



Ana Elisa Casas Botero

**Bioflotação de magnesita, calcita e barita usando
Rhodococcus opacus como biorreagente**

Tese de Doutorado

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Metalúrgica e de Materiais pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica do Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia da PUC-Rio.

Orientador: Maurício Leonardo Torem
Co-orientadora: Luciana Maria Sousa de Mesquita

Rio de Janeiro, 10 de julho de 2007



ANA ELISA CASAS BOTERO

**Bioflotação de Magnesita, Calcita e Barita Usando
Rhodococcus opacus como Biorreagente**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Metalúrgica e de Materiais pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica do Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof. Maurício Leonardo Torem

Orientador

Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia – PUC - Rio

Profa. Luciana Maria Souza de Mesquita

Co-orientadora

Agência Nacional de Petróleo - ANP

Profa. Marisa Bezerra de Mello Monte

Centro de Tecnologia Mineral - CETEM

Profa. Selma Gomes Ferreira Leite

Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Prof. Roberto José de Carvalho

Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia – PUC - Rio

Prof. Francisco José Moura

Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia – PUC - Rio

Prof. José Eugenio Leal

Coordenador Setorial de Pós-Graduação do Centro Técnico Científico da
PUC-Rio

Rio de Janeiro, 10 de julho de 2007.

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, da autora e do orientador.

Ana Elisa Casas Botero

Graduo-se em Engenharia Química na Universidad Pontificia Bolivariana (Medellín Colômbia) em 1998. Terminou Mestrado em Biotecnologia na Universidad Nacional de Colômbia, sede Medellín em 2003.

Ficha Catalográfica

Botero, Ana Elisa Casas

Bioflotação de magnesita, calcita e barita usando *Rhodococcus opacus* como biorreagente / Ana Elisa Casas Botero ; orientador: Maurício Leonardo Torem, Co-orientadora Luciana Maria Sousa de Mesquita . – 2007.

130 f. : il.(col.) ; 30 cm

Tese (Doutorado em Ciências dos Materiais e Metalurgia)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

Inclui bibliografia

1. Ciências dos Materiais e Metalurgia – Teses. 2. Flotação. 3. *Rhodococcus opacus*. 4. Biorreagente. 5. Minerais industriais. I. Torem, Maurício Leonardo. II. Mesquita, Luciana Maria Sousa de. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Ciências dos Materiais e Metalurgia. IV. Título.

CDD: 669

Agradecimentos

A meu orientador o Professor Maurício Leonardo Torem e a minha co-orientadora Doutora Luciana Maria Souza de Mesquita pela paciência e dedicação.

Ao Departamento de Química da PUC-Rio pelas análises no espectrofotômetro de infravermelho. Ao Departamento de Metalurgia da Coppe UFRJ e o Professor José Farias de Oliveira pelo empréstimo do goniômetro. Ao CETEM e a Thais Lima pelas imagens no microscópio eletrônico de varredura. Ao Professor Luis Carlos Bertolino da UERJ pelo fornecimento da barita.

Aos meus colegas da PUC-Rio e a todos os professores e funcionários do Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia pelos ensinamentos e pela ajuda.

Aos professores que participaram da banca examinadora.

A CAPES pelo apoio financeiro durante o curso de Doutorado. A Universidade Pontifícia Bolivariana pelo apoio e a grande oportunidade que deram para mim.

A todos os amigos e familiares mesmo que distante, que de uma forma ou de outra me estimularam e me ajudaram.

Aos meus colegas de apartamento Joedy, Ysrael e Edney que fizeram da nossa casa, minha família no Brasil. A Serginho que também faz parte do solar dos amigos.

À Maribel e Sofia, as quais me receberam no Brasil e converteram-se em amigas inesquecíveis.

À minha grata amiga Tatiana. Sua companhia foi muito importante, especialmente nos primeiros anos no Brasil. Aos meus amigos Paco, Johana, Sully Adriana, Maurício, Camilo Gabriel e Jaime pela amizade e paciência durante a preparação da tese.

Para minhas avós que desde o céu me deram força e bênçãos. Para meus pais, minha irmã
e sobrinha pelo amor e confiança em mim.

Resumo

Ana Elisa Casas Botero. **Bioflotação de magnesita, calcita e barita usando *Rhodococcus opacus* como biorreagente.** Rio de Janeiro, 2007. 130p. Tese de Doutorado - Departamento de Ciência dos Materiais e da Metalurgia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

A bactéria *Rhodococcus opacus* foi avaliada como biorreagente para a flotação dos minerais da magnesita calcita e barita. As análises para determinar a conformação de parede o *R. opacus* estabelecem que é constituída por macromoléculas com características anfipáticas. O balanço entre grupos catiônicos e aniônicos da parede atribui um ponto isoelétrico equivalente de 3,2. Os resultados dos testes de aderência indicam que a bactéria *R. opacus* tem uma forte afinidade por superfícies de características ácido – base. Medidas dos minerais antes e após da interação com o *R. opacus* revelaram que embora fossem observadas modificações sobre todas as superfícies dos minerais, a bactéria *R. opacus* apresentou uma melhor afinidade pela superfície da magnesita. A capacidade de adsorção das células sobre as superfícies foi fortemente dependente dos valores de pH e a velocidade de adsorção atingiu a máxima concentração de células nos primeiros 5 minutos. As isotermas para a adsorção da bactéria sobre os minerais poderiam ser categorizadas do tipo Lagmuir (L) , II. A melhor flotabilidade foi observada em pH 7. Para a magnesita, a porcentagem foi de 92% usando uma concentração de *R. opacus* de 100 ppm. Para calcita os melhores resultados apresentaram flotabilidade de 55% para uma concentração de 250 ppm. Em relação à barita, os melhores valores de flotabilidade (60%) foram obtidos para uma concentração de *R. opacus* de 350 ppm. A aproximação termodinâmica determinou que a energia de adesão era negativa para todos os sistemas, sugerindo assim uma adsorção espontânea da bactéria sobre as superfícies minerais. Para magnesita e calcita as teorias DLVO confirmam os resultados experimentais, as atrações eletrostáticas entre as partículas determinaram as forças de interação. Já para barita, a teoria de X-DLVO poderia prever o comportamento das células sobre o mineral. Neste caso as interações ácido-base seriam as responsáveis pela adesão.

Palavras-chave

Flotação; *Rhodococcus opacus*; Biorreagente, Minerais industriais.

Abstract

Ana Elisa Casas Botero. **Bioflotation of magnesite, calcite and barite using *Rhodococcus opacus* as bioreagent.** Rio de Janeiro, 2007.130p. Ph. Doctoral These - Department of Material and Metallurgic Science, Catholic Pontific University of Rio de Janeiro.

Rhodococcus opacus micro-organism was evaluated as a biocollector for flotation of calcite and magnesite and barite. Analyses of *R. opacus* cell wall indicated the macromolecules configuration. The IEP value of *R. opacus* was around 3.2. The acidic IEP value of *R. opacus* could be due to the presence of anionic groups on the wall that dominate over the cationic groups. The adherence test showed the *R. opacus* affinity for acid-base surfaces. The behavior of the minerals, before and after *R. opacus* interaction, was evaluated and showed that the cells adhesion shifted both the minerals zeta potential curves and the reversal charges in comparison to their original isoelectric points. Adhesion tests suggested a higher affinity of the bacteria for magnesite than calcite and barite. The experiments of the adsorption rate of the *R. opacus* on the minerals surfaces showed fast behavior, achieving a maximum of cell adsorption after 5 minutes. Adsorption isotherm curves for the minerals could be categorized as Langmuir (L) type II. The best bioflotability results for the minerals were achieved for pH 7. Magnesite reached values around 93% for a *R. opacus* concentration of 100 ppm. For calcite the best flotability was of 55% for a *R. opacus* concentration of 220 ppm. For barite, the best flotability achieved 70% for a bacterial concentration of 350 ppm. Using the thermodynamic approach of the minerals systems, the adhesion energy of *R. opacus* on the surfaces was negative. The result suggested a spontaneous adsorption of *R. opacus* on to the all minerals. For magnesite and calcite, the DLVO theory can predict the cell behavior on the minerals surfaces. The electrostatic attractions determine the interaction forces. For barite and pH 7, the X-DLVO theory predicted the *R. opacus* adhesion on the surface by acid base interactions.

Keywords

Flotation; *Rhodococcus opacus*; Bioreagent, Industrial minerals.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo Geral:	19
2.2 Objetivos Específicos:	19
3. Revisão da Literatura	20
3.1 Flotação de Minerais	20
3.1.1 Flotação dos minerais de interesse	21
3.1.2 Reagentes empregados na Flotação	23
3.2 Características das bactérias no Bioprocessamento de minerais.	27
3.2.1 Presença de grupos funcionais e configuração da parede celular.	31
3.2.1 Carga elétrica superficial dos microrganismos	35
3.2.2 Caráter anfipático dos microrganismos	27
3.3 Adesão Microbiana	38
3.4 Avaliação das Energias de interação	42
3.4.1 Medidas de Ângulo de Contato	52
3.4.2 Aproximação Termodinâmica para interação microrganismo mineral	45
3.4.3 Teoria DLVO para interação microrganismo superfície mineral	46
3.4.4 Teoria DLVO e X-DLVO para interação microrganismo e substrato	49
4. MATERIAIS E METODOS	51
4.1 Obtenção do Biorregente e das Partículas Minerais Puras	51
4.1.1 Preparação e Classificação dos Minerais	51
4.1.2 Cultivo e Crescimento do Microrganismo	52
4.2 Caracterização da Bactéria <i>R. opacus</i>	53
4.2.1 Determinação da Curva de Crescimento da Bactéria <i>R. opacus</i>	54
4.2.2 Determinação de Polissacarídeos, Lipídeos e Proteínas do <i>R. opacus</i>	54
4.2.3 Provas de Aderência da Bactéria <i>R. opacus</i> nos Solventes Polares	55
4.3 Comportamento das Amostras Antes e Após Interação com <i>R. opacus</i>	56
4.3.1 Medidas de Potencial Zeta.	56
4.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	56

4.3.3	Análise no Espectroscópio de Infravermelho Transformada de Fourier	57
4.3.4	Medidas de Hidrofobicidade dos Minerais	57
4.3	Provas de Adsorção.	58
4.4	Ensaio de Bio Flotabilidade	58
4.4.1	Experimentos de Microflotação	58
4.5	Avaliação das Energias de Interação	60
4.5.1	Medidas de Ângulo de Contato	60
4.5.2	Avaliação da Constante de Hamaker para <i>R. opacus</i> água mineral	61
4.5.3	Avaliação dos componentes individuais de energia livre interfacial	62
4.5.4	Aproximação Termodinâmica da bactéria com solventes polares	63
4.5.5	Aproximação Termodinâmica da Bactéria <i>R. opacus</i> e Minerais	64
4.5.6	Teoria DLVO clássica	65
4.5.7	Teoria DLVO Estendida (X-DLVO)	66
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO DE RESULTADOS	67
5.1	Caracterização da Bactéria <i>Rhodococcus opacus</i>	67
5.1.1	Curva de Crescimento e caracterização da parede celular da bactéria	67
5.1.2	Caracterização e identificação dos grupos funcionais do <i>R. opacus</i>	68
5.1.3	Medidas de Potencial Zeta da bactéria <i>R. opacus</i>	71
5.1.4	Medidas de Adesão do <i>R. opacus</i> entre solventes polares e apolares	73
5.2	Comportamento dos minerais antes e após Interação com <i>R. opacus</i>	74
5.2.1	Estudos de Potencial Zeta	74
5.2.2	Análises de Infravermelho	77
5.2.3	Avaliação de Hidrofobicidade	80
5.3	Estudos de Adsorção	81
5.3.1	Estudos de Efeito do pH	81
5.3.2	Efeito do tempo e da concentração do <i>R. opacus</i>	83
5.3.3	Isotermas de adsorção	85
5.3.4	Microfotografias dos minerais através do M. E. V.	87
5.4	Estudos de Microflotação	90
5.4.1	Efeito da concentração de <i>R. opacus</i>	90
5.4.2	Efeito do <i>R. opacus</i> com coletores tradicionais	94
5.5	Avaliação das energias de Interação	96
5.5.1	Aproximação Termodinâmica Interação da bactéria com solventes	97
5.5.2	Aproximação Termodinâmica do <i>R. opacus</i> com os Minerais	99
5.5.3	Teorias DLVO e X-DLVO o <i>R. opacus</i> com as Partículas Minerais.	100

6. CONCLUSÕES	107
7. RECOMENDAÇÕES PARA FUTUROS TRABALHOS	109
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110
ANEXOS	117
1. Caracterização por Raios X e MEV das amostras minerais.	117
2. Caracterização da bactéria <i>R. opacus</i> e Coloração de Gram.	120
3. Curva de Peso Seco e Contagem na Câmara de Neuvauer	121
4. Medida de Polissacarídeos: Método de Dubois et al., 1956	121
5. Medida de Proteína Celular. Método de Lowry et al., (1951) Modificado.	124
6. Montagem de Microflotação em Tubo Hallimond Modificado.	126
7. Cálculo dos componentes ácido-base	127
8. Cálculo das forças de Interação das Teorias DLVO e X-DLVO.	129

Lista de tabelas

Tabela 1: Microrganismos empregados em diferentes sistemas minerais.	16
Tabela 2. Reservas de Barita aprovadas no ano 2000.	21
Tabela 3. Reservas de Magnesita aprovadas no ano 2000	22
Tabela 4: Principais coletores empregados na flotação	25
Tabela 5: Aplicação dos polissacarídeos na Flotação mineral (Liu et al., 2000).	27
Tabela 6: Diferentes grupos funcionais presentes na parede de microrganismos	33
Tabela 7: Valores de PIE para diferentes espécies de bactérias (Mozes, 1989)	36
Tabela 8: Valores de ângulos de contato para diferentes microrganismos.	38
Tabela 9: Aproximações para determinar a energia superficial das células	44
Tabela 10: Constantes de Hamaker para diferentes sistemas minerais	47
Tabela 11: Composição da amostra de Barita mediante Fluorescência de raio X	51
Tabela 12: Reporte da composição da Magnesita mediante Florescência de raio X	51
Tabela 13: Reporte da composição da Calcita mediante Florescência de raio X	52
Tabela 14: Frações granulométricas dos minerais para os ensaios realizados.	52
Tabela 15: Meio de cultura YMA utilizado no cultivo do <i>Rhodococcus opacus</i>	52
Tabela 16: Valores dos componentes de energia interfacial (van Oss, 1994)	62
Tabela 17: Valores dos componentes de energia de interação	64
Tabela 18: Composição da parede celular da bactéria <i>R. opacus</i> .	69
Tabela 19. Faixas de absorbância e grupos funcionais característicos da bactéria	70
Tabela 20: Resultados dos testes de aderência da bactéria <i>R. opacus</i>	73
Tabela 21: Equações para avaliar os componentes da energia livre interfacial	96
Tabela 22: Energia de adesão da bactéria para os solventes	98
Tabela 23: Aproximação Termodinâmica de adesão para os sistemas.	99
Tabela 24: Determinação das constantes de Hamaker individuais e efetivas	100
Tabela A1: Valores das constantes usadas para o cálculo das forças de interação.	129
Tabela A2: Potencial zeta para <i>R. opacus</i> e magnesita em função do pH	129
Tabela A3: Valores das constantes usadas para o cálculo das forças de interação.	129
Tabela A4: Potencial zeta para <i>R. opacus</i> e calcita em função do pH	130
Tabela A5: Valores das constantes usadas para o cálculo das forças de interação.	130
Tabela A6: Valores de potencial zeta para <i>R. opacus</i> e barita em função do pH	130

Lista de Figuras

Figura 1: Microfotografia em microscopia eletrônica de varredura de <i>R opacus</i>	31
Figura 2: Conformação da parede celular de bactérias Gram positivas	32
Figura 3: Diferenças na capacidade de adesão de <i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	34
Figura 4: Espectro IR de células de <i>Acidithiobacillus</i>	34
Figura 5: Potencial zeta de <i>Acidothiobacillus ferrooxidans</i> em função do pH	37
Figura 6: Microfotografias de varredura de células de <i>B. subtilis</i>	39
Figura 7: Classificação das isotermas de sorção .	41
Figura 8: Representação idealizada das três fases do equilíbrio	43
Figura 9: Representação da adesão do microrganismo na superfície mineral	45
Figura 10: Representação da curva de interação total	48
Figura 11: Montagem Sistema de Microflotação em Tubo de Hallimond.	59
Figura 12: Curva de crescimento da bactéria <i>R. opacus</i> no meio Streptomyces.	67
Figura 13: Microfotografias da bactéria <i>R. opacus</i>	68
Figura 14: Espectrograma de Infravermelho de <i>Rhodococcus opacus</i> e	70
Figura 15: Curvas de Potencial Zeta para a bactéria <i>R. opacus</i> em função do pH	71
Figura 16: Curva de potencial zeta para magnesita NaCl como eletrólito indiferente.	75
Figura 17: Curva de potencial zeta para calcita NaCl como eletrólito indiferente	75
Figura 18: Curva de potencial zeta para barita. NaCl como eletrólito indiferente.	66
Figura 19: Espectrograma de Infravermelho para magnesita	77
Figura 20: Espectrograma de Infravermelho para calcita	78
Figura 21: Espectrograma de infravermelho para Barita	79
Figura 22: Influência do pH nas medidas de ângulo de contato dos minerais	80
Figura 23: Influência do pH na adsorção de <i>R. opacus</i> sobre os minerais	82
Figura 24: Efeito do tempo na adsorção do <i>R. opacus</i> sobre a magnesita.	83
Figura 25: Efeito do tempo na adsorção do <i>R. opacus</i> sobre a superfície da calcita.	83
Figura 26: Efeito do tempo na adsorção do <i>R. opacus</i> sobre a superfície da barita	84
Figura 27: Isoterma de adsorção do <i>R. opacus</i> sobre a superfície da magnesita	85
Figura 28: Isoterma de adsorção do <i>R. opacus</i> sobre a superfície calcita,	86
Figura 29: Isoterma de adsorção do <i>R. opacus</i> sobre a superfície da barita,	87
Figura 30: Microfotografias da magnesita após adsorção com <i>R. opacus</i>	88
Figura 31: Microfotografias da calcita após adsorção com <i>R. opacus</i>	89
Figura 32: Microfotografias da barita após adsorção com <i>R. opacus</i>	90
Figura 33: Efeito da concentração do <i>R. opacus</i> na flotabilidade da magnesita	91

Figura 34: Efeito da concentração do <i>R. opacus</i> na flotabilidade da calcita	92
Figura 35: Efeito da concentração do <i>R. opacus</i> na % de flotabilidade da barita	94
Figura 36: Efeito da adição de <i>R. opacus</i> na flotabilidade com coletores tradicionais	95
Figura 37: Componentes de tensão interfacial para <i>R. opacus</i>	97
Figura 38: DLVO e XDLVO Sistema <i>R. opacus</i> – Magnesita -Água	104
Figura 39: DLVO e XDLVO Sistema <i>R. opacus</i> - Calcita – Água	105
Figura 40: DLVO e XDLVO Sistema <i>R. opacus</i> - Barita – Água	106
Figura A1: Caracterização por Raios X das amostras de magnesita.	107
Figura A2: Caracterização por MEV das amostras de magnesita.	107
Figura A3: Caracterização por Raios X das amostras de calcita.	118
Figura A4: Caracterização por MEV das amostras de calcita.	118
Figura A5: Caracterização por Raios X das amostras de barita..	119
Figura A6: Caracterização por MEV das amostras de barita.	119
Figura A7: Caracterização por MEV das bactéria <i>R. opacus</i> .	120
Figura A8: Coloração de Gram da bactéria <i>R. opacus</i> .	120
Figura A9: Células isoladas e colônia e da bactéria <i>R. opacus</i> .	120
Figura A10: Curva de peso seco de células de <i>R. opacus</i>	121
Figura A11: Curva padrão de polissacarídeos. Método de Dubois et al. (1956).	123
Figura A12: Curva padrão de Proteínas. Método de Lowry et al. (1951)	125
Figura A13: Curva de Calibração Rotâmetro.	126

Lista de Diagramas

Diagrama 1: Fatores que afetam o Biobeneficiamento e sua predição	17
Diagrama 2 Recopilação dos avanços na química da flotação (Fuerstenau, 1999).	26
Diagrama 3: Classificação das células bacterianas (Pelczar, 1993)	29
Diagrama 4. Etapas de crescimento celular (Madigan et al., 1997)	29