copper Leaching Behavior from Waste Printed Circuit Board in Ammoniacal Alkaline Solution. **Materials Transactions**, v. 47, n. 7, p. 1788–1792, 2006.

KUMAR A.; HOLUSZKO M.; ESPINOSA D. C. R. E-waste: An overview on generation, collection, legislation and recycling practices. **Resources, Conservation and Recycling**, 122, 32, 2017.

KUZNAR, Z. A.; ELIMELECH, M. Adhesion kinetics of viable *Cryptosporidium parvum* oocysts to quartz surfaces. **Environmental Science and Technology**, v. 38, p. 6839- 6845, 2004.

LACERDA, V. G.; MAGESTE, A. B.; SANTOS, I. J. B.; SILVA, L. H. M.; SILVA, M. C. H. Separation of Cd and Ni from Ni-Cd batteries by an environmentally safe methodology employing aqueous two-phase systems. **Journal of Power Sources**, 193, 908, 2009.

LAMEIRAS, F. S.; SOUZA, A. L. S.; RODRIGUES, V. A. M.; NUMES, E. H. M.; BRAGA, I. D. **Mater. Res.**, 11, 217, 2008.

LANGLEY, S.; BEVERIDGE, T. J.; **Appl. Environ. Microbiol.**, 65, 489, 1999.

LASSEN, C.; LØKKE, S.; ANDERSEN, L. I. **Brominated Flame Retardants - Substance Flow Analysis and Assessment of Alternatives**. 2009. Disponível em: <<http://www.indymedia.org/media/2009/07/926988.pdf>>.

LAVALLE, P.; PICART, C.; MUTTERER, J.; GERGELY, C.; REISS, H.; VOEGEL, J. C.; SENGER, B.; SCHAAF, P.; **J. Phys. Chem. B.**, 108, 635, 2004.

LEAF - LEACHING ENVIRONMENTAL ASSESSMENT FRAMEWORK / VANDERBILT UNIVERSITY. **Leaching Process**. Disponível em: <<http://www.vanderbilt.edu/leaching/leaching-process/>>. Acesso em: 14 set. 2014.

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

LEE, S.; SIGMUND, W. M.; **Colloids Surf. A**, 204, 43, 2002.

LEWIS, G.; GAYDARDZHIEV, S.; BASTIN, D.; BARREL, P. F. Bio hydrometallurgical Recovery of Metals from Fine Shredder Residues. **Minerals Engineering**, vol. 24, 11, p.1166-1171, 2011.

LEWIS, S. L.; Maslin, M. A. Defining the Anthropocene. **Nature**, 519, 171, 2015.

LI, J.; SHRIVASTAVA, P.; GAO, Z.; ZHANG, H. C. Printed circuit board recycling: A state of the art survey. **IEEE Transaction on Electronics Packaging Manufacturing**, v. 27, p. 33-42, 2004.

LIANG, Y.; HILAL, N.; LANGSTON, P.; STAROV, V. **Adv. Colloid Interface Sci.**, 134-135, 151, 2007.

LIGLER, F. S.; KIM, J. S. **The Microflow Cytometer**. Pan Stanford Publishing, 37-51, 2010.

LIU, X.; TANAKA, M.; MATSUI, Y. Generation amount prediction and material flow analysis of electronic waste: a case study in Beijing, China. **Waste Management & Research**, v. 24, p. 434-445, 2006.

LONG, J.; CHEN, P.; **Langmuir**, 17, 2965, 2001.

LU, X.; NAKAJIMA, K.; SAKANAKURA, H.; MATSUBAE, K.; BAI, H.; NAGASAKA, T. Thermodynamic estimation of minor element distribution between immiscible liquids in Fe-Cu-based metal phase generated in melting treatment of municipal solid wastes. **Waste Management**, 32, 1148, 2012.

LUZ, A. B. D.; SAMPAIO, J. A.; ALMEIDA, S. L. M. **Tratamento de Minérios**. 4. ed. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, p. 867, 2004.

MA, L.; NIE, Z.; XI, X.; LI, X. Theoretical simulation and experimental study on nickel, cobalt, manganese separation in complexation-precipitation system. **Separation and Purification Technology**, 108, 124, 2013.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. Crescimento Microbiano. **Microbiologia de Brock**. 12ed, cap.6, São Paulo: Artmed, p. 142-171, 2010

MAGUYON, M. C. C. Recovery of Copper from Spent Solid Printed-Circuit-Board (PCB) Wastes of a PCB Manufacturing Facility by Two-Step Sequential Acid Extraction and Electrochemical Deposition. **Journal of Environmental Science and Management**, v. 15, p. 17-27, 2012.

MARK, F.E.; LEHNER, T. Plastics Recovery from Waste Electrical & Electronic Equipment in Non-Ferrous Metal Processes. **Tech. Pap. Assoc. Plast. Manuf. Eur.** 2000.

MÁRQUEZ, M. G.; GASPAR, J.; BESSLER, K.; MAGELA, G. Process mineralogy of bacterial oxidized gold ore in Sao Bento mine (Brasil). **Hydrometallurgy**, v. 83, p. 114 - 123, 2006.

MARTINHO, G. Composition of plastics from waste electrical and electronic equipment (WEEE) by direct sampling. **Waste management**, v. 32, p. 1213-1217, 2012.

- MASAAKI, M. J. **Biosci. Bioeng**, 101, 1, 2006.
- MECUCCI, A.; SCOTT, K. Leaching and electrochemical recovery of copper, lead and tin from scrap printed circuit boards. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 77, p. 449–457, 2002.
- MELO, P. R. S.; RIOS, E. C. D.; GUTIERREZ, R. M. V. Placas de circuito impresso: mercado atual e perspectivas. **BNDES Setorial**, v. 14, p. 111–136, 2001.
- MENAD, N.; BJÖRKMAN, B.; ALLAIN, E. G. Combustion of plastics contained in electric and electronic scrap. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 24, n. 1, p. 65–85, 1998.
- MENAD, N.; GUIGNOT, S.; VAN HOUWELINGEN, J. A. New characterisation method of electrical and electronic equipment wastes (WEEE). **Waste Management**, 33, 706, 2013.
- MENETTI, R. P. **Recuperação de metais preciosos a partir de sucata eletrônica**. Trabalho de Conclusão de Curso. São Paulo: Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 1996.
- METALPRICES.COM. Disponível em: <www.metalprices.com>. Acesso em: 26 abr. 2019.
- MEYER, E. E.; ROSENBERG, K. J.; ISRAELACHVILI, J.; **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, 103, 15739, 2006.
- MIRANDA, V.F.O.; MARTINS, V. G.; FURLAN, A.; BACCI JR, M. Plant or Fungal Sequences? An Alternative Optimized PCR Protocol to Avoid ITS (nrDNA) Misamplification. **Genetics and Molecular Biology** 53: 141–152, 2010.
- MODAK, J. M.; NATARAJAN, K. A. Development of special strains of *Thiobacillus ferrooxidans* for enhance bioleaching of sulphide minerals. In: **Biohydromet. Process**. Chile, v. 1, p. 33-46, 1995.
- MORAES, V.T. **Recuperação de Metais a Partir do Processamento Mecânico e Hidrometalúrgico de Placas de Circuito Impresso de Celulares Obsoletos**, p. 1-9. Tese (Doutorado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, 2011.
- MORIN, D. BioMinE – **Integrated project for the development of biotechnology for metal-bearing materials in Europe**, v. 83, n. 1-4, p. 69–76, 2006.
- MOZES, N.; AMORY, D.; LÉONARD, A.; ROUXCET, P. Surface Properties of Microbial Cells and their Role in Adhesion and Flocculation. **Colloids and Surfaces**, v. 42, p. 313–329, 1989.
- MURUGAN, R. V.; BHARAT, S.; DESHPANDE, A. P.; VARUGHESE, S.; HARIDOSS, P. Milling and separation of the multi-component printed circuit board materials and the analysis of elutriation based on a single particle model. **Powder Technology**, vol.183, p.169-176, 2008.
- NAKAHARA, H. Types of printed wiring boards. In: COOMBS JR., C. F. (Ed.). **Printed circuits handbook**. 6. ed. Nova York: Mc Graw-Hill, p. 1615, 2008.
- NDLOVU, S.; MONHEMIUS, A. J. The influence of crystal orientation on the bacterial dissolution of pyrite. **Hydrometallurgy**, v. 78, p. 187-197, 2005.
- NEBE-VON-CARON, G.; STEPHENS, P. J.; HEWITT, C. J.; POWELL, J. R.; BADLEY, R. A. Analysis of bacterial function by multi-color fluorescence flow cytometry and single cell sorting. **Journal of Microbiological Methods**, 42, 97-114, 2000.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger – Principles of Biochemistry**. Oxidative Phosphorylation and Photophosphorylation. 5 ed. Freeman, NY, c.19, p. 707-772, 2008.
- NI, H.; Amme, R. C. J. **Colloid Interface Sci.**, 260, 344, 2003.

OGUNNIYI, I. O.; VERMAAK, M. K. G.; GROOT, D. R. Chemical composition and liberation characterization of printed circuit board comminution fines for beneficiation investigations. **Waste Management**, vol. 29, p. 2140–2146, 2009.

OISHI, T. Recovery of high purity copper cathode from printed circuit boards using ammoniacal sulfate or chloride solutions. **Hydrometallurgy**, v. 89, p. 82–88, 2007.

OLIVEIRA, D. M.; SÉRVULO, E. F. C.; SOBRAL, L. G. S.; PEIXOTO, G. H. C. **Biolixiviação: utilização de micro-organismos na extração de metais**. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, p. 38, 2010.

OLIVEIRA, L. E. L. **Identificação e Isolamento de Bactérias envolvidas na formação de Drenagem Ácida Minerária na região de Jacobina (Bahia) e o seu uso na Biolixiviação de Cobre**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciência da Saúde, Salvador, p. 71, 2014.

OLIVEIRA, P. C. **Valorização de Placas de Circuito Impresso por Hidrometalurgia**. Dissertação de mestrado - Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa, p. 290, 2012.

PADAN, E. Adaptation of bacteria to external pH. In Klug M. J., Reddy C. A. (Eds). **Curr. Perspect. Microbial. Ecol. Proc. Int. Symp.** 3rd., P. 49-55, 1984.

PALMER, J.; FLINT, S.; BROOKS, J.; **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.**, 34, 577, 2007.

PANT, D.; JOSHI, D.; UPRETI, M. K.; KOTNALA, R. K. Chemical and biological extraction of metals present in E waste: A hybrid technology. **Waste Management**, v. 32, p. 979–990, 2012.

PARK, Y. J.; FRAY, D. J. Recovery of high purity precious metals from printed circuit boards. **J. Hazard. Mater.**, v. 164, p. 1152–1158, 2009.

PESIC, B. Redox potential technique to study the factors of importance during reactions of *Thiobacillus ferrooxidans* with Fe_2^+ . In: Torma AE, Wey JE Lakshmanan VL (Eds). **Biohydrometallurgical Technologies. The Minerals, Metal and Material Society**, Jackson Hill. Wyoming, p. 545-560, 1996.

PLUMB, J. J.; MCSWEENEY, N. J.; FRANZMANN, P. D. Growth and activity of pure and mixed bioleaching strains on low-grade chalcopyrite ore. **Minerals Engineering**, v. 21, p. 93-99, 2008.

POGLIANI, C.; DONATI, E. The role of exopolymers in the bioleaching of a non-ferrous metal sulphide. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 22, p. 88- 92, 1999.

PRASHANTHA, K.; SOULESTIN, J.; LACRAMPE, M. F.; KRAWCZAK, P.; DUPIN, G.; CLAES, M.; TEWARI, A. Electrical and Dielectric Properties of Multi-Walled Carbon Nanotube Filled Polypropylene Nanocomposites. **Polymers & Polymer Composites**, V. 18, 9, p. 489-494, 2010.

PUCKETT, J. **The Digital Dump: Exporting Re-use and Abuse to Africa**. Seattle: [s.n.]. Disponível em: <<http://ban.org/library/TheDigitalDump.pdf>>. 2005.

QU, Y.; LIAN, B.; MO, B.; LIU, C. Bioleaching of heavy metals from red mud using *Aspergillus niger*. **Hydrometallurgy**, v. 136, p. 71–77, 2013.

RAO, S. R. Metal Recycling. In: **Resource Recovery and Recycling from Metallurgical Wastes**. [s.l.] Elsevier Ltd. p. 167–268, 2006.

RATH, S.S.; NAYAK, P.; MUKHERJEE, P.S.; CHAUDHURY, G. R.; MISHRA, B. K. Treatment of electronic waste to recover metal values using thermal plasma coupled with acid leaching – A response surface modeling approach. **Waste Management**, 32, 575, 2012.

RAWLINGS, E.; TRIBUTSCH, H.; HANSFORD, G. Reasons why *Leptospirillum*-like species rather than *Thiobacillus ferrooxidans* are the dominant iron-oxidizing bacteria in many commercial processes for the biooxidation of pyrite and related ores. **Microbiology**, v. 145, p. 1-5, 1999.

REN, W. X.; LI, P. J.; GENG, Y.; LI, X. J. Biological leaching of heavy metals from a contaminated soil by *Aspergillus niger*. **Journal of hazardous materials**, v. 167, p. 164–169, 2009.

RILEY, J. **Em Colloid Science: Principles, Methods and Applications**; COSGROVE, T., ed.; Blackwell Publishing: Ames, 2005.

ROBINSON, B. H. E-waste: an assessment of global production and environmental impacts. **The Science of the total environment**, v. 408, n. 2, p. 183–91, 2009.

ROCHA, W. R.; COUTINHO, K.; ALMEIDA, W. B.; CANUTO, S. **Chem. Phys. Lett.**, n. 335, p. 127, 2001.

ROCHA, W. R.; ALMEIDA, K. J.; ALMEIDA, W. B. **Chem. Phys. Lett.**, n. 316, p. 510, 2000.

ROCCHETTI L.; AMATO A.; BEOLCHINI F. Printed circuit board recycling: A patent review. **Journal of Cleaner Production**, 178, 814, 2018.

ROHWERDER, T.; GEHRKE, T.; KINZLER, K. Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63 (3), p. 239–248, 2003.

ROJAS-CHAPANA, J. A.; TRIBUTSCH, H. Biochemistry of sulfur extraction in bio- corrosion of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, v. 59, p. 291-300, 2001.

ROSARIO, C. G. A. **Avaliação da Degradação Bacteriana de Cianeto usando Cepas Isoladas de Rejeito de Mineração**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2017.

ROSENQVIST, T. **Principles of extractive metallurgy**. Nova York: Mc Graw-Hill, p. 332–333, 1974.

ROSSI, G. **Biohydrometallurgy**. New York: Mc Graw-Hill, 1990.

ROSSI, G. The design of bioreactors. *Hydrometallurgy*, v. 59, p. 217-231, 2001.

RUTHVEN, D. M. **Principles of Adsorption and Adsorption Processes**. John

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. (3ed.) Editorial Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nova York, 2001.

SAIDAN, M; BROWN, B.; VALIX, M. Leaching of electronic waste using biometabolised acids. **Chinese Journal of Chemical Engineering, icrobial processing of metal sulfides**. V.20, p. 530-534, 2012.

SAND, W. **Microbial processing of metal sulfides**. La Plata: Springer, cap.1, p. 3-33, 2007.

SAND, W.; GEHRKE, T.; JOZSA, P. G.; SCHIPPERS, A. Biochemistry of bacterial leaching – direct vs. indirect bioleaching. **Hydrometallurgy**, 59, p. 159-175, 2001.

SAND, W.; GEHRKE, T. Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processing involving iron (III) ions and acidophilic bacteria. **Research in Microbiology**, v. 157, p. 49-56, 2006.

SÃO PAULO. **Lei Estadual no 13.576**, de 6 de julho de 2009.

SÃO PAULO. **Resolução Estadual SMA no 131**, de 30 de dezembro de 2010.

SÃO PAULO. **Resolução Estadual SMA no 24**, de 10 de abril de 2013.

SÃO PAULO. **Resolução Estadual SMA no 38**, de 30 de abril de 2011.

SAYAR, N. A; FILIZ, M.; SAYAR, A. A. Extraction of Co (II) and Ni(II) from concentrated HCl solutions using Alamine 336. **Hydrometallurgy**, 96, 148, 2009.

SCHARNHORST, W. The end of life treatment of second-generation mobile phone networks: Strategies to reduce the environmental impact. **Environmental Impact Assessment Review**, v. 25, n. 5, p. 540–566, 2005.

SCHENEIDER, P. R. J. **Adhes. Sci. Technol.**, 11, 65, 1997.

SCHIPPERS, A. Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification. Em: DONATI, E. R.; SAND, W. **Microbial processing of metal sulfides**. La Plata: Springer, cap. 1, p. 3-33, 2007.

SCHIPPERS, A.; SAND, W. Bacterial Leaching of Metal Sulfides Proceeds by Two Indirect Mechanisms via Thiosulfate or via Polysulfides and Sulfur. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, p. 319-321, 1999.

SCHLUEP, M.; HAGELUEKEN, C.; KUERHR, R.; MAGALINI, F.; MAURER, C.; MESKERS, C.; MUELLER, E.; WANG, F. Recycling – From E-waste to Resources. **United Nations Environment Programme – UNEP & United Nations University**, p.95, 2015.

SCHMIDT, C. W. Unfair Trade - e-Waste in Africa. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 4, p. A232–A235, 2006.

SCHRADER, J. A.; HOLMES, D. S. Phenotypic switching of *Thiobacillus ferrooxidans*. **Journal of Bacteriology**, 170 (9), p. 3915-3923, 1988.

SCHWETZ, B. A. Toxicology of Chlorinated Dibenzon-p-dioxins. **Environmental Health Perspectives**, n. September, p. 87–99, 1973.

SHAPIRO, H. M. **Practical Flow Cytometry**. Wiley-Liss, 4 eds. 18-48, 2003.

SHAW, D. J. Interfaces com cargas elétricas. In: **Introdução à química dos colóides e de superfícies**. Tradução de MAAR, J. H. São Paulo: Edgard Blücher, p. 102-127, 1975.

SHINKUMA, T.; HUONG, N. T. M. The flow of e-waste material in the Asian region and a reconsideration of international trade policies on e-waste. **Environmental Impact Assessment Review**, v. 29, p. 25-31, 2009.

SILVA, C. M.; ARBILLA, G. Antropoceno: Os Desafios de um Novo Mundo. **Revista Virtual de Química**, 10, 2018.

SILVA, R. A.; PARK, J.; LEE, E.; PARK, J.; CHOI, S. Q.; KIM, H. Influence of bacterial adhesion on copper extraction from printed circuit boards. **Separation and Purification Technology** 143, 169-176, 2015.

SILVAS, F. P. C. **Utilização de hidrometalurgia e biohidrometalurgia para reciclagem de placas de circuito impresso**. 2014. 164 f. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. São Paulo, 2014.

SILVAS, F. P. C.; CORREA, M. M. J.; CALDAS, M. P. K.; MORAES, V. T.; ESPINOSA, D. C. R.; TENÓRIO, J. A. S. Printed circuit board recycling: Physical processing and copper extraction by selective leaching. **Waste Management**, 46, 503, 2015.

SMITH, J. R.; LUTHY, G. R.; MIDDLETON, A. C. Microbial ferrous iron oxidation in acidic solution. **J. Water Pollut. Control Fed.**, Washington, v. 60, n. 4, p. 518-530, 1988.

SOBRAL, L. G. S.; OLIVEIRA, D. M.; SOUZA, C. E. G. **Biohydrometallurgical processes: a practical approach**. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2010.

SONG, Q.; WANG, Z.; LI, J.; ZENG, X. Life cycle assessment of TV sets in China: A case study of the impacts of CRT monitors. **Waste Management**, 32, 1926, 2012.

SPARKS, D.L. **Kinetics of metal sorption reactions**. In H.E. Allen; C.P. Huang; G.W. Bailey, and A.R. Bowers (eds.). Metal speciation and contamination of soil. Lewis Publishers, Chelsea, Michigan. p. 35-58, 1995.

SPOSITO, G. On the use of the Langmuir equation in the interpretation of "adsorption" phenomena: II. The "two-surface" Langmuir equation. **Soil Science Society of America Journal**, v.46, p.1144-1152, 1982.

STAMP, A.; ALTHAUS, H.J.; WÄGER, P.A. Limitations of applying life cycle assessment to complex co-product systems: the case of an integrated precious metals smelter-refinery. **Resour. Conserv. Recycl.** 80, 85-96, 2013.

STHIANNOPKAO, S.; WONG, M. H. Handling e-waste in developed and developing countries: initiatives, practices, and consequences. **The Science of the total environment**, v. 463-464, p. 1147-53, 2013.

STREICHER-PORTE, M.; WIDMER, R.; JAIN, A.; BADER, H. P.; SCHEIDEGGER, R.; KYTZIA, S. Key drivers of the e-waste recycling system: Assessing and modelling e-waste processing in the informal sector in Delhi. **Environmental Impact Assessment Review**, v. 25, p. 472-491, 2005.

STREVETT, K. A.; CHEN, G. **Res. Microbiol.**, 154, 329, 2003.

SUM, E. Y. L. The Recovery of Metals from Electronic Scrap. **JOM**, v. 43, p. 53-61, 1991.

SUN, Z. H. I.; XIAO, Y.; SIETSMA, J.; AGTERHUIS, H.; VISSER, G.; YANG, Y. Selective copper recovery from complex mixtures of end-of- life electronic products with ammonia-based solution. **Hydrometallurgy**, 152, 91, 2015.

TAKANORI, H.; RYUICHI, A.; YOUICHI, M.; MINORU, N.; YASUHIRO, T.; TAKAO, A. Techniques to separate metal from waste printed circuit boards from discarded personal computers. **J. Mater. Cycles Waste Manage**, 42-54, 2009.

TAN, Z. Size distribution of wet crushed waste printed circuit boards. **Mining Science and Technology (China)**, v. 21, p. 359-363, 2011.

TJONG, S. C. **Electrical and dielectric behavior of carbon nanotube-filled polymer composites**. City University of Hong Kong, P. R. China, Woodhead Publishing Limited, p. 495-527, 2010.

TREYBAL, R. E. **Operaciones de transferencia de massa**. Nova York: Mc Graw-Hill, p. 529-530, 1996.

TUNCUK, A.; STAZI, V.; AKCIL, A.; YAZICI, E. Y.; DEVECI, H. Aqueous metal recovery techniques from e-scrap: Hydrometallurgy in recycling. **Minerals Engineering**, v. 25, p. 28- 37, 2012.

TUOVINEN, O. H. Biological fundamentals of mineral leaching processes. In: EL. Erlich; C. L. Brierley (Editors), **Microbial Mineral Recovery**. McGraw-Hill, New York, p. 55-77, 1990.

TUOVINEN, O. H.; BHATTI, T. M.; BIGHAM, J. M.; HALLBERG, K. B.; GARCIA JUNIOR, O.; LINDSTROM, E. B. Oxidative dissolution of arsenopyrite by mesophilic and moderately thermophilic acidophiles. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 3268-3274, 1994.

U.S. CONGRESS. Introduction and Summary. In: Copper: Technology and Competitiveness. Washington, D.C.: **Office of Technology Assessment**. p. 5-33, 1988.

USGS – Science for a Changing World. **Natural Hazards of 2014**. Disponível: www.usgs.gov. 2014.

UBBINK, J.; SCHAR-ZAMMARETTI, P. Curr. Opin. **Colloid Interface Sci.** 2007, 12, 263, 2007.

UNEP. **Recycling - From E-waste to Resources, 2009**. Disponível em: <http://www.unep.org/pdf/pressreleases/E-waste_publication_screen_finalversion-sml.pdf>

UNEP. **Towards a Green Economy: Pathways to Sustainable Development and Poverty Eradication**, 2011. Available from: http://www.unep.org/greeneconomy/Portals/88/documents/ger/ger_final_dec_2011/Green%20EconomyReport_Final_Dec2011.pdf

URENHA, L. C. **Metodologia para pesquisas de lixiviação bacteriana. Dissertação de mestrado.** São Paulo: Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 1991.

UTIMURA, S. K.; ROSARIO, C. G. A.; BOTELHO, A. B.; TENORIO, J. A. S.; ESPINOSA, D. C. R. Bioleaching process for metal recovery from waste materials. In: **Energy Technology 2017, the Minerals, Metals & Materials Series**. Springer, Cham, pp. 283-290, 2017.

UTIMURA, S. K.; AVERALO, S. J.; ROSARIO, C. G. A.; AGUILAR, M. Q.; TENÓRIO, J. A. S.; ESPINOSA, D. C. R. Bioleaching of metal from waste stream using a native strain of *Acidithiobacillus* isolated from a coal mine drainage. **The Canadian Jour. Chem. Eng.**, p. 2920-2927, 2019.

VALDÉS, J.; PEDROSO, I.; QUATRINI, R.; DODSON, R. J.; TETTELIN, H.; BLAKE, R.; EISEN, J. A.; HOLMES, D. S. *Acidithiobacillus ferrooxidans* metabolism: from genome sequence to industrial applications. *BMC Genomics*, v. 9, p. 597, 2008. doi: 10.1186/1471-2164-9-597.

VALDIVIA, D. N. U. **Lixiviação Bacteriana de Minérios Refratários de Ouro.** Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 151, 2003.

VAN der WAL, A.; NORDE, A.; ZEHNDER, A. J. B.; LYKLEMA, J. A determination of the total charge in the cell walls of gram-positive bacteria. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, v. 9, p. 81-100, 1997.

VAN LOOSDRECHT, M.; NORDE, W.; LYKLEMA, L.; ZEHNDER, J. **Aquatic Sci.**, 52,103, 1990.

VAN OSS, C. J. **Colloids Surf., B**, 54, 2, 2007.

VAN OSS, C. J. **Interfacial Forces in Aqueous Media**, Marcel Dekker, Inc: New York, 1994.

VEIT, H. M. **Emprego do processamento mecânico na reciclagem de sucatas de placas de circuito impresso.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 1-9 e 87, 2001.

VEIT, H. M. **Reciclagem de cobre de sucata de placas de circuito impresso.** 2005. 101 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005.

VEIT, H. M.; BERNARDES, A. M.; FERREIRA, J. Z.; TENÓRIO, J. A. S.; MALFATTI, C. F. Recovery of copper from printed circuit boards scraps by mechanical processing and electrometallurgy. **Journal of hazardous materials**, v. 137, n. 3, p. 1704–9, 2006.

VEIT, H. M.; PEREIRA, C. C.; BERNARDES, A. M. Using mechanical processing in recycling printed wiring boards. **JOM**, v. 54, n. 6, p. 45–47, 2002.

VIJAYARAGHAVAN, K.; YUN, Y. S. Bacterial biosorbents and biosorption. **Biotechnology Advances**, 26(3), 266–291, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.02.002>

VILAPLANA, F.; KARLSSON, S. Quality Concepts for the Improved Use of Recycled Polymeric Materials: A Review. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 293, n. 4, p. 274–297, 2008.

VILINSKA, A.; RAO, K. H. Surface Characterization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* Adapted to High Copper and Zinc Ions Concentration. **Geomicrobiology Journal**, 28: 221-228, 2011.

VILLAR, L. D. **Estudo da lixiviação Bacteriana de Metais presentes em Lodo de Esgoto Sanitário.** 142 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Universidade Estadual Paulista – UNESP, Instituto de Química – Araraquara, São Paulo, 2003.

- VOLSKY, A.; SERGIEVSKAYA, E. **Theory of metallurgical processes**. Moscow: Mir Publishers. p. 12–19, 1978.
- VON WEERT, G.; VAN LIER, R. J. M. Aqueous Pressure Oxidation of Silver – Bearing Cyanide Refractory Concentrates in Acidic Sulfate and Sulfate Iodide Media, **TMS – EPD Congress JOM**, 12.
- WANG, R.; XU, Z. Recycling of non-metallic fractions from waste electrical and electronic equipment (WEEE): A review. **Waste Management**, 34, p. 1455–1469, 2014.
- WANG, Y.; ZHANG, F. S. Degradation of brominated flame retardant in computer housing plastic by supercritical fluids. **Journal of Hazardous Materials**, 205-206, 156, 2012.
- WATLING, H. R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides – A review. **Hydrometallurgy**, v. 84, p. 81-108, 2006.
- WELCH, S. A.; BARKER, W. W.; BANFIELD, J. F. Microbial extracellular polysaccharides and plagioclase dissolution. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 63, p. 1405–1419, 1999.
- WEST, R. J.; STEPHENS, G. M.; CILLIERS, J. J. Zeta Potential of Silver Absorbing *Thiobacillus ferrooxidans*. **Minerals Engineering**, v. 11, n. 2, p. 189-194, 1998.
- WIDMER, R. Global perspectives on e-waste. **Environmental Impact Assessment Review**, v. 25, n. 5, p. 436–458, 2005.
- Wiley & Sons, New York, pp. 432, 1984.
- WILLNER, J.; FORMALCZKY, A.; SATERNUS, M. Selective recovery of copper from solutions after bioleaching electronic waste. **Nova Biotechnologia et Chimica**, 14, 32, 2015.
- WONG, M. H. Export of toxic chemicals - a review of the case of uncontrolled electronic-waste recycling. **Environmental Pollution**, v. 149, n. 2, p. 131–40, 2007.
- XAVIER, L. H.; CARVALHO, T. C. M. B. **Gestão de resíduos eletroeletrônicos**, 1. Ed – Rio de Janeiro: Elsevier, p. 129–148, 2014.
- YAMANE, H. Y. **Recuperação de metais de placas de circuito impresso de computadores obsoletos através de processo biohidrometalúrgico**. tese de Doutorado. São Paulo: Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2012.
- YAMANE, L. H.; MORAES, V. T.; ESPINOSA, D. C. R.; TENÓRIO, J. A. S. Recycling of WEEE: characterization of spent printed circuit boards from mobile phones and computers. **Waste Management**, v. 31, n. 12, p. 2553–8, 2011.
- YANG, J.; WU, Y.; LI, J. Recovery of ultrafine copper particles from metal components of waste printed circuit boards. **Hydrometallurgy**, v. 121-124, p. 1–6, 2012.
- YANG, T.; XU, Z.; WEN, J.; YANG, L. Factors Influencing Bioleaching Copper from Waste Printed Circuit Boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Hydrometallurgy**, vol. 97, 1-2, p.29-32, 2009.
- YANG, T.; ZHU, P.; LIU, W.; CHEN, L.; ZHANG, D. Recovery of tin from metal powders of waste printed circuit boards. **Waste Management**, 68, 449, 2017.
- YATES, J. R.; CUNNINGHAM, R. P.; HOLMES, D. S. An insertion sequence from *Thiobacillus ferrooxidans*. **Proceedings of National Academy of Sciences - USA**, 85, p. 7284-7287, 1988.
- YAZICI, E. Y.; DEVECI, H. Extraction of metals from waste printed circuit boards (WPCBs) in H₂SO₄-CuSO₄-NaCl solutions. **Hydrometallurgy**, 139, 30, 2013.
- YOKOYAMA, S.; IJI, M. Recycling of printed wiring boards with mounted electronic parts. **Proceedings of the IEEE International Symposium on Electronics and the Environment. ISEE**, 1997.

YOO, J. M. Enrichment of the metallic components from waste printed circuit boards by a mechanical separation process using a stamp mill. **Waste Management**, v. 29, p. 1132–137, 2009.

YOSHINO, M.; YAMADA, Y.; MURAKAMI, K. Inhibition by aluminum ion of NAD - dependent and NADP - dependent isocitrate dehydrogenases from yeast. **International Journal of Biochemistry**, Bristol, v.24, n.10, p.1615-1618, 1992.

YU, T. R. **Chemistry of variable charge soils**. New York, Oxford, 505, 1997.

ZENG, X.; ZHENG, L.; XIE, H.; LU, B.; XIA, K.; CHAO, K.; LI, W.; YANG, J.; LIN, S.; LI, J. Current Status and Future Perspective of Waste Printed Circuit Boards Recycling. **Procedia Environmental Sciences**, 16, 590, 2012.

ZHANG L.; XU, Z. A review of current progress of recycling technologies for metals from waste electrical and electronic equipment. **Journal of Cleaner Production**, 127, 19, 2016.

ZHANG, C. C.; ZHANG, F. S. Removal of brominated flame retardant from electrical and electronic waste plastic by solvothermal technique. **Journal of Hazardous Materials**, 221-222, 193, 2012.

ZHANG, S.; FORSSBERG, E. Intelligent Liberation and Classification of Electronic Scrap. **Powder Technology**, vol.105, p. 295-301, 1999.

ZHANG, S.; FORSSBERG, E. Mechanical separation-oriented characterization of electronic scrap. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 21, n. 4, p. 247–269, 1997.

ZHANG, Y. Current Status on Leaching Precious Metals from Waste Printed Circuit Boards. **Procedia Environmental Sciences**, v. 16, p. 560–568, 2012.

ZHONG, Y.; PENG, P.; HUANG, W. Transformation of tetrabromobisphenol A in the presence of different solvents and metals. **Chemosphere**, 87, 1141, 2012.

ZHOU, Y.; QIU, K. A new technology for recycling materials from waste printed circuit boards. **Journal of Hazardous Materials**, 175, 823, 2010

ZHU, P.; CHEN, Y.; WANG, L. Y.; ZHOU, M. Treatment of waste printed circuit board by green solvent using ionic liquid. **Waste Management**, 32, 1914, 2012.

ZITA, A.; HERMANSSON, M. Determination of bacterial cell surface hydrophobicity of single cells in cultures and in wastewater in situ. **FEMS Microbiology Letters**, v. 152, p. 299-306, 1997.

