

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU**

**ATIVIDADE MICROBIANA NAS TRANSFORMAÇÕES DOS ÓXIDOS
DE FERRO PARA O BRANQUEAMENTO DE MINERAIS DE ARGILA**

SILAS MACEDO SILVA

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de concentração em Energia na Agricultura.

**BOTUCATU – SP
Fevereiro – 2002**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU**

**ATIVIDADE MICROBIANA NAS TRANSFORMAÇÕES DOS ÓXIDOS
DE FERRO PARA O BRANQUEAMENTO DE MINERAIS DE ARGILA**

SILAS MACEDO SILVA

Orientador: Prof. Dr. Ademércio Antonio Paccola

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de concentração em Energia na Agricultura.

BOTUCATU – SP

Fevereiro - 2002

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU**

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: ATIVIDADE MICROBIANA NAS TRANSFORMAÇÕES DOS
ÓXIDOS DE FERRO PARA O BRANQUEAMENTO DE
MINERAIS DE ARGILA.

Autor: SILAS MACEDO SILVA

Orientador: Prof. Dr. Ademércio Antonio Paccola

Aprovado pela Comissão Examinadora:

Prof Dr. Fulano

Prof Dr. Fulano

Prof Dr. Fulano

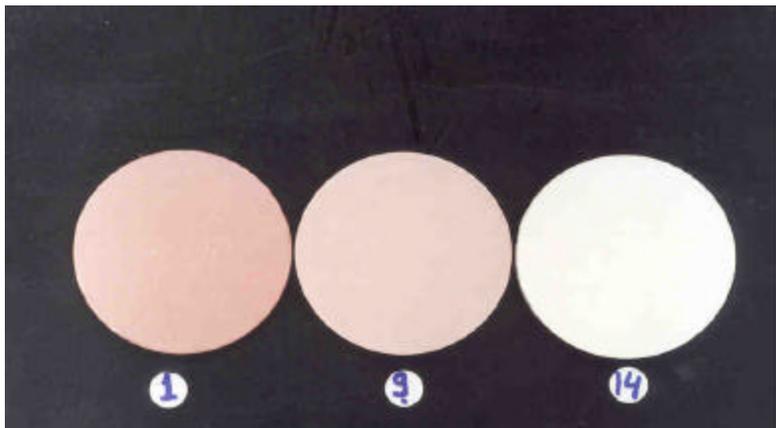
Prof Dr. Fulano

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu,
para a obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de concentração em Energia na
Agricultura.

BOTUCATU – SP

Fevereiro - 2002

AGRADECIMENTOS



**Que o amanhã de todas estas pessoas seja mais claro que o caulim
obtido neste trabalho!**

- À UNESP-LAGEADO através do seu Departamento de Recursos Naturais pela oportunidade e confiança em meu trabalho.
- Ao professor Sílvio Rainho Teixeira (UNESP-Presidente Prudente), pela disponibilidade no uso do difratômetro de raio-X.
- Aos professores do IB-UNESP (Rubião) Pedro M. Padilha e Ariovaldo O. Florentino, pelo livre acesso ao laboratório de análises químicas e ao prof. João F. Escobedo (FCA).
- À amiga e especialista em física de materiais Dorotéia de Fátima Bozano.
- À professora Yuriko Yanagizawa A. Nogueira Pinto pela tradução dos textos em japonês.
- Aos funcionários sempre solícitos, Aparecido e Wilson (Lageado) e Evandro (Rubião).
- À Biblioteca Central nas pessoas da Cida, Marli, Rita, Denise, Selma, Helen e Pedro.
- Às secretárias sempre dispostas a ajudar, Fátima e Isaura (DRN) e Maria do Carmo (PG).
- Aos inesquecíveis mestres que encontrei por aqui: Antenor Pasqual, Sérgio Hugo Benez, Afonso Maria de Carvalho, Ulisses Antuniassi, Nelson Miguel Teixeira, José Santo Goldoni, José Armando Furlani Júnior, Dinival Martins.
- Aos colegas de curso Daniela, Selene, Rosana, Ilka, Ana, Vera, Fernando Colen & Keila, Breda, “Zuleuma”, Célia, Mariana, Marie, Cristina, Karen (4D), os ex-alunos e hoje colegas, Salvatore, Toninho e Laerte pela agradável convivência.

Este trabalho também marca indelevelmente a convivência com pessoas que levarei comigo seja pelo amor adquirido, pela amizade compartilhada, pelas idéias distribuídas, pelo apoio desinteressado ou simplesmente pela coexistência ao longo desse tempo:

- A comunidade do 4B (Emerson **Galvani**, **Luiz**, **Tanaka** e o irmão **Gandolfo**), sem os quais este curso teria um sentido estritamente técnico e cartesiano e, com os quais confirmei que a Pós-Graduação tem a função de melhorar a alma de quem a faz.

- A Sílvia Machado, a Dulce & Sílvia pelos momentos de alegria compartilhados.

- O meu amigo invisível mas notável Dr. CLÁUDIO JOSÉ BARBEDO.

- O meu orientador Professor ADEMÉRCIO PACCOLA, por me mostrar como se constrói um pensamento científico mais sistêmico, em sintonia com os fatos e fenômenos do mundo material e espiritual.

- A CERCÍ MARIA, companheira de amor inusitado e responsável por eu continuar ativo durante esta fase da vida e, por me mostrar que algumas coisas podem ser mais duradouras.

- Os meus queridos RONEY e BÁRBARA, por suportarem, ainda tão novos, tanta provação e a minha ausência: em breve brincaremos juntos novamente.

- Os meus pais e irmãos pela intolerância e dedicação, especialmente a querida MÔNICA, pela cumplicidade durante a travessia das veredas da minha vida.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS	IV
LISTA DE FIGURAS	V
1- RESUMO	1
2- SUMMARY	3
3- INTRODUÇÃO	5
4- REVISÃO DE LITERATURA	8
4.1- Caulim	8
4.2- Interações Microrganismos-Minerais	12
4.3- Branqueamento de Caulim e Remoção de Ferro	24
5- MATERIAL E MÉTODOS	30
5.1- Experimento 1	31
5.2- Experimento 2	31
5.3- Experimento 3	32
5.4- Experimento 4	33
5.5- Experimento 5	34
5.6- Análises	37
5.6.1- Difração de raios-X	37
5.6.2- Espectrofotometria de absorção atômica	37
5.6.3- Porosimetria	37
6- RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6.1- ANÁLISES	51
6.1.1- Difração de raios-X	51
6.1.2- Espectrofotometria de absorção atômica	60
6.1.3- Porosimetria	62
7- CONCLUSÕES	66
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
9- APÊNDICE	74

LISTA DE QUADROS

Quadro	Página
1: Reservas e produção de caulim dos principais países.	9
2: Produção, comércio e consumo de caulim no Brasil.	11
3: Escala de branqueamento de caulim em percentagem	35
4: Tratamentos adotados para o branqueamento biológico, início e taxas de branqueamento	39
5: Início e taxa de branqueamento em função da esterilização ou não do substrato	42
6: Início e taxa de branqueamento de caulim em função da relação C:N:P	45
7: Início e taxa de branqueamento de caulim em função da relação água:caulim	47
8: Início e taxa de branqueamento em função da temperatura de incubação	48
9: Distância basal (Å) para os minerais encontrados e respectivos símbolos	53
10: Resultados de espectrometria por absorção atômica	61
11: Superfície específica da argila original e do biocaulim.	62

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1: Estrutura da ferritina (esquema)	21
Figura 2: Fotografia supramolecular da estrutura da ferritina	22
Figura 3: Escala de branqueamento de argila em níveis percentuais	36
Figura 4: Bactérias isoladas em SINA a partir de argila	44
Figura 5: Gradiente de branqueamento de caulim para diferentes níveis da relação C:N:P..	46
Figura 6: Difratoograma de argila natural antes do processamento	54
Figura 6a: Difratoograma de argila natural antes do processamento (parcial)	55
Figura 6b: Difratoograma de argila natural antes do processamento (parcial)	55
Figura 6c: Difratoograma de argila natural antes do processamento (parcial)	56
Figura 7: Difratoograma da fração argila grossa depois do bioprocessamento	57
Figura 7a: Difratoograma da fração argila grossa após o bioprocessamento. (parcial).....	58
Figura 7b: Difratoograma da fração argila grossa depois do bioprocessamento. (parcial).....	58
Figura 7c: Difratoograma da fração argila grossa depois do bioprocessamento. (parcial).....	58
Figura 8: Difratoograma do biocaulim	59
Figura 8a: Difratoograma do biocaulim. (parcial).....	59
Figura 8b: Difratoograma do biocaulim. (parcial).....	60
Figura 9: Distribuição de tamanho de poro da argila natural e do biocaulim	63
Figura 10: Isotermas de adsorção da argila natural e do biocaulim	64
Figura 11: Caracterização das fases de produção do biocaulim: início (1), meio (9) e final do processo (14)	75
Figura 12: Biocaulim produzido sob diferentes níveis da relação C:N:P	75
Figura 13: Término do processo de branqueamento (diferentes níveis da relação C:N:P)	76

1-RESUMO

Este trabalho foi conduzido no laboratório de geoquímica do Departamento de Recursos Naturais da FCA-UNESP LAGEADO, Botucatu(SP). Utilizou-se como material básico de estudo, a argila do tipo caulinita, obtida na região de Botucatu(SP). Vários experimentos foram conduzidos com o objetivo de determinar os níveis ideais para os parâmetros que pudessem influir no branqueamento do caulim como a concentração de sacarose, relação C:N:P, relação água:substrato, temperatura, além da determinação da natureza biológica do processo. A taxa de branqueamento determinada em cada experimento foi caracterizada, em função de uma escala de branqueamento elaborada especificamente para este trabalho. Antes e após o bioprocessamento, o material de estudo foi submetido às análises de Espectrometria de Absorção Atômica (AAS), determinação da superfície específica e volume de poros (BET) e difratometria de raios-X. Os resultados obtidos indicaram que a faixa ideal quanto a concentração de sacarose foi de 4,0% a 5,5% em relação ao substrato. A relação C:N:P que promoveu um melhor resultado no processo foi igual a 250:1:0,2, reduzindo o tempo para início do processo de branqueamento. A relação água:caulim situada entre 3,0:1 e 2,0:1 mostrou ser a faixa ideal para o desenvolvimento do processo estudado.

Quanto à temperatura, o que se observou foi um melhor desempenho quando a mesma foi mantida em 30°C sendo que, à 35°C os resultados foram similares. Abaixo de 30°C e acima de 35°C o processo de branqueamento é drasticamente afetado. A comprovação da natureza biológica do processo, também foi verificada experimentalmente. As análises de Espectrometria de Absorção Atômica (AAS), mostraram uma redução de mais de 40% no teor de ferro contido no material original. A difratometria de raios-X mostrou que o branqueamento biológico melhorou as características do material processado, reduzindo a presença de ferro de forma marcante. A determinação da superfície específica e volume de poros (BET), evidenciaram um aumento na superfície específica do material processado, o que indica uma melhora nas suas propriedades físicas.

MICROBIAL ACTIVITY ON THE IRON OXIDES TRANSFORMATIONS FOR THE CLAY MINERALS BLEACHING. Botucatu (SP), 2001. 76p. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: **SILAS MACEDO SILVA**

Adviser: **Prof. Dr. ADEMÉRCIO ANTONIO PACCOLA**

2-SUMMARY

This work was carried out at the laboratory of geochemical of the Departamento de Recursos Naturais of FCA-UNESP LAGEADO, Botucatu(SP). It was used as basic material of study, the clay of the type kaulinite, obtained in the area of Botucatu(SP). Several experiments were driven with the objective of determining the ideal levels for the parameters that could influence in the bleaching of the kaolin as the sucrose concentration, relationship C:N:P, relationship water:substratum, temperature, besides the determination of the biological nature of the process. The rate of certain bleaching in each experiment was characterized, in function of a bleaching scale specifically elaborated for this work. Before and after the bioprocessing, the study material was submitted to the analyses by Atomic Absorption Spectrometry (AAS), determination of the specific surface and volume of pores (BET) and X-ray diffractometry (XRD). The obtained results indicated that the ideal range of sucrose concentration was from 4,0% to 5,5% in relation to the substratum. The relationship C:N:P that promoted a better result in the process was equal for 250:1:0,2, reducing the time for beginning of the bleaching process. The relationship water:kaolin between 3,0:1 and 2,0:1

showed to be the ideal range for the development of the studied process. As the temperature, which it observed was a better acting when the same was maintained in 30°C and, to for 35°C the results were similar. Below 30°C and above 35°C the bleaching process is affected drastically. The confirmation of the biological nature of the process was also verified. The analyses of Atomic Absorption Spectrometry (AAS), showed a reduction of more than 40% in the grade of iron contained in the original material. The X-ray diffractometry (XRD), showed that the biological bleaching improved the characteristics of the processed material, reducing remarkably the presence of iron. The determination of the specific surface and volume of pores (BET) evidenced an increase in the specific surface of the processed material, what indicates an improvement in its physical properties.

Keywords: Bioclay, bleaching, kaolin, biotechnology, iron oxides, methodology.

3-INTRODUÇÃO

As aplicações industriais para os minerais de argila, têm aumentado as suas formas de uso. Estes encontram aplicações na produção de porcelanas e material de construção, tratamento de lixo nuclear, além da indústria química, elétrica, de papel, aço e petroquímica. Como outros recursos naturais, a caulinita também vem sendo exaurida devido à sua exploração por muito tempo, nos locais onde ocorre. A caulinita mineral é o principal componente dos depósitos de argila branca que ocorrem naturalmente, chamados de Caulim, que consiste de microscópicas placas de aluminossilicatos.

O Brasil foi um dos maiores exportadores mundiais com 495.000 toneladas em 1992, quando produziu 790.000 toneladas. Dados preliminares mostram que o Brasil produziu em 2000, 1.735.000 t de caulim beneficiado, ocupando a 3ª posição na oferta mundial, destacando-se os estados do Amapá e do Pará, com 43,6% e 40,3%, respectivamente do total nacional, além de São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Paraná e outros com menor produção, que completam o quadro da oferta nacional de caulim beneficiado.

Atualmente, o Brasil tem $4.000.000 \times 10^3$ t de reservas de caulim, o que corresponde a 28,2% do total mundial. O caulim beneficiado foi usado principalmente na indústria cerâmica e de papel e, em menor volume, na produção de borracha, plásticos, pesticidas, alimento animal, suplementos alimentícios e farmacêuticos, fertilizantes, tintas e muitas outras aplicações. Qualquer que seja o seu uso, a sua qualidade é de fundamental importância.

Para as aplicações industriais, a caulinita deve ser refinada e processada para atingir as características comerciais requeridas. No caso da indústria de papel, o principal consumidor, uma das mais importantes características para a caulinita ser utilizada, é a sua brancura. Em geral, um grau de branqueamento entre 79% e 85,5% é requerido para este fim, sendo que, a cor branca da caulinita é reduzida pela presença de óxidos de ferro e, o aumento do teor de ferro reduz a brancura deste mineral de argila.

Atualmente, o branqueamento de argilas tem sido obtido através de métodos físicos, químicos ou a combinação de ambos. Tais métodos de branqueamento são usuais para a obtenção de um alto grau de remoção do ferro, porém, são muito caros, requerem condições de operação complexas e, principalmente, têm sido danosos ao ambiente (Mesquita et al., 1996; Veglio, 1997).

Devido a estas desvantagens, métodos biológicos de branqueamento de argilas têm sido pesquisados e considerados como um método alternativo. Estes métodos apresentam a expectativa de consumir menos energia que os processos convencionais, e com menor custo de instalação e de operação. Como os microrganismos influenciam, naturalmente, a cinética e o curso das reações que envolvem a dissolução de muitos minerais, bem como, a

formação de minerais na litosfera e na hidrosfera da Terra, pesquisadores tentam identificá-los e maximizar o seu uso, para esta função.

A metodologia aqui proposta vai ao encontro dessas vantagens acima citadas, visando a detecção e avaliação dos agentes físicos e biológicos envolvidos no processo de branqueamento de um determinado tipo de argila.

A técnica adotada baseou-se na utilização de biorreatores, alimentados por batelada. Cada biorreator recebeu uma determinada massa de caulinita moída, água não tratada, além de fontes de carbono, nitrogênio, fósforo e potássio.

Foi avaliada a maximização dos seguintes parâmetros: Relação C:N:P, relação argila:água, relação argila:carbono e, determinado o ponto ótimo para a taxa e tempo de branqueamento, sob diferentes temperaturas. Foram isolados também, os grupos de microrganismos envolvidos no processo, de acordo com as técnicas microbiológicas recomendadas.

A importância deste trabalho reside no fato da metodologia apresentada ser relativamente simples, de custo muito baixo, podendo gerar subprodutos como quelatos (e não resíduos), melhorando a qualidade ambiental nos locais de operação das usinas de branqueamento.

4-Revisão de Literatura

4.1-Caulim

O termo caulim, originado da palavra chinesa “Kauling” (colina alta), é empregado para designar um grupo de silicatos hidratados de alumínio, incluindo, principalmente, os minerais caulinita e haloisita.

Ferreira (s.d.), define caulim como sendo uma argila branca que tem como principal constituinte, a caulinita, um mineral monoclinico e um silicato de alumínio hidratado, sendo um dos principais minerais de algumas argilas. Mesquita et al. (1996), por sua vez, designam caulim como sendo os depósitos de argilas esbranquiçadas ou produtos refinados a partir destes depósitos.

A caulinita, juntamente com a montmorilonita, a illita e a clorita, de acordo com Mason (1971), constituem os minerais do grupo das argilas e das rochas sedimentares que, por sua vez, são produtos secundários. São silicatos hidratados de alumínio e estáveis, formados pela decomposição de outros silicatos aluminosos. Têm como

componentes acessórios, quartzo, feldspato, carbonatos e micas. As jazidas de caulim mais famosas são as chinesas, pelo seu elevado grau de pureza.

É amplamente utilizada em diversos setores industriais, no mundo, destacando-se o de fabricação de papel que consome cerca de 45%, sendo 32% para revestimento (“coating”) e 13,0% para carga (“filler”). Nos Estados Unidos, o consumo de caulim se apresenta da seguinte maneira: 56,0% para papel, 11,0% para refratários e 33,0% para outros usos. Os dados disponíveis, apresentados no Quadro 1, estimam as reservas mundiais de caulim em torno de 14,2 bilhões de toneladas, concentradas nos Estados Unidos, Brasil, Ucrânia, Reino Unido e China, somando mais de 96,0% do total. A oferta mundial de caulim, em 2000, atingiu 22,0 milhões de toneladas, liderada pelos Estados Unidos, com 8,9 milhões de toneladas, seguindo-se o Reino Unido, o Brasil, a Ucrânia e a China. No Brasil, somente os estados do Amazonas, Pará e Amapá detêm cerca de 93,0% das reservas oficiais. O Brasil ocupa a 3ª posição na oferta mundial (DNPM, 2001).

Quadro 1: Reservas e produção de caulim dos principais países.

DISCRIMINAÇÃO	RESERVA (10 ³ t) ⁽¹⁾		PRODUÇÃO (10 ³ t)		
	2000	%	1999	2000 ^p	%
Países					
Brasil	4.000.000	28,2	1.517	1.735	7,9
Estados Unidos	8.300.000	58,4	9.160	8.870	40,3
Reino Unido	260.000	1,8	2.500	2.500	11,4
Ucrânia	980.000	6,9	1.000	1.000	4,5
China	180.000	1,3	950	950	4,3
Outros Países	480.000	3,4	6.973	6.945	31,6
TOTAL	14.200.000	100,0	22.100	22.000	100,0

⁽¹⁾Reservas totais (no mundo, estimada; no Brasil, oficiais-1997). (p) Dados preliminares.

O caulim é produzido em diversas Unidades da Federação, destacando-se os estados do Amapá, Pará, São Paulo e Minas Gerais, com o Rio Grande do Sul também aparecendo com produção já significativa. A produção bruta, em 2000, ultrapassou 4,0 milhões de toneladas, das quais a maior parte foi tratada nas usinas de

beneficiamento, gerando 1.735.000 t de caulim dos tipos “coating” (cobertura) e “filler” (carga), o que representa um crescimento de 14,36% em relação ao ano anterior. O valor estimado da referida produção beneficiada, atingiu cerca de US\$ 193 milhões, contra US\$ 197 milhões no ano anterior. A quantidade de caulim importada pelo Brasil é relativamente pequena, tendo atingido 5.382 t em 2000, principalmente dos Estados Unidos (47,0%), Argentina (30,0%), Reino Unido (11,0%) e Espanha (10,0%). Os dados disponíveis mostram que o Brasil exportou 1.390.636 t de caulim beneficiado em 2000, registrando-se um aumento de cerca de 20,0%, comparando-se com as 1.156.593 t exportadas no ano anterior. Em termos de manufaturados, a quantidade exportada caiu, passando de 2.263 t em 1999 para 2.086 t, em 2000, tendo como principais compradores a Argentina (23,0%), Alemanha (13,0%), Paraguai (12,0%), Itália (12,0%) e Estados Unidos (9,0%). O valor das exportações atingiu US\$ FOB 155 milhões, contra US\$ FOB 127 milhões em 1999, com um crescimento de 22,0% (DNPM, 2001).

Conforme acusa o Quadro 2, o consumo interno aparente de caulim em 2000 registrou uma pequena queda em relação ao ano anterior, passando de 365.183 t para 349.533 t, o que representa pouco mais de 4,0%. Referida quantidade de caulim provém, na maior parte, das minas existentes nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e outros de menor produção, os quais fornecem principalmente caulim do tipo “filler” (carga).

Vale ressaltar o avanço do Brasil no mercado mundial de caulim, com a entrada em operação da Pará Pigmentos e da “Rio Capim Caulim”, no Pará, com previsão de atingirem em 2001 cada uma em torno de 500 a 600 mil t/ano de caulim de boa qualidade. Desta forma, o Brasil passará a ter uma participação na oferta mundial de cerca de 1.800.000 t/ano, contra as 1.390.636 t em 2000, considerando que cada empresa exportará 80,0% da

quantidade produzida. Também é um dos bens minerais primários com destaque na pauta de exportação.

Quadro 2: Produção, comércio e consumo de caulim no Brasil.

DISCRIMINAÇÃO			1998 ^(R)	1999 ^(R)	2000 ^(P)
Produção:	Bruta (minério)	(t)	3.259.518	3.598.326	4.100.000
	Beneficiada	(t)	1.373.892	1.516.700	1.734.787
Importação:	Bens primários	(t)	4.941	3.746	5.382
		(10 ³ US\$-FOB)	1.793	1.409	2.133
	Manufaturados	(t)	5.803	3.593	5.608
		(10 ³ US\$-FOB)	9.445	4.640	4.534
Exportação:	Bens primários	(t)	964.268	1.156.593	1.390.636
		(10 ³ US\$-FOB)	105.900	123.118	151.477
	Manufaturados	(t)	2.461	2.263	2.086
		(10 ³ US\$-FOB)	5.242	4.129	3.950
Consumo Aparente ⁽¹⁾ :	Beneficiado	(t)	417.907	365.183	349.533
Preços Médios Inter: ⁽²⁾ :	Beneficiado	(US\$/t-FOB)	111	104	107
Preços Médio Nac. ⁽³⁾ :	Beneficiado	(US\$/t-FOB)	115	110	115

Fonte: (DNPM, 2001)

(1) Produção + Importação – Exportação.

(2) Média de preços de caulins no mercado americano.

(3) Média de preços de caulins nacionais para o mercado externo.

(p) Preliminar - (r) Revisado.

O uso de minerais de argila tornou-se muito diversificado devido ao aumento nas suas aplicações industriais. São essenciais na produção de porcelanas, material de construção, tratamento de lixo nuclear e na indústria química, elétrica, papel, do aço e petroquímica. (INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DO ESTADO DE SÃO PAULO ,s.d.).

Para qualquer aplicação, porém, a sua qualidade é fundamental e, as reservas com alto grau de pureza estão se exaurindo devido ao longo tempo de mineração. Por essas razões, o refino de argilas com baixo grau de pureza tem sido requerido como fonte alternativa às argilas naturalmente puras (Ryu et al., 1995).

Mirabella e Carnicelli (1992), correlacionaram a cor vermelha e o teor de hematita, e a mineralogia dos óxidos de ferro com material de origem altamente calcário, na região central de Toscana na Itália. Constataram que goethita e hematita eram os únicos óxidos de ferro cristalino presentes. Os dados de difração de raios-X indicaram material pobremente cristalizado ou de partículas muito pequenas. A maior proporção (67 a 95%) do total de ferro foi extraída com ditionito/citrato/bicarbonato de cálcio e menos de 10% por oxalato. A intensidade de substituição de Fe por Al na goethita foi positivamente correlacionada ($R^2=0,68$) ao tamanho do cristal ao longo do plano 001. A intensidade da cor vermelha, contudo, pode apenas estimar com pouca precisão o teor de hematita. Os solos com baixos teores de óxidos de ferro apresentam menores conteúdos de hematita, enquanto que a maior parte dos óxidos de ferro cristalinos é goethita. Isto suporta a hipótese que o material de origem influencia a gênese dos óxidos de ferro.

De acordo com Teixeira e Souza (2001), a textura e a composição mineralógica das argilas, influenciam as propriedades das mesmas como a cor, a resistência mecânica, a absorção de água, a quebra, a dilatação e a retração durante a secagem e a queima do material.

4.2-Interações Microrganismos-Minerais

Skinner e Fitzpatrick (1992), dedicaram mais de quatrocentas páginas escrevendo sobre os processos biogênicos que envolvem os mecanismos de oxi-redução do Fe e do Mn, em solos e sedimentos, mostrando a participação decisiva dos microrganismos na movimentação e redeposição dos óxidos de Fe e Mn, tanto na forma amorfa como de minerais

pouco ou bem cristalizados. Referem-se, claramente, a importante participação da matéria orgânica acoplada aos microrganismos para que o processo se realize.

Schwertmann e Fitzpatrick(1992), citados por Mendonça(1999), afirmam categoricamente , que a ocorrência da maior parte dos minerais de ferro na evolução da superfície da Terra é devida à atividade biológica. Estes minerais incluem: ferrihidrita, goethita, lepidocrocita, akaganeita, ferroxihyta, hematita, magnetita, maghemita, vivianita, e pirita. Descrevem também, as estruturas de: hematita, magnetita, ferrihidrita, siderita, vivianita, pirita, marcasita, greigita, mackinawita, jarosita, e akaganeita.

Somasundaran et al.(1998), comentam que o processamento biológico de minerais, tem se mostrado como uma alternativa disponível ao processo químico, adotado atualmente. Citam que em 1976, Solojenken e colaboradores, foram os primeiros a relatarem sobre os processos biológicos envolvendo microrganismos no processo de flotação mineral. Estes processos biológicos são baseados nas interações entre os microrganismos e vários minerais existentes. A adesão de microrganismos à superfície de partículas pode causar alterações nas mesmas. Tais modificações são usadas em processos de flotação de minerais. As interações de microrganismos e seus agentes com os minerais podem ser indireta (produtos biológicos atuando como agentes ativadores de superfície) ou direta (adesão microbiana e ataque de partículas), levando à alterações da superfície. Ambos os tipos de interação podem produzir mudanças na hidrofobicidade do mineral, bem como, na carga da superfície. O mecanismo da interação de microrganismos com sólidos não é bem conhecido, principalmente devido ao fato de ocorrer mudanças nas propriedades de sua superfície durante o processo.

Dorioz e Robert (1982), por exemplo, estudaram as interações fungos-argilas e seus efeitos na microestruturação do solo. Singleton et al. (1990), determinaram a

habilidade de *Mucor flavus* em adsorver enxofre elementar, pó de zinco ou argilas, sob diferentes condições de pH e nível de nutrientes. Consideraram também as implicações dos resultados obtidos para uso industrial. A assimilação de ferro férrico por uma raça de *Cryptococcus neoformans* foi verificada por Jacobson e Vartivarian (1992).

Vários efeitos específicos podem ser observados em processos de precipitação e de reprecipitação, o que foi mostrado por Robert e Berthelin (1986).

Vários fungos e bactérias foram encontrados por Adams et al. (1992), mobilizando e concentrando ferro férrico a partir de material rochoso, observado em desertos.

Konhauser (1998), relata que uma grande variedade de bactérias pode precipitar muitos minerais de ferro autigênicos. Comenta que os minerais biogênicos têm hábito cristalino e composição química semelhantes àqueles produzidos por precipitação, a partir de soluções inorgânicas, porque são governados pelo mesmo princípio de equilíbrio que controla a mineralização da sua contrapartida inorgânica.

Esta autigênese é caracterizada por Suguio (1973), como sendo a tentativa de estabelecer o equilíbrio químico do conjunto de minerais de um sedimento pela eliminação de espécies instáveis, crescimento de espécies estáveis e geração de novas espécies estáveis, por meio de reações químicas adequadas. A busca deste equilíbrio ocorre quando não há um perfeito equilíbrio entre os minerais de um sedimento, que são em parte químicos e em parte detríticos ou não há equilíbrio com o fluido intersticial quando da deposição. Os processos envolvidos incluem redução, especialmente de ferro.

Tazaki (2001), analisando a superfície de vários argilo-minerais, utilizando aparelhos de raios-X e infravermelho, sugere que a formação de sedimentos e argilas no solo, ocorrem sob várias condições, associada à microrganismos. Considera ainda

que, os argilo-minerais protegem a vida existente em locais de derramamento de materiais tóxicos. A interação entre microrganismos e argilo-minerais, precisa ser considerada na disposição de resíduos, em termos de proteção dos vários ecossistemas.

Outros autores mostram que a produção de enzimas e o crescimento de vários fungos foram superior na presença de argilas e outros materiais de solo (Claus e Filip, 1990).

A interação de microrganismos com minerais tem aplicações das mais diversas, inclusive na pesquisa de vida em outros locais do universo. Sob esse ponto de vista, Beard et al. (1999), trabalhando com isótopos de Fe, registraram a diferença isotópica entre o Fe precipitado em ambientes sedimentares e o Fe contido em rochas ígneas da terra e da lua; no primeiro caso, a relação entre as fases de ferro ($^{56}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$) foi de 2,5/mil e, na segunda situação, esta relação foi insignificante (0,3/mil). Eles inferem, a partir dos resultados que, a perda de ferro reduzido durante o desenvolvimento das formações de ferro, deve produzir resíduos pobres em Fe com altos valores de ^{56}Fe . Isto permite propor que o Fe(III) em sedimentos pode ser reduzido por bactérias, dissolvido e transportado do local de deposição durante a gênese do material. O material levemente colorido indica valores positivos de ^{56}Fe se as bactérias redutoras estiverem envolvidas no processo de mobilização de Fe. Ao contrário, se o material apresentar-se escuro, é indicativo da precipitação inorgânica do Fe e variações isotópicas não serão registradas.

O potencial de crescimento microbiano a partir de hematita pode ser significativo, também sob o ponto de vista da nossa herança cultural. Foi desta forma que os pesquisadores espanhóis, Gonzalez et al. (1999), registraram a alteração de cor nas pinturas rupestres da Espanha e Finlândia. Os óxidos férricos são as formas mais comuns nos

pigmentos usados nestas gravuras e, em condições favoráveis, as bactérias presentes nas pinturas alteram a cor das mesmas, do amarelo avermelhado (característico de ferro férrico) ao marrom amarelado escuro, indicativo da formação de compostos ferrosos. Diferentes matizes indicam uma redução microbiana ou o uso de diferentes minerais na confecção das pinturas. A perda deste acervo é devida à alteração das condições originais dos sítios, pela presença direta ou indireta (poluentes no ar) do homem, promovendo condições adequadas para o desenvolvimento dos microrganismos aí presentes.

Os microrganismos influenciam a cinética e o curso de reações que envolvem a dissolução e a formação de muitos minerais, na litosfera e na hidrosfera da terra. Uma das razões desta atividade microbiana, principalmente por parte das bactérias, é que elas obtêm energia do processo. Usam o mineral dissolvido como um acceptor terminal de elétrons, e para sua manutenção ou para aumentar sua competitividade em uma comunidade microbiana. Os microrganismos que interagem com os minerais são oportunistas e apresentam um impacto significativo no reino mineral, por explorarem ambientes nos quais outros microrganismos não se adaptam e estão em desvantagem (Ehrlich, 1996).

De acordo com Styriaková e Styriak (2000), na presença de caulim durante o crescimento bacteriano, o pH do meio foi reduzido de 7,0 para 4,0 dentro de 7 dias. Neste tempo, a maioria das bactérias foi adsorvida pela superfície do mineral. O cultivo de *Bacillus cereus* sob condições anaeróbias facilitou a dissolução do Fe e preveniu a reoxidação do Fe dissolvido. Vários ácidos orgânicos foram detectados tais como o ácido acético, butírico, pirúvico, láctico e fórmico, após o final do bioprocessamento dos caulins. É sabido que vários ácidos orgânicos produzidos por microrganismos, aumentam a taxa de dissolução mineral. Os microrganismos produzem enzimas (quitinase e celulase) para degradar substratos específicos. É possível que

polissacarídeos extracelulares de alguns líquens, bem como, outros microrganismos em ambientes como o solo, contenham enzimas que atuam em vias metabólicas análogas à quitinase e celulase que, especificamente quebram as estruturas minerais e retiram elementos para o seu metabolismo e sua composição estrutural que podem ser chamadas de “mineralase”, citando Barker e Banfield (1998). Isto pode ser especialmente importante para íons como o Fe^{3+} e o Al^{3+} , os quais, são esperados que sejam bastante insolúveis.

As bactérias estão presentes em uma larga faixa de proximidade de superfície água-rocha, e apresentam uma importante função em inúmeros processos geoquímicos operando nestes sistemas. Sob este ponto de vista, Konhauser (1998), cita, por exemplo, a atividade metabólica de bactérias oxidantes de Fe(II) , como indutora da precipitação de hidróxido férrico (como subproduto). Estes hidróxidos podem se formar passivamente quando o ferro(II) reagir com o oxigênio dissolvido e precipitar-se como hidróxido férrico, em sítios de nucleação disponíveis em bactérias.

Watteau e Berthelin (1990), citados por Mendonça (1999), estudaram o crescimento do fungo micorrízico *Suillus granulatus*, em condições na presença e ausência de óxidos de Fe (goethita). A solubilização da goethita foi correlacionada a produção de vários compostos orgânicos no meio (sideróforos, ácidos orgânicos), e ao crescimento do fungo. *Ustilago sphaerogena*, um fungo bem conhecido por sua produção de sideróforos foi usado como controle. Os resultados mostraram que o biointemperismo da goethita foi devido, principalmente, a produção de sideróforos. Este processo de dissolução microbiológica pode, também, ser importante na aquisição de Fe por plantas superiores.

Yee et al. (2000), estudando o comportamento da adsorção bactéria-mineral em função do pH e da força iônica, mostraram que o processo é completamente

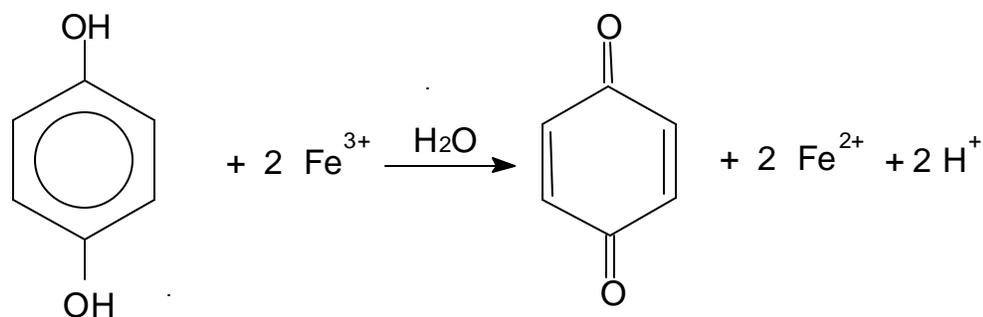
reversível, com o equilíbrio sendo alcançado em menos de 1 hora. Os dados também indicam que o *Bacillus subtilis*, testado, exibe uma afinidade mais alta para coríndon que para superfícies de quartzo, e que a extensão de adsorção da bactéria sobre coríndon aumenta com o decréscimo do pH, com o aumento da relação massa bacteriana:mineral, e com a diminuição da força iônica. O comportamento da adsorção é governado pela especiação química da bactéria e da superfície mineral. O modelo considera as interações hidrofóbicas e eletrostáticas que acontecem entre as bactérias e as superfícies minerais, e pode responder pelos efeitos de química de solução, bem como, especiação da superfície na extensão da adsorção. Estes resultados são os primeiros a integrarem os efeitos do pH, força iônica e a relação massa mineral-bactéria, em um modelo quantitativo. Os dados experimentais indicam que a adsorção da bactéria sobre as superfícies minerais é dirigida pela hidrofobicidade, mas as interações eletrostáticas também têm uma função importante.

Newman e Kolter (2000), citam o processo respiratório das bactérias como sendo notável, justamente por sua habilidade em usar uma grande variedade de compostos, incluindo minerais insolúveis, como acceptor de elétrons. Entretanto, pouco se sabe sobre o transporte de elétrons em compostos insolúveis como os óxidos de ferro. Trabalhando com mutantes de *Shewanella putrefaciens*, mostraram que é possível ocorrer a transferência de elétrons para uma variedade de oxidantes, incluindo minerais pouco solúveis, e pode ser mediada por quinonas excretadas por microrganismos, que precisam ainda ser identificadas.

Sob este aspecto, Pracht et al. (2001), estudaram a atividade redutora de di-hidrobenzenos como o catecol, hidroquinona, resorcinol e 2-metoxi-fenol guaiacol com o Fe(III), determinando a taxa de redução de Fe(III), bem como, a produção de CO₂. Mostram que o catecol e o guaiacol podem ser efetivamente oxidados à CO₂ pela redução do Fe(III). A

hidroquinona também promoveu a redução do Fe(III), mas não foi possível determinar a subsequente mineralização, com a produção de CO₂. Por outro lado, o resorcinol não apresentou reação com o Fe(III). O fator decisivo na promoção da mineralização ou não, é controlado pela posição dos grupos hidroxilas. Isto mostra que substâncias fenólicas com 2 grupos hidroxila na posição orto ou, pelo menos 1 grupo hidroxila e 1 grupo metoxi, podem ser oxidadas à CO₂, enquanto o Fe(III) é reduzido. A razão de redução do Fe(III) foi de 6:1, 3,5:1 e 2:1, respectivamente, para o catecol, guaiacol e a hidroquinona. As vias de mineralização destas substâncias podem ser esquematizadas da seguinte forma:

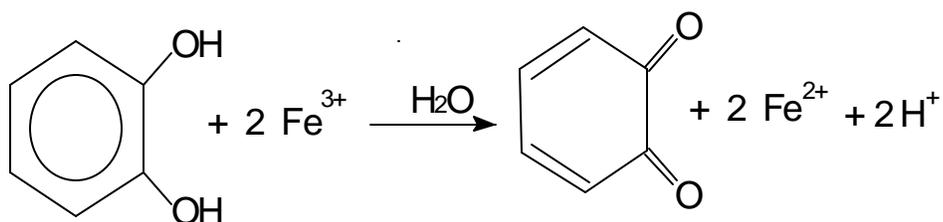
A)



Hidroquinona

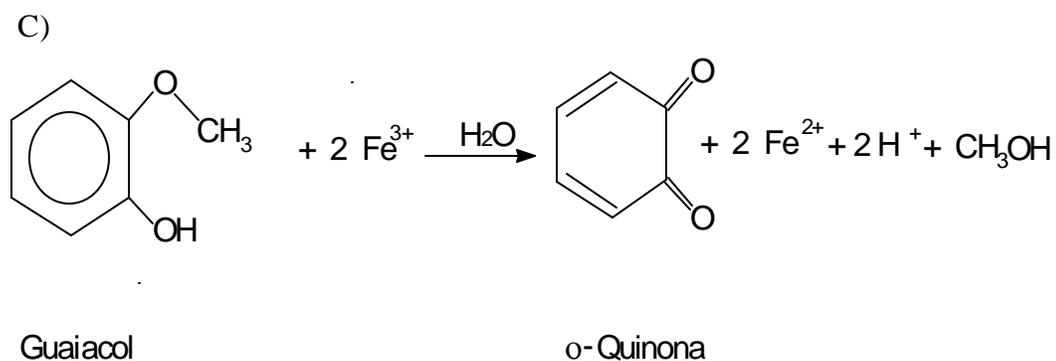
p-Quinona

B)



Catecol

o-Quinona



Os mesmos autores afirmam que a influência de qualquer atividade microbiana para estas reações não é um requerimento imprescindível, entretanto não ignoram que compostos fenólicos, de ocorrência natural, tenham uma importante função na mineralização da matéria orgânica nos solos e sedimentos.

Estas informações são confirmadas por Falkenberg (2000) que, citam as quinonas como agentes fortemente oxidantes em processos que, por exemplo, reduzem *p*-quinona à hidroquinona. Estas reações de oxi-redução são responsáveis pelo papel das quinonas como carreadores de elétrons nos processos metabólicos das células vivas.

Lovley et al. (2000), registraram a redução química de Fe(III), ao verificarem a capacidade de microrganismos hipertermófilos de transferirem elétrons para substâncias húmicas e quinonas extracelulares. A antraquinona-2,6-disulfonato (ADQS) atuou como uma ponte entre o microrganismo e os óxidos de Fe(III). Concluíram que a habilidade de reduzir quinonas extracelulares é uma característica de todos os organismos estudados, e os resultados sugerem que a transferência de elétrons para as quinonas extracelulares e o Fe(III) foram passos iniciais na evolução da cadeia transportadora de elétrons intracelular, que emprega quinonas e proteínas contendo ferro. Estudos de Mazellier e Bolte (1997), corroboram com estas idéias; investigando o processo redox entre 2,6-dimetilfenol (DMP) e o

Fe(III) em solução aquosa, verificaram que a oxidação é uma transferência de elétrons do DMP para o cátion. Foi registrada ainda a oxidação do 2,6-dimetilhidroquinona à 2,6-dimetilbenzoquinona por meio do Fe(III).

Theil et al. (2000), elucidaram alguns pontos sobre a entrada e a saída do ferro nas células vivas de plantas, animais e microrganismos. Caracterizam a ferritina como sendo única, entre as proteínas, que controlam a fase de transição reversível do íon ferro (do íon metálico em solução para a fase sólida). A química da entrada, oxidação, translocação, mineralização e saída de Fe da ferritina são separadas no tempo e no espaço e, os 5 sítios onde ocorrem são representados na Figura 1 e 2.

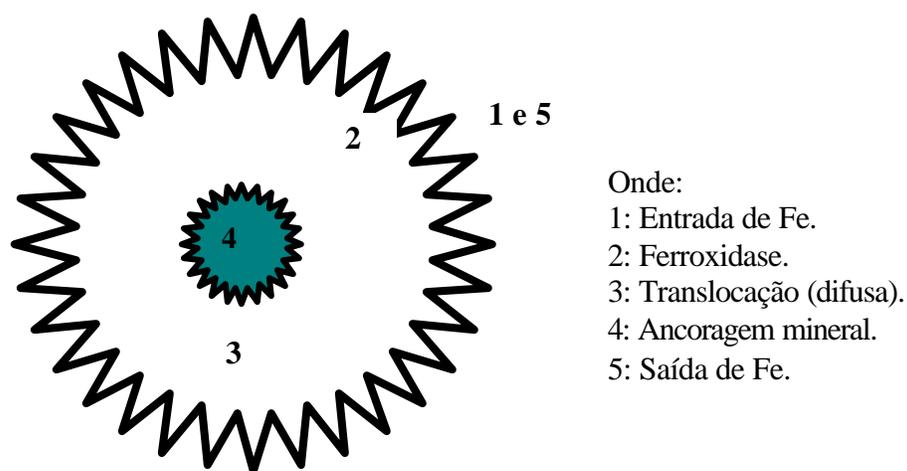


Figura 1: Estrutura da ferritina (esquema):

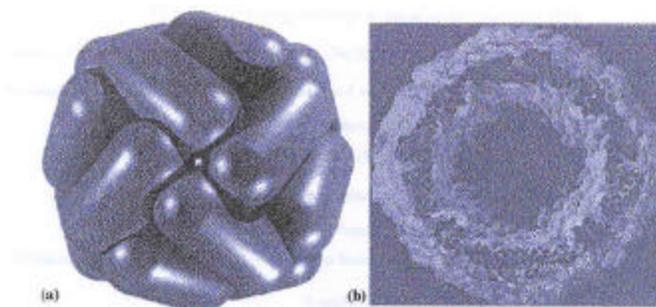


Figura 2: Fotografia supramolecular da estrutura da ferritina (Theil et al., 2000).

(a) Visão tridimensional da ferritina. (b) Corte da ferritina mostrando a cavidade interna e a capa de proteína. As colunas de polipeptídio são expostas para mostrar a formação das quatro hélices.

Os mesmos autores comentam que a ferritina é uma resposta à muitos pontos que não se coadunam entre a solubilidade do ferro e o requerimento para a biossíntese de proteínas. Este trabalho é o início da compreensão da atividade das enzimas diférricas, do transporte de íons metálicos através de barreiras orgânicas, da evolução das metaloproteínas estruturais e da biomineralização.

Johnson (2001), registra que o estudo da ecologia microbiana em ambientes ricos em metais tem fornecido fundamentos para o desenvolvimento de tecnologias de processamento de minérios. A vida microbiana nestes ambientes é muito diversificada, com novos gêneros e espécies sendo descobertos continuamente. Evidencia ainda que a presença de consórcios microbianos é mais freqüentemente encontrada nos locais de bioprocessamento de minérios, do que organismos isolados.

Muitos trabalhos envolvendo a biolixiviação de minerais e o branqueamento de caulins tem sido conduzido em vários países, em escala experimental, na tentativa de caracterizar os fatores físicos e/ou químicos que regem a cinética do processo.

Ehrlich e Brierley (1990), mostram como a dissolução de minerais por microrganismos tem sido explorada comercialmente em processos de biolixiviação de metais, a partir de minérios ou na concentração de minérios (enriquecimento). Este trabalho descreve, por exemplo, a biolixiviação de Zn, Pb, Ag, Sb, Mo, Co, Ni, Ga, Mn, Cr, Va, Se e aluminossilicatos.

Breed e Hansford (1999), estudaram a cinética da oxidação de ferro ferroso por *Thiobacillus ferrooxidans*, em função da relação ferro férrico/ferro ferroso. Dessa forma, a lixiviação química do ferro férrico do mineral e a oxidação bacteriana do ferro ferroso estão ligadas ao potencial de oxi-redução e estarão em equilíbrio quando a taxa de ferro entre o mineral e a bactéria estiver balanceada. De acordo com os modelos matemáticos desenvolvidos pelos mesmos autores, pode-se detectar quais espécies microbianas irão predominar durante o bioprocessamento além de determinar qual o grau de eficiência dos biorreatores utilizados em processos de biolixiviação.

Bezkorovainy et al.(1996), caracterizaram o metabolismo do ferro, por *Bifidobacterium* sp, encontrada no trato gastrintestinal dos animais, e prevenindo a instalação de patógenos. Estas bactérias são Gram (+), anaeróbias microaerófilas e capazes de assimilar Fe^{2+} à um pH de 5,0-6,5. Dependendo da concentração de Fe, a captura de Fe é mais eficiente em células crescendo em meio deplecionado de metal. Existem dois sistemas operando: um operando à baixas concentrações externas de Fe e outro, em altas concentrações.

4.3-Branqueamento de Caulim e Remoção de Ferro

Para aplicações industriais mais modernas, o caulim deve ser refinado e processado para alcançar as características industriais ideais. No caso da indústria de papel, um dos principais consumidores, a principal característica apresentada pelo caulim é o seu grau de brancura. Esta brancura é reduzida pelo aumento do conteúdo de ferro e, os processos empregados para melhorar esta característica do produto mineral, são classificados como físicos, químicos ou a combinação de ambos (Mesquita et al., 1996; Raghavan et al., 1997).

As interações entre mineral e microrganismos foram estudadas para aplicações em grande escala, através de processos de biolixiviação (Tuovinen,1990) e de biorremediação (Gomes et al.,1998). O branqueamento de argilas tem sido obtido, baseado nestas pesquisas anteriores.

Groudev (1987), apresentou um processo para a remoção biológica do ferro presente em materiais como caulins, areia de quartzo e argilas comuns, adotando um processo de lixiviação. Nesse trabalho, ele usou, principalmente, raças de *Aspergillus niger*. O meio de cultivo continha melado de cana de açúcar, como fonte de carbono e energia. O processo de lixiviação foi conduzido em tinas ácido-resistentes, agitadas durante 1-5 horas. O conteúdo de ferro foi reduzido de 0,035-0,088% para menos de 0,012% de Fe_2O_3 (satisfatório para a preparação de vidro de alta qualidade). Nos caulins, o conteúdo de ferro foi reduzido de 0,65-1,49% para 0,44-0,75% Fe_2O_3 , aumentando a brancura dos mesmos. Nas argilas comuns, o conteúdo ferro foi reduzido de 6,25 para 1,85% de Fe_2O_3 , aumentando sua resistência à queima.

De acordo com Alexander (1994), este processo pode ter uma fase denominada de cometabolismo, termo aplicado quando um substrato, que não é usado para o crescimento microbiano, é metabolizado na presença de um segundo substrato que é usado para dar suporte à sua multiplicação.

Lee et al. (1999), citam que o ferro é um dos mais abundantes metais de transição com estados de oxi-redução alternados que, facilmente ocorrem no subsolo, em solos submersos e em sedimentos aquáticos. A oxi-redução do ferro é simples de se observar porque as formas oxidadas de ferro (Fe^{3+}) são insolúveis e as formas reduzidas (Fe^{2+}) são solúveis. Até o século XIX, a redução do Fe (III) em ambientes naturais, era tida como resultado de um processo não enzimático, porque não se conheciam microrganismos que obtinham energia a partir da completa oxidação da matéria orgânica à CO_2 , utilizando o Fe(III) como aceptor de elétrons. Entretanto, atualmente têm sido isolados vários gêneros como *Pseudomonas* sp., *Shewanella putrefaciens*, *Geobacter metalreducens*, *Desulfuromonas acetoxidans*, *Desulfovibrio* sp. e *Bacillus* sp que realizam esse tipo de metabolismo. Estes mesmos autores observaram a remoção biológica de Fe contido em argilas. Usaram como doadores de elétrons a glicose, a sacarose e a maltose em concentrações que variaram de 1% a 5%, em peso (açúcar/argila). Os biorreatores foram incubados a 30°C. A concentração de açúcares que promoveu maior remoção de Fe (45%), foi à 5% e a sacarose foi a mais eficiente forma de açúcar.

Taxiarchou et al. (1997), com o objetivo de otimizar os parâmetros do processo de remoção do Fe de areias silicosas, para atingir alto grau de remoção de Fe à um mínimo custo operacional, apresentaram resultados obtidos com o ácido oxálico. Os parâmetros estudados foram: pH da solução, concentração de oxalato e adição de íons

ferrosos. O máximo de remoção de Fe obtido foi de 40% com temperatura entre 90°C e 100°C, sendo que, abaixo de 80°C a extração atingiu 30%. A dissolução de Fe foi afetada pelo pH e independe da concentração de oxalato e da densidade da polpa. Sem a adição de Fe²⁺, a extração de Fe é otimizada por soluções acidificadas, enquanto que a adição de Fe²⁺ promoveu melhores resultados em pH-3. Citam ainda que, à 10°C, com adição de 10 mg/L de Fe²⁺ à solução inicial e oxalato à 0,2 M, 30% do Fe foi removido em 5 dias.

Veglio et al. (1998), também relatam os resultados de trabalhos envolvendo o uso de ácido oxálico e ácido sulfúrico, na remoção de ferro de minerais industriais quartzíferos. A remoção atingiu um valor de 35-45% do Fe contido no material original, quando se usou o ácido oxálico à 3 kg/t e o ácido sulfúrico à 2 kg/t, sob temperatura de 90°C, durante 4 a 5 horas. Sem o ácido oxálico a remoção do Fe atingiu a faixa de 3% a 9%, em função da concentração de ácido sulfúrico. Em outro trabalho, Veglio (1997), obteve o branqueamento do caulim usando tio-uréia em solução de ácido sulfúrico. A maior extração de Fe (94%), foi obtida após 2,5 h de tratamento à 90°C em uma solução de ácido sulfúrico à 0,25 M, com a adição de 10 g/L de tio-uréia.

Ubal dini et al. (1996), trabalharam com o objetivo de reduzir o teor de Fe contido em areias quartzosas, para torná-la satisfatória para usos industriais. Verificaram que as melhores condições para a remoção do Fe contido nas areias testadas foram: concentração de ácido oxálico de 16 g/L, pH da solução igual a 2,5 sob uma temperatura de 80°C e tempo de tratamento de 8 dias. Os custos do tratamento não foram determinados.

Cameselle et al. (1995), analisaram a eficiência do branqueamento biológico de um tipo de caulim com altos teores de óxidos de ferro. Verificaram que a remoção de Fe foi de 43% sob uma temperatura de 60°C durante 5 horas e o índice de

branqueamento aumentou para 67%. Neste trabalho, foi utilizado um líquido resultante da fermentação de um meio de cultura por *Aspergillus niger*, como agente lixiviante. Concluíram ainda que, a lixiviação de Fe não ocorreu devido as enzimas extracelulares mas sim, devido aos ácidos orgânicos produzidos durante a fermentação do meio. O pH igual a 2, preveniu a precipitação do Fe solubilizado durante o processo.

Na Itália, Veglio e Toro (1994), trabalharam no desenvolvimento de um processo de branqueamento de caulim sob pressão, utilizando fontes de carboidratos em meio ácido. Eles propuseram o uso de carboidratos na remoção de ferro presente no caulim, por ser mais econômico que outras substâncias. Por outro lado, afirmam que o efeito positivo da extração de ferro pela sacarose, é obtido apenas em temperaturas relativamente altas, envolvendo o branqueamento do caulim sob pressão, com um aumento nos custos. As temperaturas adotadas foram 100°C e 120°C. Duas concentrações de sacarose (0 e 4 g/L) foram adotadas na presença de duas concentrações de ácido sulfúrico (0,1 e 0,5 M). Citam ainda que a extração de ferro não está relacionada ao pH, pois, este é extremamente similar para os tratamentos com e sem sacarose. A presença de sacarose aumentou a extração de Fe e foi maior na presença do menor nível de ácido sulfúrico (0,25 M). A idéia do trabalho parece ter sido a de reduzir a quantidade de ácido usado na remoção do ferro do caulim para reduzir os custos. Neste estudo não é citada a função dos microrganismos no processo de remoção do ferro.

Em um dos trabalhos mais recentes, no Brasil, Mesquita et al. (1996), conduziram um processo de branqueamento de caulins no CETEM-Rio de Janeiro, usando ácidos orgânicos obtidos em meios de cultura fermentados por uma raça do fungo *Aspergillus niger*, isolada de um tipo de talco. Os ácidos cítrico e oxálico são registrados como os de

melhor desempenho em processos de branqueamento de caulins, quando comparados com o ácido acético, láctico e ascórbico. Os melhores índices de branqueamento foram obtidos quando se usou o ácido oxálico sintético e o filtrado do meio de cultura fermentado. Ainda neste trabalho, não foi registrado qual o destino final para o líquido de lixiviação.

Cameselle et al. (1997), obtiveram o branqueamento de um caulim do norte da Espanha, através da utilização de três ácidos orgânicos: o ácido cítrico, o ácido glucônico e o ácido oxálico. Os dois primeiros removeram pequenas quantidades de óxidos de ferro do caulim que, segundo os autores, não são adequados para um processo em larga escala. O ácido oxálico, por sua vez, solubilizou todo o ferro lixiviável presente no caulim, o qual atingiu um índice de brancura de 80%, tornando-o satisfatório para aplicações industriais básicas. Nesse trabalho ainda, os autores não demonstram os custos deste tratamento com ácido oxálico, e recomendam ainda que, uma possibilidade atraente para a produção desse ácido, é a sua obtenção através da fermentação de vários resíduos industriais através de várias espécies de fungos filamentosos.

Styriaková e Styriak (2000), trabalhando com a remoção de Fe de 3 amostras de caulins, na Eslováquia, registraram a atividade de dissolução de Fe por raças de *Bacillus cereus*. O bioprocessamento foi conduzido em laboratório com 10g de caulim em erlenmeyer de 300 mL, contendo 100 mL de meio modificado de Bromfield, inoculado com raças de *Bacillus cereus*. O meio de Bromfield foi trocado a cada 7 dias(para 2 amostras de caulim) e mensalmente para a terceira amostra. Os resultados mostraram que as bactérias removeram 43% do Fe livre sob a forma amorfa de oxihidróxido, após 1 mês de processamento biológico. A remoção de 53% de Fe, numa terceira amostra, ocorreu após um período de 3 meses de bioprocessamento.

Na Índia, Anand et al. (1996), demonstraram a remoção de todo o cálcio e, em torno de 45% do ferro contido na bauxita, por bactérias da espécie *Bacillus polymyxa* e, na presença de 2% de sacarose em meio de Bromfield. Sem a bactéria, a remoção de cálcio e ferro, caiu pela metade. O tempo do processo foi de 1 semana. Citam ainda que, o ataque direto, bem como, a ação indireta do microrganismo, tem uma função muito importante no biobenefício de minerais. Fica evidente que a adesão da bactéria ao mineral é um pré-requisito essencial para o ataque direto e que, os exo-polissacarídeos presentes em torno da célula, facilita a adesão e a subsequente captura de cálcio e ferro da matriz mineral.

5- MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido no laboratório de geoquímica do Departamento de Recursos Naturais da Faculdade de Ciências Agronômicas-UNESP LAGEADO, Botucatu(SP).

Foi utilizado como material básico de estudo, a argila do tipo caulinita, obtida na região de Botucatu(SP), localizada à 22°51' S e 48°26' W com uma altitude de 786m. O clima é classificado como Cwa (temperado quente) com temperatura e precipitação pluviométrica média anual, de 20,5°C e 1533,2mm, respectivamente (Cunha, 2001).

Vários experimentos foram conduzidos com o objetivo de determinar os níveis ideais para os parâmetros que pudessem influir no branqueamento do caulim como a concentração de sacarose, relação C:N:P, relação água:substrato, temperatura, além da determinação da natureza biológica do processo, a seguir apresentados:

Experimento 1: Determinação da concentração ideal de sacarose em relação ao substrato.

Experimento 2: Comprovação da natureza biológica do processo de branqueamento.

Experimento 3: Determinação da relação C:N:P com maior poder de ativação do processo.

Experimento 4: Determinação do ponto ótimo para a relação água:substrato.

Experimento 5: Determinação da temperatura ótima para o processo.

5.1-Experimento 1: Determinação da concentração ideal de sacarose em relação ao substrato.

Para este experimento, foram adotadas concentrações de sacarose (em relação ao substrato) variando de 0,0% a 8,0 %, sendo de 0,5%, a distância entre os pontos.

Foram utilizados 34 biorreatores previamente sanitizados, com capacidade de 2000cm³. Cada biorreator recebeu 500g de argila e o volume remanescente foi completado com uma solução de sacarose na concentração predeterminada. 17 biorreatores receberam esta solução após sua esterilização em autoclave à 120°C e 1 atm, durante 20 minutos. Os demais não tiveram a solução esterilizada. Após a identificação dos biorreatores, os mesmos foram incubados sob temperatura ambiente para que o processo de branqueamento tivesse início.

5.2-Experimento 2: Comprovação da natureza biológica do processo de branqueamento.

Para este experimento, foi adotada a concentração de sacarose que promoveu uma maior aceleração do processo de branqueamento, obtida no experimento 1.

Foram utilizados 9 biorreatores previamente limpos, com capacidade de 2000cm³. Cada biorreator recebeu 500g de argila e o volume remanescente foi completado com uma solução de sacarose na concentração de 4,5%(m/m). A esterilização da solução foi efetuada em autoclave à 120°C e 1 atm, durante 20 minutos. Três biorreatores receberam argila não esterilizada (tratamento-1), 3 receberam argila esterilizada nas condições acima descritas, de acordo com Lee et al. (1999) (tratamento-2) e, os 3 restantes receberam argila esterilizada na temperatura e pressão acima citadas porém, durante um período de 1 hora, segundo Goldoni (1992) (tratamento-3). Após a identificação, os biorreatores foram incubados sob temperatura ambiente.

5.3-Experimento 3 Determinação da relação C:N:P com maior poder de ativação do processo.

Para este experimento, foi adotada a concentração de sacarose que promoveu uma maior aceleração do processo de branqueamento, obtida no experimento 1.

Foram utilizados 10 biorreatores previamente limpos, com capacidade de 670cm³. Cada biorreator recebeu 250g de argila não esterilizada e o volume remanescente foi completado com uma solução de sacarose na concentração de 4,5%(m/m). Foram adotados 5 tratamentos, definidos de acordo com os seguintes níveis da relação C:N: 250:1, 500:1, 750:1, 1000:1 e a testemunha(apenas sacarose). Como fonte de carbono e nitrogênio usou-se a sacarose (C₁₂H₂₂O₁₁) e o cloreto de amônia (NH₄Cl), respectivamente. Com o objetivo de estabelecer também uma relação N:P de 5:1, foi usado como fonte de fósforo o DAP

[(NH₄)₂HPO₄]. Com estas fontes foram obtidas as quantidades de C, N e P para constituir as relações requeridas para C:N e N:P. Os cálculos mostraram que 0,374g de cloreto de amônia somados a 0,10g de DAP, forneceram 0,118175g de N e 0,023485g de P e, assim, estabelecia-se a relação N:P de 5:1. Para estabelecer-se as diferentes relações C:N requeridas, fixando-se o valor de C, calculou-se o volume da solução de DAP + cloreto de amônia, a ser adicionado nos biorreatores que constituíram cada tratamento. Os cálculos mostraram que o DAP fornece 21,21% de N e 23,485% de P, o cloreto de amônio fornece 25,926% de N e a sacarose, 42% de C. Todos os tratamentos receberam 11,25g de sacarose mantendo assim, a concentração de 4,5% (m/m) da mesma em relação ao substrato.

5.4-Experimento 4: Determinação do ponto ótimo para a relação água:substrato.

Para este experimento, foi adotada a concentração de sacarose que promoveu uma maior aceleração do processo de branqueamento, obtida no experimento 1.

Foram utilizados 18 biorreatores previamente sanitizados, com capacidade de 670cm³. Cada biorreator recebeu 200g de argila não esterilizada e o volume remanescente foi completado com uma solução de sacarose na concentração de 4,5%(m/m). Adotou-se a melhor relação C:N:P obtida no experimento 3 e a relação água:substrato foi definida entre 0,5:1 e 3:1. Os tratamentos ficaram assim caracterizados:

Tratamentos	Água:Caulim	Água [mL]	Caulim [g]	Sacarose [g]
1	3,0:1	600	200	9
2	2,5:1	500	200	9
3	2,0:1	400	200	9
4	1,5:1	300	200	9
5	1,0:1	200	200	9
6	0,5:1	100	200	9

Após a identificação, os biorreatores foram incubados sob temperatura ambiente.

5.5-Experimento 5: Determinação da melhor temperatura para o desenvolvimento do processo de branqueamento de caulim.

Neste ensaio foram usados 10 biorreatores com capacidade de 670 cm³. Cada um recebeu 200g de argila não esterilizada e, o volume restante foi completado com solução de sacarose à 4,5% (m/m), em relação ao substrato. Os nutrientes N, P foram adicionados, de acordo com os resultados obtidos no experimento 3. Os tratamentos foram caracterizados em função das seguintes temperaturas testadas: 40°C, 35°C, 30°C, 25°C e 20°C. Para cada temperatura, 2 biorreatores foram testados.

Antes e após o bioprocessamento, o material de estudo foi submetido às seguintes análises:

- a) Determinação do teor de Ferro Total (espectrofotômetro por absorção atômica).
- b) Determinação da superfície específica e volume de poros (BET).
- c) Difractometria de raios-X.

A taxa de branqueamento determinada em cada experimento foi caracterizada, em função de um escala de branqueamento elaborada especificamente para este trabalho. Esta escala foi constituída de acordo com o Quadro 3 e registrada na Figura 3.

Quadro 3: Escala de branqueamento de caulim através da mistura homogênea entre caulim original e caulim branqueado, em percentagem.

Caulim Original (g)	Caulim Branqueado (g)	Taxa de Branqueamento (%)
20	0	0
19	1	5
18	2	10
17	3	15
16	4	20
15	5	25
14	6	30
13	7	35
12	8	40
11	9	45
10	10	50
9	11	55
8	12	60
7	13	65
6	14	70
5	15	75
4	16	80
3	17	85
2	18	90
1	19	95
0	20	100



Figura 3: Escala de branqueamento de argila em níveis percentuais.

5.6 Análises

Foram realizadas as seguintes análises do caulim antes e depois do bioprocessamento: Difração de raios-X, Porosimetria por adsorção gasosa e Espectrometria de absorção atômica.

5.6.1. Difração de raios-X

A difração de raios-X foi obtida em um difratômetro com tubo de cobre, Carl Zeiss, modelo HZG/D. O comprimento de onda foi o da radiação $K_{\alpha}1Cu$ (1,54433), sob tensão de 40 kv e 30 mA de corrente. A porosimetria foi conduzida em um equipamento “Micromeritics”, mod. ASAP-2010 que utiliza o N_2 líquido à temperatura de 77°K. A espectrometria de absorção atômica foi realizada em um espectrofotômetro “Shimadzu”, mod. AA-6800, dotado de amostrador automático.

5.6.2. Espectrofotometria de Absorção Atômica (SAA)

- Determinação química do Ferro.

5.6.3. Porosimetria (BET)

- Determinação da superfície específica e volume de poros, da argila original e do biocaulim, obtida através das isotermas de adsorção física.

6-RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento-1

Neste ensaio foi registrado o tempo gasto para o processo se iniciar e a taxa da massa original branqueada (%), 24 h após o início do branqueamento e, os resultados obtidos são apresentados no Quadro-4.

Os resultados obtidos permitiram determinar a faixa ideal da concentração de sacarose, para que o processo de branqueamento fosse bem sucedido.

Quando se adotou material esterilizado (biorreatores 1 à 17), o branqueamento do caulim foi mais rápido usando-se as concentrações de sacarose de 4,5% e 5,0%. Em ambas, o início do branqueamento deu-se no 5º dia após a instalação do experimento e, a taxa de branqueamento verificada, 24 h após o início do processo, foi de 80% e 90%, respectivamente.

Para os tratamentos com material não esterilizado, o início do processo ocorreu no 6º dia, para as concentrações de sacarose igual a 4,5% e 5,0%.

Quadro 4: Tratamentos adotados para o branqueamento biológico de argilas, início e taxas de branqueamento.

Biorreator	Concentração de Sacarose (%)	Início do Branqueamento (dias)	Branqueamento⁽¹⁾ (%)
1	0,0	-	-
2	0,5	12	5
3	1,0	10	5
4	1,5	09	5
5	2,0	09	10
6	2,5	09	5
7	3,0	08	15
8	3,5	08	30
9	4,0	08	10
10	4,5	05	80
11	5,0	05	90
12	5,5	06	60
13	6,0	08	10
14	6,5	08	10
15	7,0	08	15
16	7,5	09	10
17	8,0	09	15
18	0,0	-	-
19	0,5	15	5
20	1,0	14	5
21	1,5	14	5
22	2,0	12	10
23	2,5	10	15
24	3,0	10	20
25	3,5	10	20
26	4,0	07	90
27	4,5	06	80
28	5,0	06	85
29	5,5	07	80
30	6,0	09	20
31	6,5	09	20
32	7,0	10	20
33	7,5	10	20
34	8,0	10	20

(1): 24 horas após o início do branqueamento.

- Biorreatores 1-17: água e solução nutritiva, esterilizados.
- Biorreatores 18-34: água e solução nutritiva, não esterilizados.

A taxa de branqueamento aqui obtida foi de 80% e 85%, respectivamente. Em seguida, tem-se os tratamentos com 4,0% e 5,5% de sacarose que promoveram o início do branqueamento no 7º dia, com uma taxa de branqueamento igual a 90% e 80%, respectivamente.

Aqui foi possível desenvolver o processo sem a necessidade da introdução de microrganismos no sistema. Além disso, a taxa máxima de branqueamento foi alcançada, inicialmente, com apenas 8 dias, registrando-se uma remoção de 41,43% do Fe contido no substrato original (Quadro 10).

Outros autores trabalhando com objetivos análogos, obtiveram resultados aquém dos obtidos no presente trabalho, com relação ao tempo de processamento, taxa de remoção de ferro, branqueamento do caulim e geração de subprodutos.

Sob esse aspecto, Veglio e Toro (1994), obtiveram uma remoção de todo o ferro contido em caulins, usando-se a sacarose (4 g.L^{-1}), porém, associada ao ácido sulfúrico (0,5 M). Apesar do tempo de remoção ter sido pequeno (1 h), reconhecem que há uma elevação considerável nos custos do processo e a geração de um efluente danoso ao ambiente.

Também resultados correlatos foram obtidos por Lee et al. (1998), que registraram como sendo ideal, as concentrações de 4,0% e 5,0% para os açúcares testados (sacarose, glicose e maltose). A sacarose foi o que apresentou uma maior remoção de Fe e o concomitante branqueamento da argila estudada. Estes autores obtiveram uma taxa máxima de branqueamento no 11º dia, removendo-se 45,4% do Fe contido no substrato original. Estes autores afirmam que a remoção de Fe aumenta com o aumento na concentração de açúcar, porém, avaliaram apenas 5 níveis dessa concentração. Pelos resultados obtidos no presente

trabalho, vê-se que a correlação entre a remoção de Fe e a concentração da fonte de carbono adotada, foi positiva até um determinado ponto. A partir daí a correlação foi negativa, ou seja, o excesso de carbono no meio inibiu o desenvolvimento do processo.

No Brasil, Mesquita et al. (1996), obtiveram 14,3% de remoção de Fe contido em caulins usando-se um filtrado de meios de cultura contendo *Aspergillus niger*, à 60°C. O tempo de processamento foi de 3h e o caulim teve que ser reprocessado três vezes, para permitir sua utilização pela indústria. No presente trabalho, vale ressaltar que, a remoção do Fe foi quase 3 vezes maior e com um único ciclo de processamento.

Ainda com relação aos dados apresentados (Quadro-4), observou-se que a esterilização da solução de sacarose foi prescindível visto que, nos tratamentos com material não esterilizado, o processo de branqueamento ocorreu de forma extremamente semelhante. Foi observada também a produção de gases ao longo do processo de branqueamento, que foram eliminados do sistema periodicamente. Estes foram identificados por Santos (2000) como oriundos do ácido butírico, ácido isobutírico, ácido propiônico, ácido acético, ácido valérico, ácido isovalérico e ácido capróico, sendo predominante, o ácido butírico.

Esta produção de gases permite inferir que ocorreram reações conjuntas de oxidação do açúcar e redução do Fe(III), com a sacarose atuando no processo como um doador de elétrons, como evidenciou em suas pesquisas, Lee et al. (1998).

Experimento-2

Neste ensaio, análogo ao anterior, foi registrado o tempo gasto para o processo se iniciar e a taxa da massa original branqueada (%), 24 h após o início do mesmo. Os resultados obtidos constam do Quadro-5.

Quadro 5: Início e taxa de branqueamento de caulim em função da esterilização ou não do substrato.^(*)

Tratamentos	Início do branqueamento (dias)	Taxa de branqueamento (%) ¹
1	8	85
2	-	-
3	-	-

(1): 24h após o início do branqueamento.

(*): Todos os tratamentos receberam solução esterilizada.

Este experimento permitiu a comprovação da natureza biológica do bioprocessamento do caulim estudado.

Apenas o tratamento-1 recebeu argila não esterilizada, sendo o único tratamento a promover um bom desenvolvimento do processo de branqueamento.

Os biorreatores que compunham os tratamentos 2 e 3 permaneceram inalterados durante todo o período em que foram mantidos fechados (2 meses), sem produção de gases ou alteração da cor do substrato. A autoclavagem do substrato inibiu totalmente a atividade microbiana no sistema. Já nos biorreatores do tratamento-1, a produção perceptível de gases teve início no 6º dia de incubação e o branqueamento do substrato, no 8º dia. A taxa de branqueamento média registrada foi de 85%.

Estes resultados mostraram que a redução do Fe(III) foi um processo de natureza biológica e os agentes microbianos redutores eram autóctones.

Os resultados obtidos nos experimentos 1 e 2 tornaram-se referência para a determinação de outros componentes da cinética do bioprocessamento de caulins, no decorrer dos trabalhos.

Outros autores como Mesquita et al. (1996), Ryu et al. (1995) e Lovley et al. (1999), adotaram a inoculação artificial de microrganismos redutores de Fe(III), dispensando, evidentemente, este teste comprobatório da natureza biológica do processo.

De uma forma surpreendente, apenas os trabalhos dos italianos Veglio e Toro (1994), não contemplaram a averiguação da natureza biológica do processo. Obtiveram o branqueamento de caulins usando sacarose, sem confirmar ou negar a presença de microrganismos atuando no processo. Esta informação seria imprescindível para que este trabalho se alinhasse a tantos outros, no desenvolvimento de tecnologias brandas, como é o caso do branqueamento biológico de caulins.

A dissolução redutiva de minerais de óxido de ferro foi muito estudada, sob o ponto de vista biológico, na tentativa de se caracterizar os mecanismos básicos envolvidos. Trabalhos como os de Lovley et al. (2000), por exemplo, registraram a redução química de Fe(III) após a transferência de elétrons, do microrganismo para as substâncias húmicas e quinonas. A antraquinona atuou como uma ponte entre o Fe(III) e a bactéria *Pyrobaculum islandicum*.

Theil et al. (2000), evidenciaram a importância do transporte de íons metálicos através de barreiras orgânicas, realizado pela proteína chamada de ferritina, a única proteína que controla a translocação de ferro em células vivas.

Estes resultados só acentuam a importância do presente trabalho e dos testes aqui executados, além de fornecer bases para o desenvolvimento das reações

observadas, ajudando a entendê-las. Foi o caso, por exemplo, do substrato contido em alguns biorreatores não terem atingido o máximo de branqueamento possível. Isto pode ser devido ao fato do Fe estar presente em diferentes formas; umas mais solúveis do que outras. Outra explicação é o Fe existente na superfície das partículas de caulim ser facilmente dissolvido, enquanto o Fe presente no interior destas partículas ter uma taxa de dissolução muito baixa.

Fortalecendo este ponto de vista, Cameselle et al. (1995), citam que a lixiviação de Fe, a partir do caulim, é devida à ação de certos metabólitos microbianos tais como os ácidos orgânicos presentes no meio. No presente trabalho, vários ácidos orgânicos foram identificados, reforçando este componente da cinética do processo (Santos, 2000).

A partir destes resultados, algumas bactérias foram isoladas do material original para posterior identificação, de acordo com Goldoni, 1992, e permanecem acondicionadas em geladeira à 10°C, no Departamento de Ciências Ambientais da FCA-UNESP. As mesmas foram isoladas no meio de cultura SINA (Soil Infusion Nutrient Agar) - (Fig. 5).



Figura 4: Colônias de bactérias isoladas em SINA a partir de argila.

Experimento-3

Neste experimento também foi registrado o tempo gasto para o processo se iniciar e a taxa da massa original branqueada (%), 24 h após o início do mesmo (Quadro-6).

Quadro 6: Início e taxa de branqueamento de caulim em função da relação C:N:P.

Tratamentos	Início do branqueamento (h)	Taxa de branqueamento (%)¹
1 – Controle	120	80
2 – 250:1:0,2	72	85
3 – 500:1:0,2	86	70
4 - 750:1:0,2	96	60
5 - 1000:1:0,2	96	60

(1): 24h após o início do branqueamento.

O que se verificou, com os resultados obtidos, foi uma drástica redução no tempo para o início do branqueamento do caulim, principalmente quando se adotou a relação 250:1:0,2 (tratamento-2), com o tempo de 72h. Em relação à testemunha, houve uma redução de 40% no tempo de processamento. Somente 14 horas mais tarde ocorreu o início do processo no tratamento-3, seguido pelo tratamento-4 (96h) e 5 (96h).

Ao final do 4º dia de processamento, foi avaliada a taxa de branqueamento para todos os tratamentos. À exceção do tratamento-1 (controle), os demais apresentaram uma secção do biorreator, a partir da superfície superior, com a massa de caulim branqueada. A faixa branqueada, para o tratamento-2 foi de 8mm, para o tratamento-3 foi de 4mm, para o tratamento-4 e 5 foi de 1mm. Pontos de branqueamento do caulim foram registrados em toda a massa original, ocorrendo, porém, em nº e tamanho, de modo

progressivamente decrescente, a partir do tratamento-2. A Figura 6 caracteriza o fato ocorrido neste experimento.

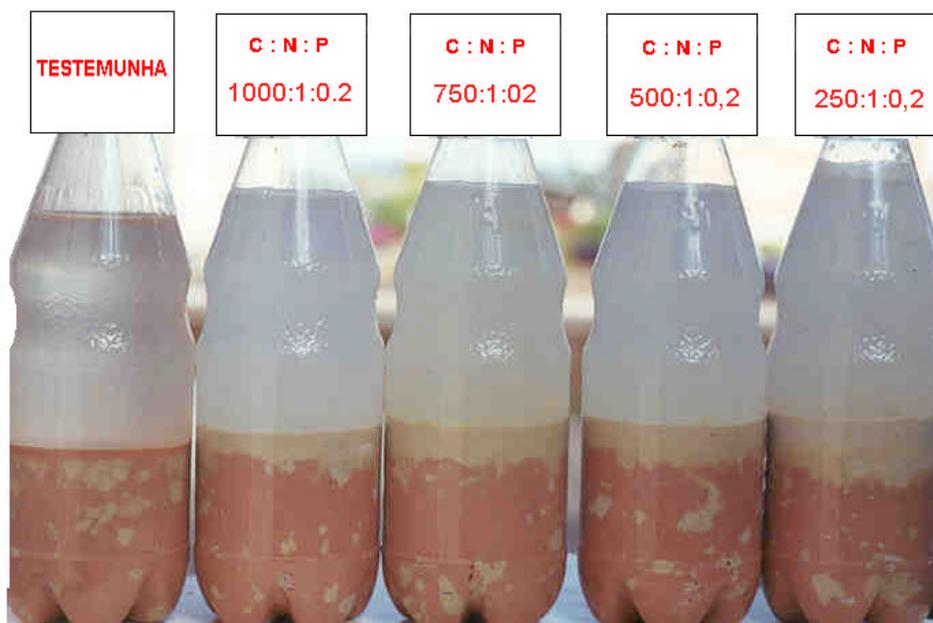


Figura 5: Gradiente de branqueamento de caulim para diferentes níveis da relação C:N:P.

Estes resultados complementam aquele obtido no experimento-1. Não só o excesso de carbono no meio inibiu o desenvolvimento do processo de branqueamento do caulim. Pelo que se verificou, também o aumento na relação do mesmo com outros elementos, retardou drasticamente o desenvolvimento do referido processo.

Kouno et al. (1999), citam que mudanças na relação entre elementos minerais no solo (principalmente C, N e P), afeta a formação da biomassa microbiana (reduzindo-se a taxa de N no meio, reduziu-se também a taxa de C e P na biomassa microbiana). Citam ainda que, a adição de açúcar, aumenta o teor de P na biomassa microbiana, estando este elemento disponível.

De fato, no presente trabalho, quando se aplicou a menor taxa de N (relação C:N igual a 1000:1), o desenvolvimento microbiano e a eficiência do processo foram drasticamente reduzidos, mesmo mantendo-se constante, a taxa de carbono.

Experimento-4

Foi registrado o tempo gasto para o processo se iniciar e a taxa da massa original branqueada (%), 24 h após o início do mesmo e os resultados constam do Quadro-7.

Quadro 7: Início e taxa de branqueamento de caulim em função da relação água:caulim.

Tratamentos	Relação água:caulim	Início do branqueamento (dias)	Taxa de branqueamento (%)¹
1	3,0 : 1	4	85
2	2,5 : 1	5	85
3	2,0 : 1	5	80
4	1,5 : 1	9	60
5	1,0 : 1	10	40
6	0,5 : 1	10	40

(1): 24h após o início do branqueamento.

Os resultados apresentados no quadro-7 mostram as diferenças entre os tratamentos para os parâmetros avaliados.

A relação água:caulim igual a 3:1 promoveu o início do branqueamento no 4^o dia de incubação, com uma taxa de branqueamento de 85%. No 5^o dia teve início o branqueamento do caulim nos tratamentos 2 e 3, com uma taxa de branqueamento de 85% e 80%, respectivamente. O tratamento 4 apresentou início do branqueamento no 9^o dia de incubação.

Os tratamentos menos eficientes foram aqueles com a relação água:caulim igual a 1:1 e 0,5:1. Ambos promoveram o início do branqueamento do caulim, apenas no 10º dia, com uma taxa de branqueamento de 40%.

Mesmo não contemplando exclusivamente este parâmetro, alguns trabalhos mostram a sua variabilidade de uso e a priorização de estudo de outros fatores. Por exemplo, Styriaková e Styriak (2000), adotaram uma relação água:caulim de 10:1 obtendo-se uma remoção de Fe igual a 15%, após 30 dias de processamento.

Cameselle et al. (1995), em estudos similares obtiveram uma remoção de Fe igual a 40%, durante 11h de processamento do caulim com ácido oxálico e ácido cítrico; a relação água:caulim utilizada foi de 6,3:1.

Em outro trabalho, Lee et al. (1999), adotou a relação água:caulim igual a 5:1 e obtiveram uma remoção de 45% do Fe contido no substrato original, durante 11 dias de processamento. Mesquita et al. (1996) usaram uma relação de 10:1, usando filtrado de meio fermentado como agente redutor de Fe, obtendo uma remoção de Fe igual a 14,3%.

Experimento-5

Registrou-se o tempo gasto para que o processo tivesse início e a taxa de branqueamento (%) e os resultados constam do Quadro-8.

Quadro 8: Início e taxa de branqueamento de caulim em função da temperatura de incubação

Tratamentos	Temperatura (°C)	Início do branqueamento (h)	Taxa de branqueamento (%) ¹
1	40	-	-
2	35	40	90
3	30	36	90
4	25	120	60
5	20	240	10

(1): 24h após o início do branqueamento.

Quanto à temperatura, várias réplicas foram conduzidas em paralelo para se verificar o efeito da agitação ou não do biorreator além da inoculação ou não do mesmo. O que se registrou foi um aumento na velocidade do processo de branqueamento. Por exemplo, à 35°C, quando se adicionou macronutrientes, inóculo ativo e procedeu-se a uma agitação manual do biorreator, o início do branqueamento ocorreu 24 h após o fechamento do mesmo.

Entretanto, este branqueamento poderia ter sido contínuo a partir da inoculação, apenas não era visível. Isto foi comprovado quando alguns biorreatores receberam inóculo, em um volume tal que estivesse visível desde o início e sem a agitação efetuada anteriormente. Desta forma, verificou-se um aumento no volume do substrato branqueado, progressivamente, sem um período inicial de ativação.

Neste trabalho, a agitação dos biorreatores não se destacou como um fator importante no branqueamento do caulim, visto de forma isolada. Cameselle et al. (1995), também chegaram à mesma conclusão. A agitação teve apenas a função de manter as partículas de caulim em suspensão, que assim, pode maximizar o efeito de outros fatores como a temperatura.

Os resultados obtidos neste experimento foram fundamentais para início do processo, com 36 horas de incubação. Já à 35°C, este início ocorreu com 40 h de incubação. Ambos os tratamentos (30°C e 35°C) produziram uma taxa de branqueamento igual a 90%.

Em baixas temperaturas (25°C e 20°C), a taxa de branqueamento obtida foi pequena e o tempo para o início do processo, muito elevado (120h e 240h, respectivamente).

Com relação às temperaturas, trabalhos de outros autores mostraram que, o ponto ideal é extremamente variável e dependente da natureza do processo, seja ele químico ou biológico. Lee et al. (1999), por exemplo, conseguiram uma remoção de Fe igual a 45% em temperatura de 30°C, durante 11 dias de processamento.

Mesquita et al. (1996), obtiveram o branqueamento do caulim em temperatura de 60°C, usando os ácidos oxálico e cítrico, além do filtrado de um meio de cultura fermentado por *A. niger*.

Veglio et al. (1998), trabalhando em temperatura de 90°C, obtiveram uma remoção de 45% do Fe contido em quartzo, usando-se o ácido oxálico associado ao ácido sulfúrico, com 5h de tratamento.

Cameselle et al. (1995), obtiveram maiores taxas de remoção do Fe, em temperatura de 60°C. À 30°C e 45°C, os valores para a remoção do Fe foram bem menores. De qualquer forma, foram estes autores que mostraram, matematicamente, que o fator abiótico mais importante num processo de remoção de Fe de caulins é a temperatura.

6.1 Análises

Foram realizadas as seguintes análises do caulim antes e depois do bioprocessamento: Difração de raios-X, Porosimetria por adsorção gasosa e Espectrometria de absorção atômica.

6.1.1 Difração de raios-X

Pela difração de raios-X a caulinita se apresenta com predominância absoluta, apresentando praticamente todos os seus picos de identificação (7,18; 3,58; 2,38;1,79), inclusive aqueles de menor intensidade(2,50; 2,29; 1,66; 1,62). Esta predominância se evidencia pela forma bem definida dos picos principais, pontiagudos e com base estreita, caracterizando alto grau de cristalinidade da mesma.

De acordo com Paccola (2001)^{*}, este material tem sua gênese a partir de material feldspático transportado de regiões distantes para a bacia do rio Paraná, provavelmente da serra da Canastra. Esta constatação é inédita, já que nos mapeamentos geológicos não são contemplados, merecendo portanto uma pontuação em novo mapeamento. Junto com a caulinita verifica-se a presença em menor intensidade de micas (2,34; 2,76; 3,14; 3,86; 4,37) e vermiculita (14,57; 7,85; 2,62).

Ressalta-se a presença de Goethita (2,45; 2,69; 4,18), como principal componente dos óxidos de ferro, que dá a cor avermelhada à massa de argila original. Esta presença de óxidos de ferro é que impede o uso de alguns caulins na indústria de papel (“filing” ou “coat”), cerâmica, cargas para tintas, dentre outras aplicações.

^{*} **PACCOLA, A. A.** (Faculdade de Ciências Agrônomicas, UNESP-Câmpus de Botucatu). Comunicação pessoal.

Quanto à argila branqueada (biocaulim), a remoção do ferro é constatada pela quase inexistência da Goethita (óxidos de ferro). O difratograma mostra a presença absoluta da caulinita, com sua cristalinidade típica mais evidente, após o bioprocessamento. A quase total remoção dos óxidos de ferro é confirmada pela análise química através da espectrometria de absorção atômica (Quadro 10). Embora as análises de raios-X não apresentem resultados quantitativos, pode-se constatar claramente a redução dos picos de difração da Goethita. De acordo com Styriaková e Styriak (2000), esta diminuição no teor de óxidos de ferro é provocada por reações de redução de natureza microbiana, transformando Fe^{+3} em Fe^{+2} , com a subsequente quelatização pelos ácidos orgânicos e outras substâncias produzidas pelas bactérias, durante o metabolismo de açúcares.

Os demais minerais presentes no biocaulim (Mica, Vermiculita e Ilmenita), mesmo em pequenas proporções, justificam a permanência de um certo teor de Fe na amostra analisada, embora a coloração avermelhada tenha sido removida. Parte do ferro encontrado no biocaulim, pode ser oriundo da biomassa microbiana remanescente. O teor de matéria orgânica constatado no biocaulim foi de 0,276%. Mesmo assim a cor branca predomina porque o Fe remanescente está na forma estrutural nos cristais de Ilmenita, por exemplo, e nas células microbianas que, por sua vez, são formas que não dão coloração avermelhada à massa de biocaulim obtido ao final do processo. A fração denominada de “grossa” e com aparência de mica, na verdade se revelou como sendo composta de minerais de argila como evidencia as Figuras 8, 8a, 8b e 8c. Esta denominação de “grossa”, foi devida ao tamanho das partículas de argila, após a separação e à concentração de argila em placas, à semelhança de micas.

Quadro 9: Distância basal (Å) para os minerais encontrados e respectivos símbolos.

Minerais	Símbolo	Distância Basal (Å)
Caulinita	K	7,18; 3,58; 2,34; 4,48; 2,56; 2,38; 2,29; 4,36.
Magnetita	Mgt	2,53; 1,49; 1,62.
Mica	Mc	3,35; 2,6; 1,99; 10,016; 10,21; 3,87; 2,53; 5,01; 14,47; 3,32;4,99.
Goethita	Gth	4,17; 2,69; 2,45; 1,72.
Anortita	Ano	3,21; 2,84; 4,04; 3,24.
Argilas tipo 2:1	Mtn	12,4; 9,6; 15,5; 5,0; 4,5; 1,68.
Vermiculita	Vrm	14,57; 4,6; 2,62;
Ilmenita	Ilm	2,74; 1,72; 2,54; 1,86; 1,5; 1,47.
Quartzo	Qtz	3,34; 4,26; 1,82; 2,28.
Hematita	Hmt	2,69; 1,69; 2,51; 1,83.
Magemita	Mgm	2,52; 2,95; 1,61.
Turmalina	Trm	2,57; 2,96; 3,99; 4,22.

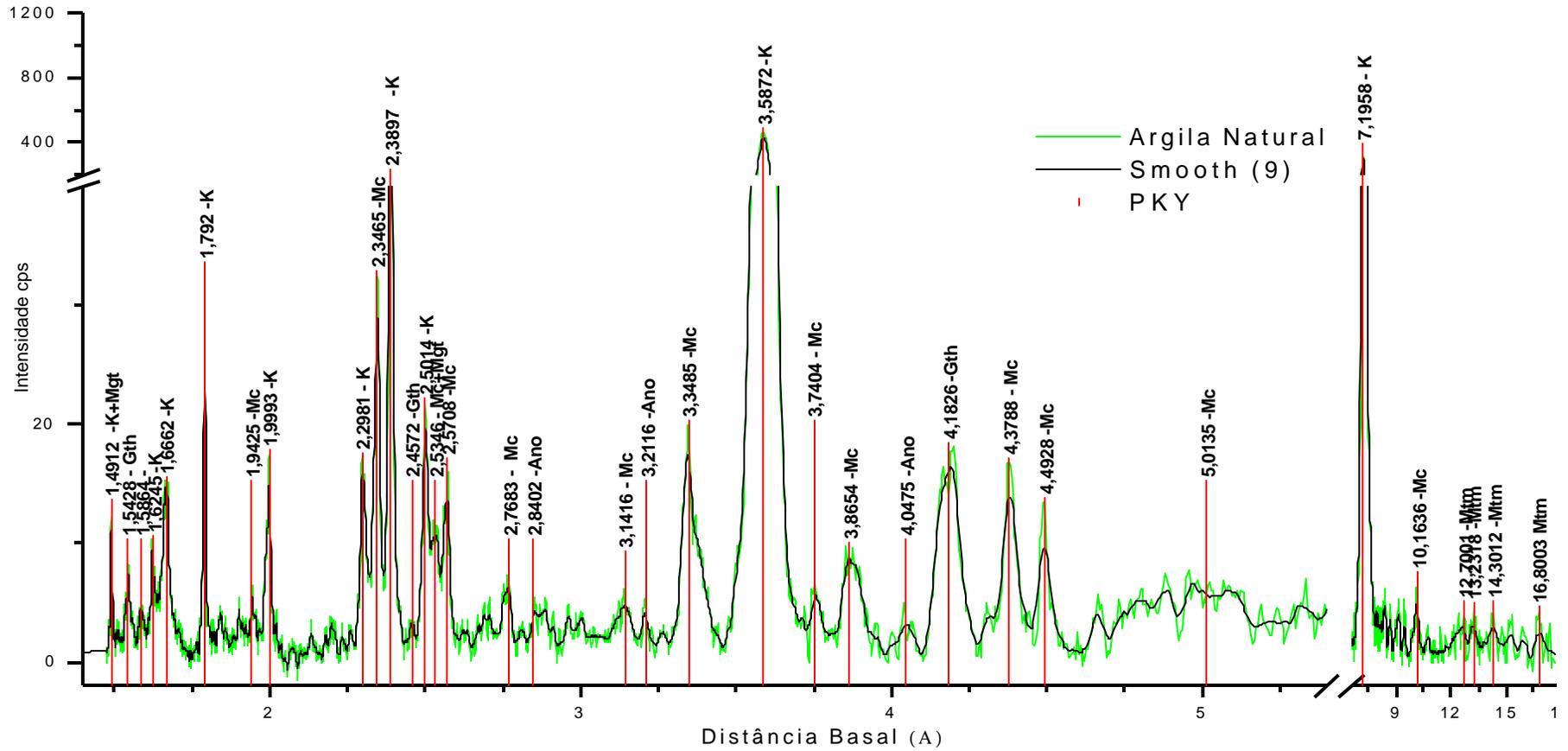


Figura 6: Difratoograma de argila natural antes do processamento.

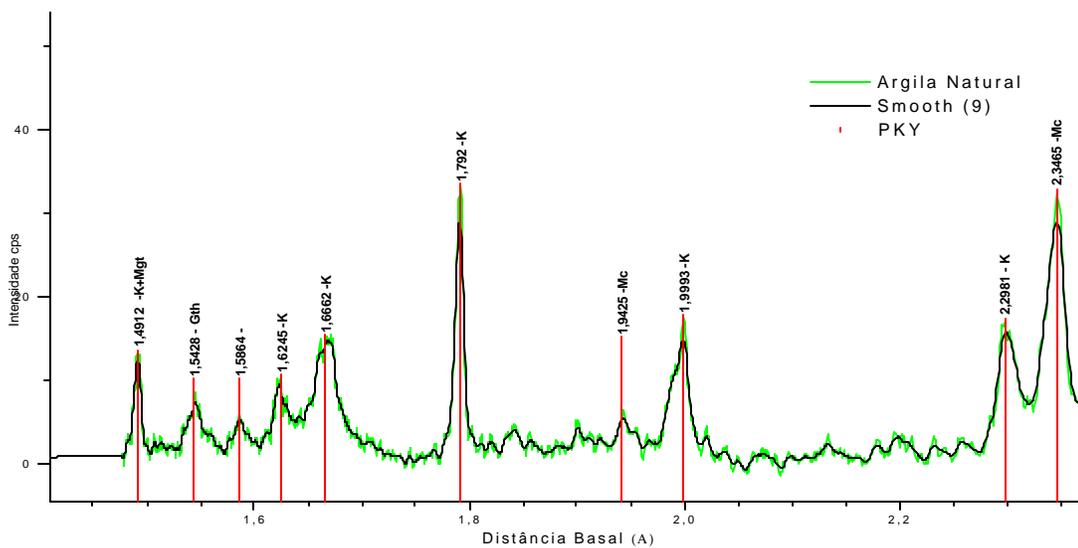


Figura 6a): Difratoograma de argila natural antes do processamento (de 1,4 à 2,4 Å).

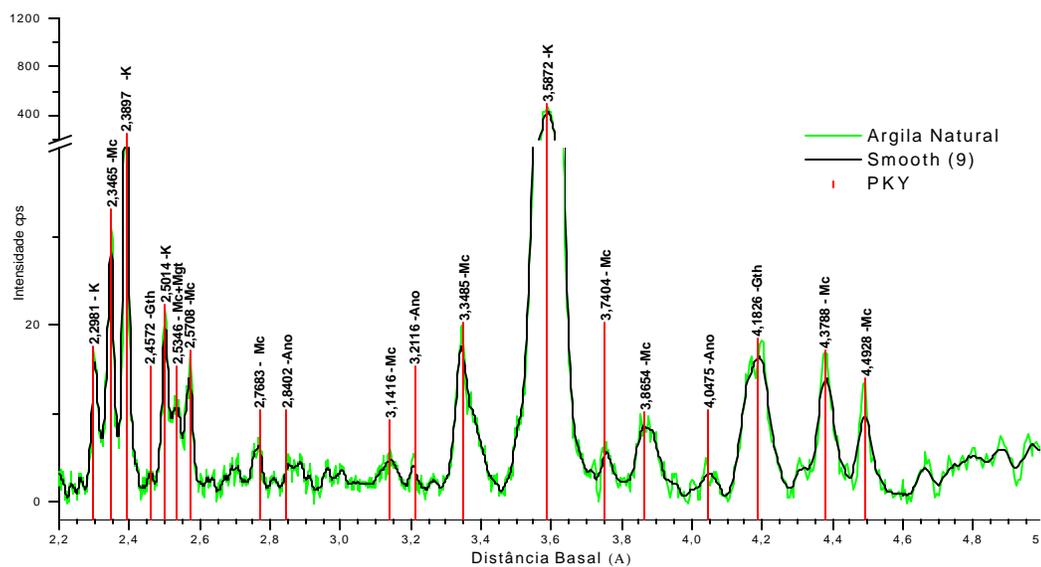


Figura 6b): Difratoograma de argila natural antes do processamento (de 2,2 à 5,0 Å).

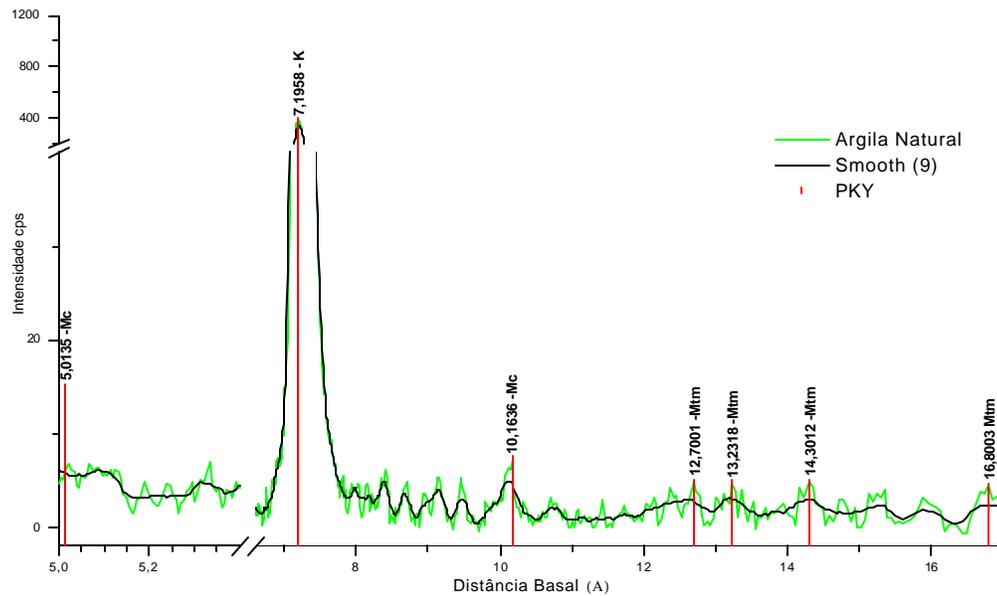


Figura 6c: Difratoograma de argila natural antes do processamento (de 5,0 à 17 Å).

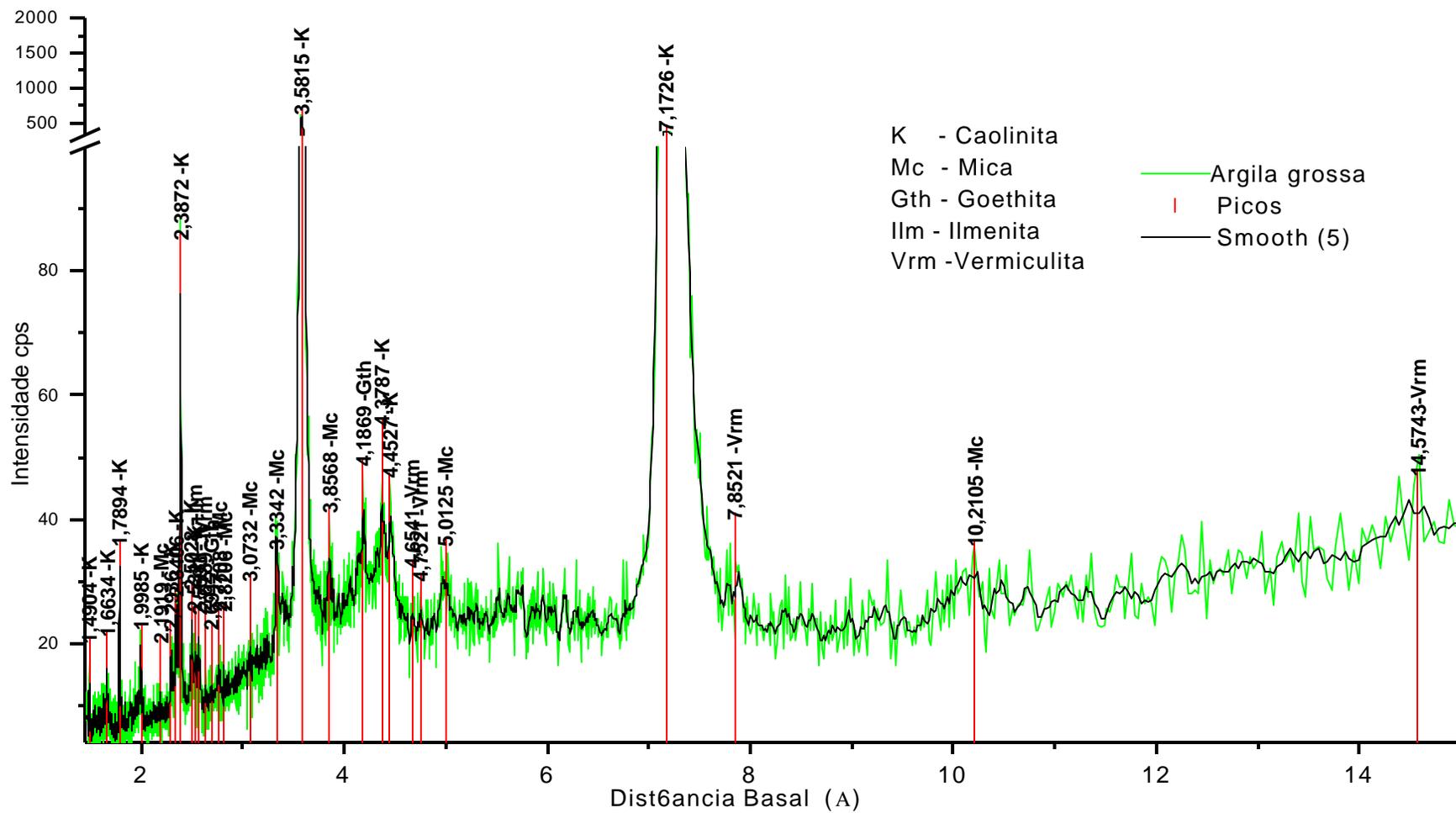


Figura 7: Difratoograma da fração argila grossa depois do bioprocessamento.

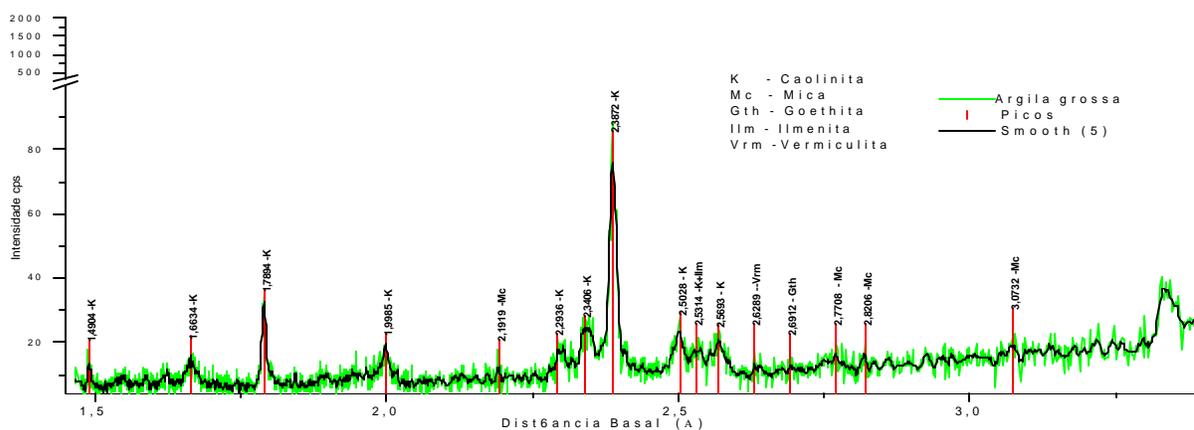


Figura 7a: Difratoograma de uma fração grossa (>0,053mm), após o bioprocessamento (de 1,4 à 3,5 Å).

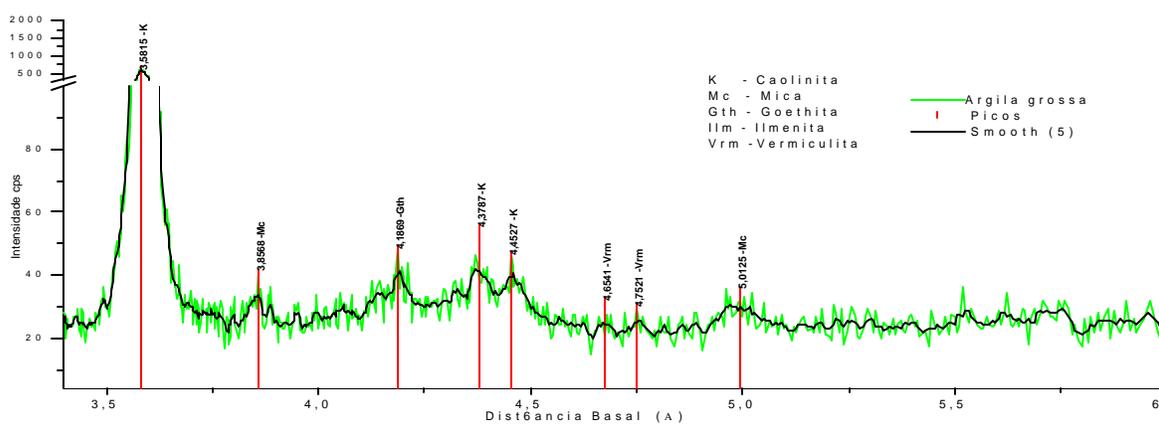


Figura 7b: Difratoograma da fração argila grossa após o bioprocessamento (de 3,5 à 6,0 Å).

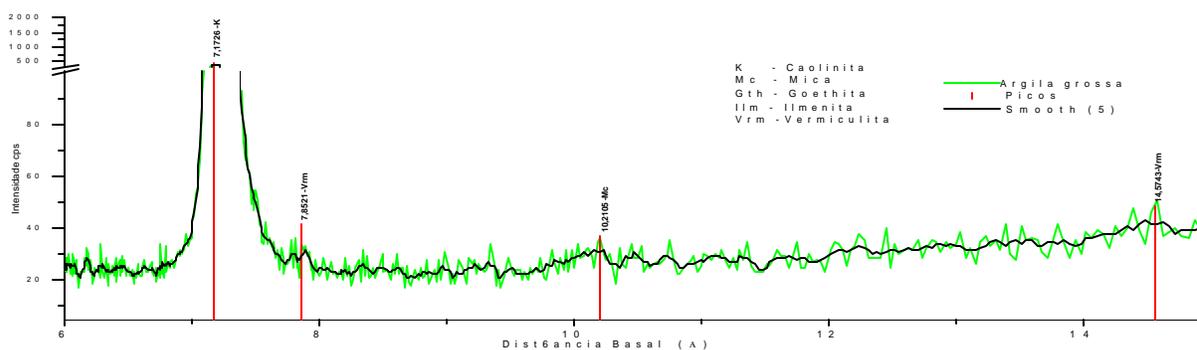


Figura 7c: Difratoograma da fração argila grossa após o bioprocessamento (de 6,0 à 15 Å).

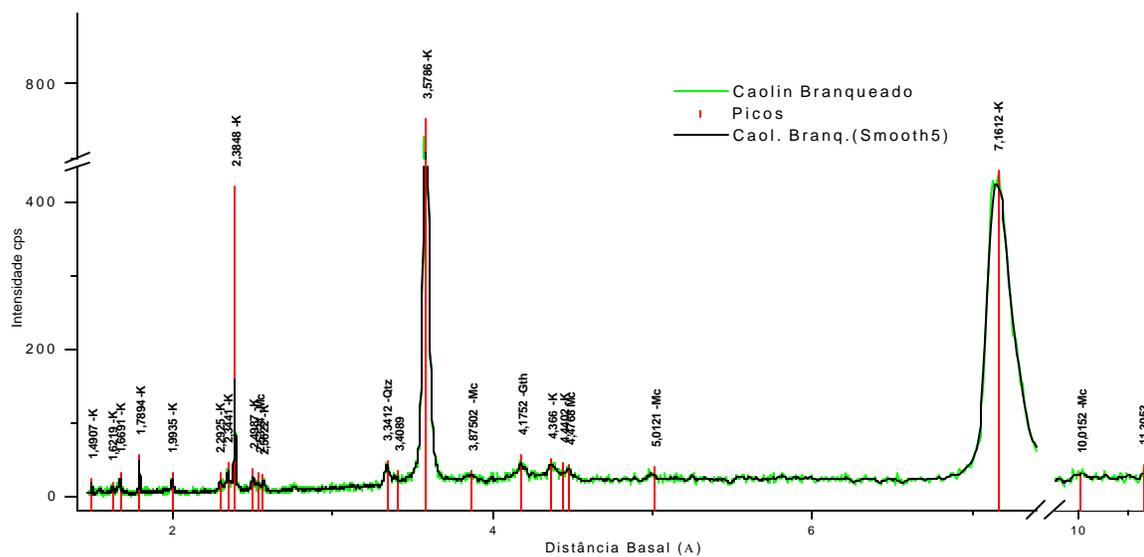


Figura 8: Difratograma da argila após o processo de branqueamento (de 1,4 à 11,5Å).

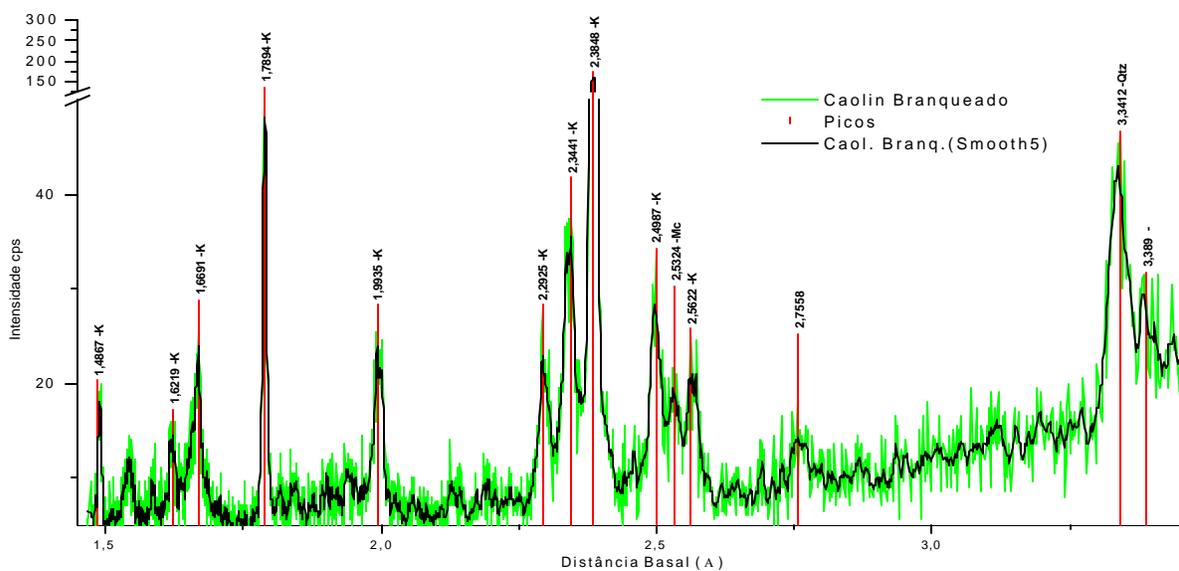


Figura 8a: Difratograma da argila após o processo de branqueamento (de 1,4 à 3,5Å).

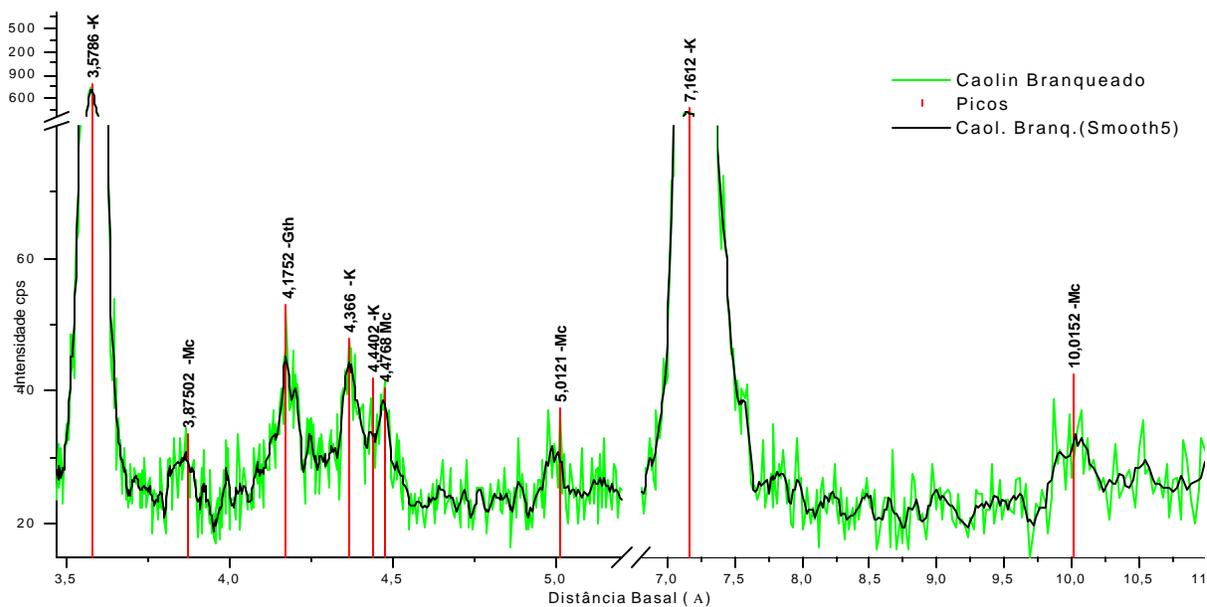


Figura 8b: Difractograma da argila após o processo de branqueamento (de 3,5 à 11 Å).

6.1.2 Espectrofotometria de Absorção Atômica (SAA)

- Determinação química do Ferro -

1) Amostra contendo biocaulim.

Resultado obtido no AAS = 33 [mg.L⁻¹] de Fe.

33 mg de Fe _____ 1000 mL de solução

X _____ 50 mL de solução

X = 1,65 mg de Fe

1,65 mg de Fe está contido em 162,8 mg da amostra, logo tem-se:

- 1,0135% de Fe

2) Amostra contendo argila original.

Resultado obtido no AAS = 2,4638 [mg.L⁻¹] de Fe. (x 20)

Ou seja, 49,276 [mg.L⁻¹] de Fe.

49,276 mg de Fe _____ 1000 mL de solução

X _____ 50 mL de solução

X = 2,4638 mg de Fe

2,4638 mg de Fe está contido em 142,4 mg da amostra, logo tem-se:

- 1,7302% de Fe

3) Amostra contendo solução lixiviante (efluente).

Resultado obtido no AAS = 3591 [mg.L⁻¹] de Fe.

3591 mg de Fe _____ 1000 mL de solução

X _____ 480 mL de solução

X = 1723,68 mg de Fe

1723,68 mg de Fe estava contido em 250g de argila, logo tem-se: 0,6895% de Fe.

Quadro 10: Resultados obtidos em amostras submetidas a espectrofotometria de absorção atômica (AAS).

	Concentração de Fe (mg.L⁻¹)	Tamanho da Amostra	% de Fe
Argila original	49,30	142,4 mg	1,7302
Argila Branqueada	33	162,8 mg	1,0135
Solução lixiviante	3591	480 mL	0,6895
Taxa final de remoção de Fe: 41,423%			

6.1.3 Porosimetria (BET)

Quadro 11: Superfície específica da argila original e do biocaulim.

	Superfície Específica (m²/g)	Coefficiente de Correlação
Argila original	13,87996 ± 0,0144	0,9999926
Biocaulim (Argila branqueada)	19,40886 ± 0,1144	0,9998145

Os dados acima mostram que houve um aumento na superfície específica do biocaulim de quase 40% (39,83%), em relação à argila original. Isto pode ser devido à desobstrução de uma parte dos poros do material original pelos agentes microbianos, durante o seu bioprocessamento. O alto coeficiente de correlação obtido indica a excelente uniformidade do material analisado.

Outra característica determinada para o material de estudo inclui a distribuição de tamanho de poros e as isotermas de adsorção. A figura 9 apresenta, de forma estatística, esta distribuição, na qual pode-se notar que o maior volume de poros obtido é para aqueles com valor de 39,67 Å para a argila original e de 41,08 Å para o biocaulim. Tanto na argila original quanto no biocaulim, a distribuição do tamanho de poros se apresentou de forma estreita (na região dos mesoporos) indicando mais uma vez um alto grau de uniformidade no tamanho de poros. Esta característica pode indicar que na aplicação industrial, o material tenha um bom desempenho quando de sua sinterização, por exemplo.

A figura 10 apresenta as isotermas obtidas para a argila original e para o biocaulim. Estas isotermas são curvas que descrevem a quantidade de gás adsorvido pelo material (argila original e o biocaulim), em função da pressão de gás sobre o adsorvente, a uma temperatura constante.

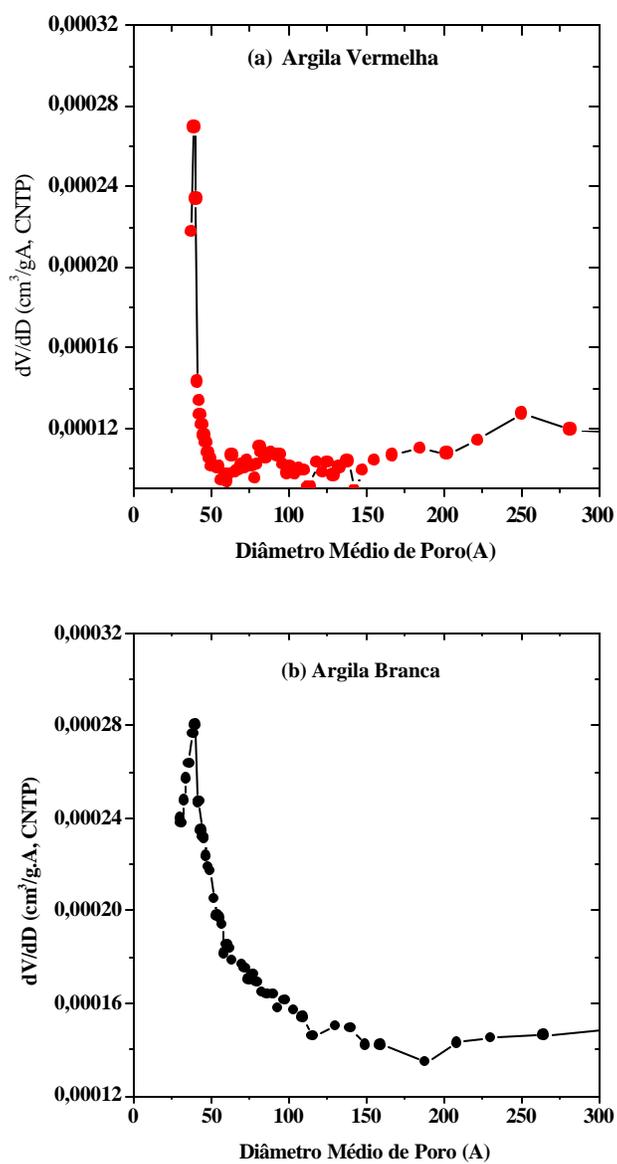


Figura 9: Distribuição de tamanho de poros em argila original (a) e bioprocessada (b).

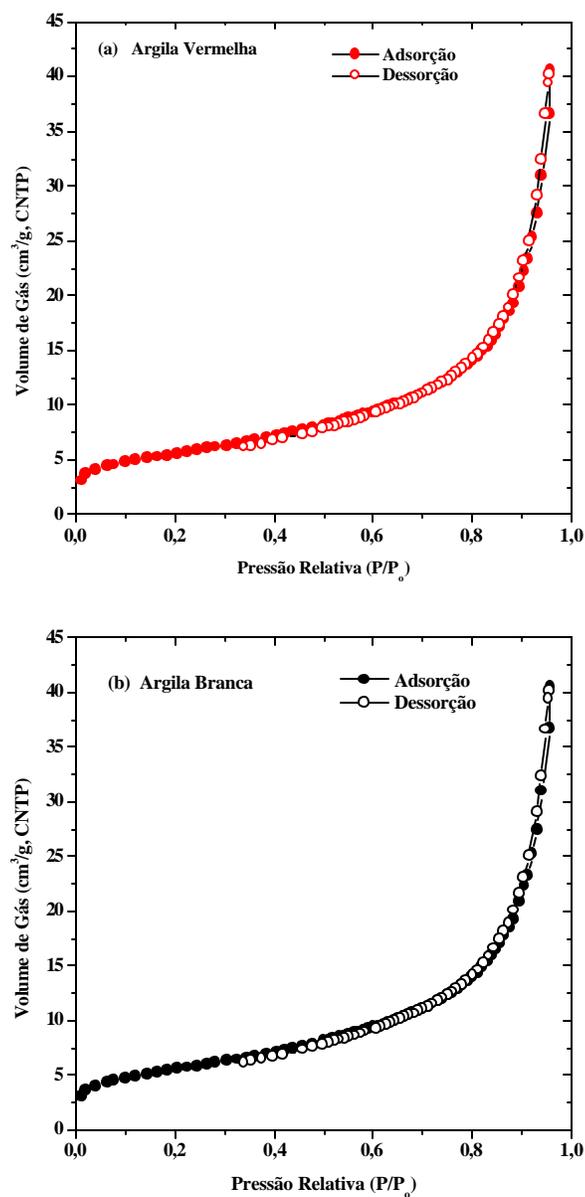


Figura 10: Isothermas de adsorção em argila original (a) e bioprocessada (b).

Estas curvas (Fig. 10) apresentam também o comportamento da dessorção que, trata-se da evaporação da camada líquida formada na superfície e nos poros do material analisado durante o processo de adsorção, quando submetido a uma pressão negativa.

A quase total ausência de histerese entre os ramos da adsorção e da dessorção, indica que o material analisado é típico de um sólido com poros de aberturas estreitas e compridas, ou formado pelo arranjo de placas que constituem o adsorvente. De fato, a argila original e o biocaulim são constituídos por placas ou camadas de alumínio e silício e, portanto, se enquadram nas determinações obtidas e representadas na figura 10. Esta observação reforça a constatação da presença marcante da caulinita no material analisado e caracteriza de forma indelével o tipo de mineral de argila presente no material original, bem como, no biocaulim.

7-CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nas condições sob as quais este trabalho foi realizado, permitiram as seguintes conclusões:

1- O processo desenvolvido é, comprovadamente, de natureza biológica e os agentes microbianos são autóctones.

2- A concentração média de carboidratos, ideal para a ativação do processo foi de 4,5% (p/p), em relação à massa do substrato (argila natural).

3- A temperatura que promoveu um melhor desempenho dos agentes biológicos e uma maior eficiência do bioprocessamento foi de 30 °C.

4- A remoção do ferro do material original (40%) foi significativa e o suficiente para implementar um elevado grau de brancura à argila natural estudada.

5- As análises a que foi submetido o biocaulim obtido, mostraram alterações positivas nas características físicas do mesmo, quando comparadas com as do material original.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- ADAMS, J., PALMER, F., STALEY, J.T. Rock Weathering in deserts: mobilization and concentration of ferric iron by microorganisms. *Geomicrobiol. J.* v. 10, n. 2, p. 99-114; 1992.
- ALEXANDER, M. *Biodegradation and bioremediation*. N. York: Academic Press, 1994. p. 177-95.
- ANAND, P., MODAK, J.M., NATARAJAN, K.A. Biobeneficiation of bauxite using *Bacillus polymyxa*: calcium and iron removal. *Int. J. Miner. Process.* n. 48, p. 51-60, 1996.
- BEARD, B.L., JOHNSON, C.M., COX, L., SUN, H., NEALSON, K.H., AGUILAR, C. Iron isotope biosignatures. *Science* (Washington D.C.), v. 285, 1889-92, 1999.
- BEZKOROVAINY, A., KOT, E., MILLER-CATCHPOLE, R., HALOFTIS, G., FURMANOV, S. Iron metabolism in bifidobacteria. *Int. Dairy J.* n. 6, p. 905-19, 1996.

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Faculdade de Ciências Agrônomicas. Normas para a elaboração de dissertações e teses. Botucatu, 1997. 35p.

- BREED, A.W., HANSFORD, G.S. Studies on the mechanism and kinetics of bioleaching. *Miner. Eng.* v. 12, n. 4, p. 383-92, 1999.
- CAMESELLE, C., NUÑEZ, M.J., LEMA, J.M., PAIS, J. Leaching of iron from kaolins by a spent fermentation liquor: influence of temperature, pH, agitation and citric acid concentration. *J. Ind. Microbiol.* n. 14, p. 288-92, 1995.
- CAMESELLE, C., NUÑEZ, M.J., LEMA, J.M. Leaching of kaolin iron-oxides with organic acids. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* n. 70, p. 349-54, 1997.
- CLAUS, H., FILIP, Z. Effects of clays and other solids on the activity of phenoloxidases produced by some fungi and actinomycetes. *Soil Biol. Biochem.* v. 22, n. 4, p. 483-8, 1990.
- CUNHA, A. R. *Parâmetros agrometeorológicos de cultura de pimentão (Capsicum annuum L.) em ambientes protegido e campo*. Botucatu, 2001. 128p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.
- DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL Disponível em: <<http://WWW.dnpm.gov.br/sm2001/caulim>>. Acesso em: 20-ago-2001\10:00 h.
- DORIOZ, J.M., ROBERT, M. Etude experimentale de l'interaction entre champignons et argile: consequences sur la microstructure des sols.; *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences.* v. 295, n. 4, p.511-6, 1982.
- EHRlich, H.L. How microbes influence mineral growth and dissolution. *Chem. Geology.* v. 132, p. 5-9, 1996.
- EHRlich, H.L, BRIERLEY, C.L. (Ed.). *Microbial mineral recovery*. New York: McGraw-Hill, 1990. 454p.

- FALKENBERG, M.B. Quinosnas. In: Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (Org.); *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 2. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2000. 821p.
- FERREIRA, A. B. H. *Pequeno Dicionário Brasileiro da Língua Portuguesa*. Ilustr.; ed. 11, civilização brasileira S.A., s.d.
- GOLDONI, J.S. *Relatório de atividades-CNPq*. Botucatu: Departamento de Tecnologia, FCA, UNESP, 1992. 168 p.
- GOMES, N.C.M., MENDONÇA-HAGLER, L.C.S., SAVVAIDIS, I. Metal bioremediation by microorganisms. *J. Braz. Soc. Microbiol*, v. 29, n 2, p. 85-92, 1998.
- GONZALEZ, I., LAIZ, L., HERMOSIN, B., CABALLERO, C., INCERTI, C., SAIZ-JIMENEZ, C. Bacteria isolated from rock art paintings: the case of Atlanterra shelter (south Spain). *J. Microbiol. Methods*, v. 36, p. 123-7, 1999.
- GROUDEV, S.N. Use of heterotrophic microorganisms in mineral biotechnology. *Acta Biotechnol.* v. 7, n.4, p. 299-306, 1987.
- INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DO ESTADO DE SÃO PAULO,). *Mercado consumidor mineral*. São Paulo, s.d. 361p.
- JACOBSON, E.S., VARTIVARIAN, S.E. Iron assimilation in *Cryptococcus neoformans*. *J. Med. Vet. Mycol.* v. 30, n.6, p. 443-50, 1992.
- JOHNSON, D.B. Importance of microbial ecology in the development of new mineral technologies. *Hydrometallurgy*. n. 59, p. 147-57, 2001.
- KONHAUSER, K.O. Diversity of bacterial iron mineralization. *Earth Sci. Rev.* n. 43, p. 91-121, 1998.

- KOUNO, K., LUKITO, H.P., ANDO, T. Minimum available N requirement for microbial biomass P formation in a regosol. *Soil Biol. Biochem.*, v. 31, p. 797-802, 1999.
- LEE, E. Y., CHO, K. S., RYU, H.W., CHANG, Y.K. Microbial removal of Fe(III) impurities from clay using dissimilatory iron reducers. *J. Biosc. Bioeng.* v. 87, n. 3, p. 397-9, 1999.
- LOVLEY, D.R., KASHEFI, K., VARGAS, M., TOR, J.M., BLUNT-HARRIS, E.L. Reduction of humic substances and Fe(III) by hyperthermophilic microorganisms. *Chem. Geol.* n. 169, p. 289-98, 2000.
- MASON, B.H. *Princípios de geoquímica*. São Paulo : Edusp, 1971. 381p.
- MAZELLIER, P., BOLTE, M. Iron(III) promoted degradation of 2,6-dimethylphenol in aqueous solution. *Chemosphere*, v. 35, n. 10, p. 2181-92, 1997.
- MENDONÇA, C.C.T.N. *Oxi-redução de minerais de ferro pela ação microbiana, com a adição de sacarose em condições de laboratório, no latossolo vermelho escuro, coletados de diversos tipos de culturas*. Botucatu, 1999. 77 p. *Dissertação* (Mestrado em Agronomia/ Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.
- MESQUITA, L.M.S., RODRIGUES, T., GOMES, S.S. Bleaching of brazilian kaolins using organic acids and fermented medium. *Miner. Eng.* v. 9, n. 9, p. 965-71, 1996.
- MIRABELLA, A., CARNICELLI, S. Iron oxide mineralogy in red and brown soils developed on calcareous rocks in central Italy. *Geoderma*. v. 55, p. 95-109, 1992.
- NEWMAN, D.K., KOLTER, R. A role for excreted quinones in extracellular electron transfer. *Nature* (hond.), n. 405, p. 94-7, 2000.

- PRACHT, J., BOENIGK, J., ISENBECK-SCHRÖTER M., KEPPLER, F., SCHÖLER, H.F. Abiotic Fe(III) induced mineralization of phenolic substances. *Chemosphere*, v. 44, p. 613-9, 2001.
- RAGHAVAN, P., CHANDRASEKHAR, S., DAMODARAN, A.D. Value addition of paper coating grade kaolins by the removal of ultrafine coloring impurities. *Inter. J. Miner. Processing*, n. 50, p. 307-16, 1997.
- ROBERT, M., BERTHELIN, J. Role of biological and biochemical factors in soil mineral weathering. In: Huang, P.M. and Schnitzer, M. *Interactions of soil minerals with natural organics and microbes*. Soil Science Society of America, Inc.; Special publication n. 17; p. 453-519; Madison, Wisconsin, USA, 1986.
- RYU, H. W., CHO, K.S., CHANG, Y.K., KIM, S.D., MORI, T. Refinement of low-grade clay by microbial removal of sulfur and iron compounds using thiobacillus ferrooxidans. *J. Ferment. Bioeng.* v.80, n.1, p.46-52, 1995.
- SANTOS, R.C. *Comportamento do fertilizante biológico residual quelatizado em comparação ao EDTA, no feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.)*. Universidade Estadual Paulista-FCA, Botucatu, 2000. 111p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.
- SINGLETON, I., WAINWRIGHT, M., EDYVEAN, R.G.J. Some factors influencing the absorption of particulates by fungal mycelium. *Biorecovery*. v.1, n. 4, p. 271-89, 1990.
- SKINNER, H.C.W., FITZPATRICK, R.W. (ed.). Biomineralization processes of iron and manganese: modern and ancient environments. *Catena(ement)*, v. 21, suppl., p. 1-433, 1992.

- SOMASUNDARAN, P., REN, Y., RAO, M.Y. Applications of biological processes in mineral processing. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. n. 133, p. 13-23, 1998.
- STYRIAKOVÁ, I., STYRIAK, I. Iron removal from kaolins by bacterial leaching. *Ceramics-Silikáty*. v. 44, n. 4, p. 135-4, 2000.
- SUGUIO, K. *Introdução à sedimentologia*. São Paulo: Edgard Blucher, 1973. 317 p.
- TAXIARCHOU, M., PANIAS, D., DOUNI, I., PASPALIARIS, I., KONTOPOULOS, A. Removal of iron from sílica sand by leaching with oxalic acid. *Hydrometallurgy*, n. 46, p. 215-27, 1997.
- TAZAKI, K. Microbes associated with clay minerals. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF CERAMIC, 12, 2001, Bahia Blanca, Argentina, *Anais... Argentina* : 2001. p. 197.
- TEIXEIRA, S.R., SOUZA, S.A. Ceramic properties and mineralogical characterization of clays used in the structural ceramic industry in west of São Paulo State, Brazil. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF CERAMIC, 12, 2001, Bahia Blanca, Argentina, *Anais... Argentina* : 2001. p. 260.
- THEIL, E.C., TAKAGI, H., SMALL, G.W., HE, L., TIPTON, A.R., DANGER, D. The ferritin iron entry and exit problem. *Inorg. Chim. Acta*, n. 297, p. 242-51, 2000.
- TUOVINEN, O.H. Biological fundamental of mineral leaching processes. In: Ehrlich, H.L., Brierley, C.L. *Microbial mineral recovery*. McGraw-Hill, 1990. chap. 3; 454 p.
- UBALDINI, S., PIGA, L., FORNARI, P., MASSIDDA, R. Removal of iron from quartz sands: A study by column leaching using a complete factorial design. *Hydrometallurgy*, n. 40, p. 369-79, 1996.

- VEGLIO, F. Factorial experiments in the development of a kaolin bleaching process using thiourea in sulphuric acid solutions. *Hidrometalurgija*, n. 45, p. 181-97, 1997.
- VEGLIO, F, PASSARIELLO, B., BARBARO, M., PLESCIA, P., MARABINI, A. M. Drum leaching tests in iron removal from quartz using oxalic and sulphuric acids. *Int. J. Miner. Process*, n. 54, p. 183-200, 1998.
- VEGLIO, F., TORO, L. Process development of kaolin pressure bleaching using carbohydrates in acid media. *Int. J. Miner. Process*. v. 41, p. 239-55, 1994.
- YEE, N., FEIN, J.B., DAUGHNEY, C.J. Experimental study of the pH, ionic strength, and reversibility behavior of bacteria-mineral adsorption. *Geochim. Cosmochim. Acta*, v. 64, n.4, p. 609-17, 2000.

9- APÊNDICE

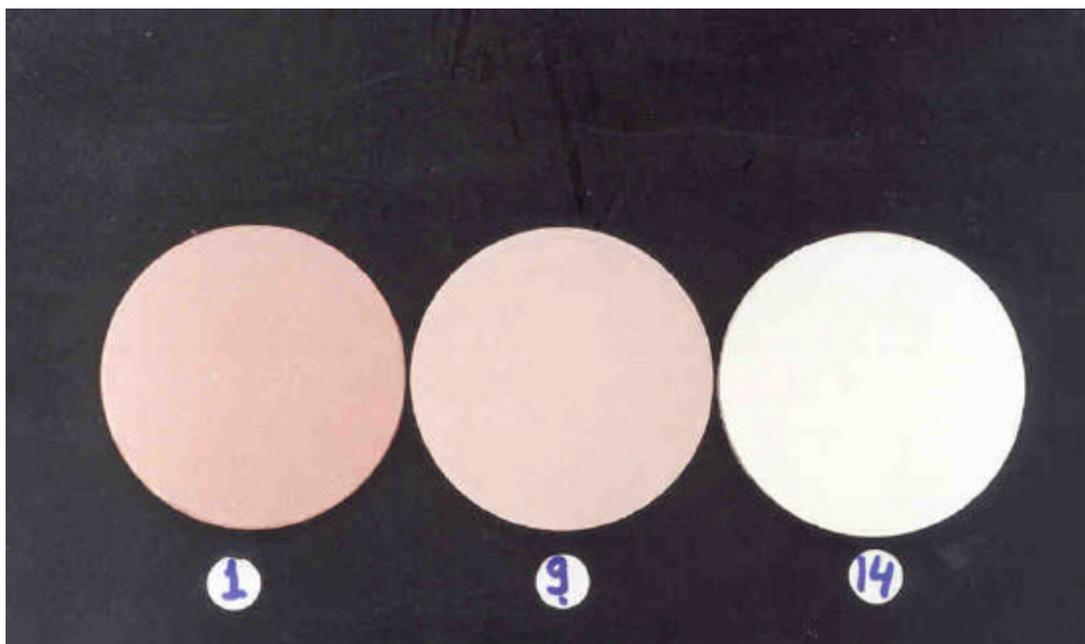


Figura 11: Caracterização das fases de produção do biocaulim: início (1), meio (9) e final do processo (14).



Figura 12: Biocaulim produzido sob diferentes níveis da relação C:N:P.



Figura 13: Término do processo de branqueamento sob diferentes níveis da relação C:N:P.