

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

5.1 Caracterização da Bactéria *Rhodococcus opacus*

5.1.1 Curva de Crescimento e Caracterização da Parede Celular da Bactéria

A condição de cultivo é considerada um dos fatores determinantes da aplicabilidade de microrganismos no processamento mineral em nível industrial (Smith *et al.*, 2006). No cultivo de microrganismos deve ser considerado o tempo de adaptação das células assim como as diferentes etapas de crescimento para se obter a maior produção de biomassa e conseqüentemente de biorreagente.

A Figura 12 apresenta o comportamento da curva de crescimento do *R. opacus* e suas diferentes etapas.

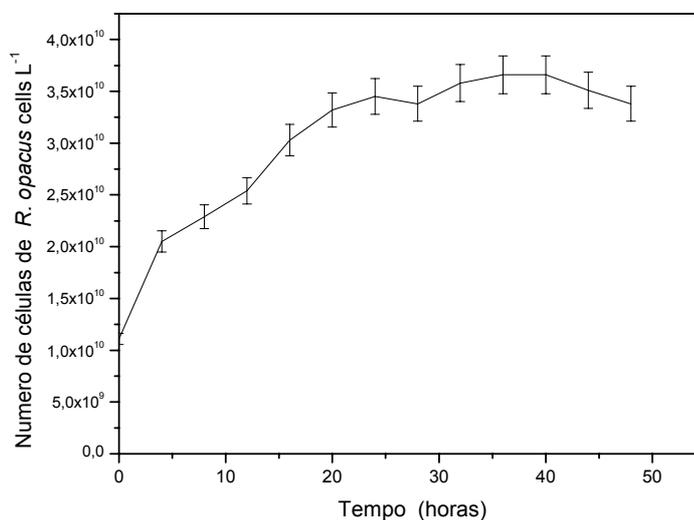
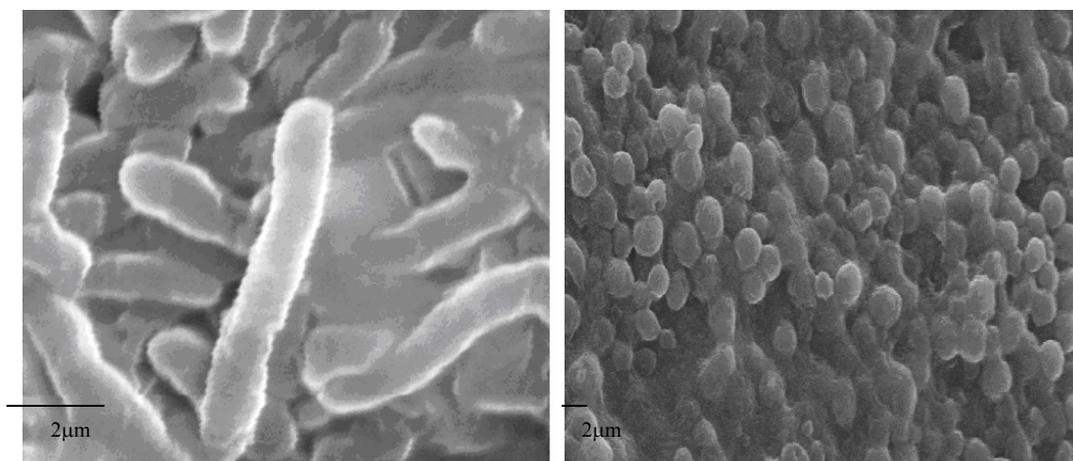


Figura 12. Curva de crescimento da bactéria *R. opacus* no meio *Streptomyces*.

Pode-se observar como a etapa de adaptação ou fase “lag” foi quase imperceptível, conseqüentemente, a fase exponencial inicia-se imediatamente. Depois de 24 horas, a bactéria *R. opacus* atinge a concentração máxima e se inicia a fase

estacionária. A fase de extinção celular inicia-se depois das 40 horas. Estes resultados indicam que a bactéria adaptou-se e cresceu rapidamente no meio de cultura.

A Figura 13 apresenta microfotografias obtidas através da técnica de microscopia eletrônica de varredura, onde pode ser observada a morfologia do *R. opacus*. A bactéria tem um diâmetro de 2 μm conforme pode ser observado na Figura 13, apresentando uma forma variável que depende do estágio de crescimento. Na fase exponencial, a bactéria apresenta uma forma alongada e não está agregada, já na etapa estacionária, as células estão agregadas e são mais arredondadas. Resultados similares foram encontrados por Shubtai e Fleiminger, (1994) e Mesquita (2000).



(a) Aumento 20000X

(b) Aumento 2000X

Figura 13: Microfotografias da bactéria *R. opacus*

Legenda: (a) início fase exponencial (b) fase estacionaria

5.1.2

Caracterização e Identificação dos Grupos Funcionais do *R. opacus*

➤ Composição da parede celular

Como foi mencionado no capítulo 3, a superfície celular está conformada por grupos funcionais tais como polímeros, peptídeos, proteínas e ácidos micólicos (Van der wal et al., 1997). Existem diversos métodos para estabelecer a composição da parede, alguns deles utilizam metodologias tais como raio X, infravermelho e análise bioquímica.

A composição do material pertencente à parede celular foi determinada mediante análise bioquímica de acordo com a metodologia desenvolvida por Cammarota (1988) . Os resultados da composição química são mostrados na Tabela 18.

Tabela 18: Composição da parede celular da bactéria *R. opacus*.

Material pertencente à parede celular	Concentração (g.L ⁻¹)	Composição %
Proteínas	0,16	2,85
Carboidratos	0,61	10,54
Lípídeos	1,92	33,33
Suspensão celular	11,52	

Os resultados apresentados na Tabela 18 indicam uma elevada proporção de lípídeos e carboidratos associados à parede celular do *R. opacus*. A composição da parede foi comparada com os resultados do Dufrêne et al., (2002) os quais determinam a relação de lípídeos, proteínas e carboidratos para diferentes cepas de *R. opacus* usando o a caracterização por raio X. Estes autores observaram que a bactéria possui um conteúdo de proteínas na faixa de 7 - 14%, de lípídeos entre 25 – 40% e de peptidoglicanos entre 23 – 31%.

De acordo com Alvarez et al., (2004), os lípídeos estariam associados com os ácidos micólicos característicos da bactéria *R. opacus*. Estes lípídeos, acumulados na parede da bactéria, são utilizados como fonte endógena de carbono e energia, para manter a viabilidade celular durante os períodos de limitação de nutrientes como foi reportado por Lang e Philp, (1998).

➤ **Análises de Infravermelho da bactéria *R. opacus***

Os compostos presentes na parede celular estão associados com os grupos funcionais que interagem com as superfícies minerais. Os resultados da composição foram comparados com as análises de infravermelho por transformada de Fourier.

De acordo com a literatura (Sharma. 2001; Parker, 1971), o espectro de infravermelho da bactéria exibe os picos que dos compostos atribuídos aos grupos funcionais dos compostos presentes na célula. A Tabela 19 apresenta as faixas de absorbância e os grupos funcionais correspondentes para cada pico.

Tabela 19. Faixas de absorvância e grupos funcionais característicos da bactéria
 Compilado de Sharma, 2001

Número de onda (cm^{-1})	Grupo funcional correspondente
3020-2800	Hidrocarboneto tipo alquila
2959, 2934 e 2875	Grupo CH_3 estiramento assimétrico, estiramento assimétrico e simétrico da ligação CH_2
Faixa próxima a 3298 e faixa no 3072	Estiramento simétrico e assimétrico do NH_2
Faixas entre 1750 e 1620	$\text{C}=\text{O}$
Comportamento de faixa intensa a 1655	Grupo amida
Faixa próxima nos 1700	Grupo $-\text{C}=\text{O}$
1682	grupos NH_2 das amidas primárias ou $-\text{NH}_3$ de ácidos das aminas
Faixas entre 1452 e 1390	CH_3 e CH_2
1236	CH_3 modo vibracional
1080	Modo $-\text{CH}_3$ rotação e CH_2 modo vibracional

A Figura 14 apresenta os resultados do espectrograma de infravermelho da parede da bactéria *R. opacus* e os comprimentos de onda mais importantes.

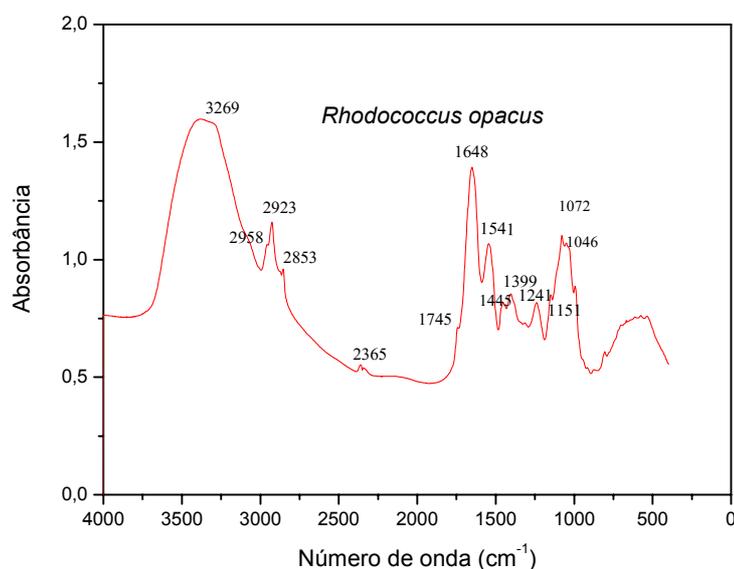


Figura 14: Espectrograma de Infravermelho de *Rhodococcus opacus* e principais picos de absorvância.

O espectrograma de infravermelho obtido para a bactéria *R. opacus* mostra a faixa característica de ácidos graxos entre 2958 e 2635 cm^{-1} designada para grupos de CH , CH_2 , CH_3 , uma faixa de proteínas entre 1745 e 1445 cm^{-1} assinalada por grupos NH , NH_2 , NH_3 e a região de polissacarídeos entre 1150 e 1020 cm^{-1} caracterizada por grupos funcionais COOH e CONH (Smith e Fleming, 1998). De acordo com Parker (1971) estes grupos funcionais são característicos das bactérias e como foi revelado

no espectrograma de infravermelho, estes grupos estão presentes na composição da parede da bactéria *R. opacus*.

Deo et al., (2000) determinaram os grupos funcionais presentes na parede da bactéria *Paenibacillus polymyxa*. Os resultados encontrados por eles estão em conformidade com o encontrado no presente trabalho.

5.1.3 Medidas de Potencial Zeta da bactéria *R. opacus*

A Figura 15 apresenta os resultados das curvas de potencial zeta em função do pH e da força iônica da solução.

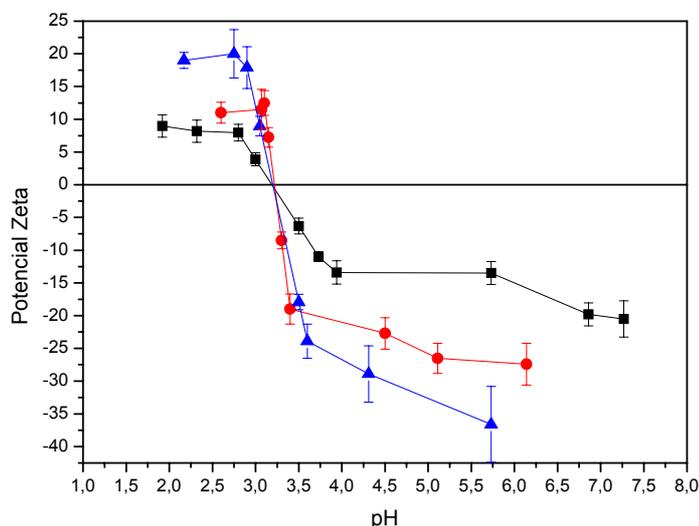


Figura 15: Curvas de Potencial Zeta para a bactéria *R. opacus* em função do pH
Legenda: NaCl ■ 10⁻⁴ M NaCl ● 10⁻³ M NaCl ▲ 10⁻² M NaCl

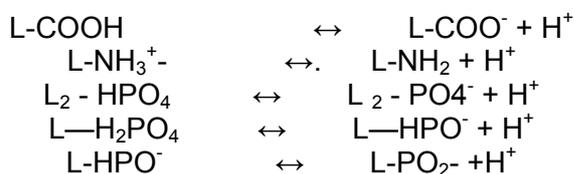
A curva de potencial zeta apresenta o comportamento da bactéria *R. opacus* como partícula carregada num meio aquoso. A presença de polissacarídeos, grupos fosfatados e amidas conferem à parede celular uma carga sobre a superfície que depende do valor de pH (Poortiga et al., 2002).

O valor de ponto isoelétrico (PIE) para o *R. opacus* foi de 3,2. O resultado concorda com os estudos feitos por Mesquita (2000). O valor ácido do PIE para o *R. opacus* poderia estar relacionado ao balanço entre grupos ácido/base e cargas aniônicas e catiônicas além da adsorção específica de íons. Este comportamento

parece ser um fenômeno geral para a maioria das células bacterianas as quais possuem PIE abaixo do pH 4. (Van der Wal et al., 1997, Mozes *et al.*, 1989).

Os resultados das curvas de potencial zeta refletem os resultados obtidos nos testes de infravermelho e da composição da parede do *R. opacus*. O ponto isoelétrico representa a combinação dos polímeros aniônicos de NH_3 , com os polissacarídeos com grupos fosfatos e carboxila associados com as proteínas, lipídeos e carboidratos presentes na parede celular da bactéria.

A carga total na parede celular da bactéria está determinada pela dissociação ou protonação dos grupos ácidos ou bases onde as seguintes reações podem ocorrer:



Geralmente L representa a parte da estrutura da parede celular que está quimicamente ligada (Van der Wal *et al.*, 1997).

Foi também estabelecido o efeito da força iônica sobre o comportamento das curvas de potencial da bactéria. Foi utilizado o NaCl e verificou-se como este atua como eletrólito indiferente, o PIE da bactéria *R. opacus* não foi modificado permanecendo perto do valor de 3,2 para as três concentrações de eletrólito testadas.

Ao aumentar a força iônica da solução observou-se que se estabelece uma redução dos valores do potencial zeta do *R. opacus*, abaixo do PIE têm-se valores menos eletro positivos. Estudos similares foram feitos por Shashikala et al., (2002), eles estabeleceram a relação entre a concentração do eletrólito indiferente e o comportamento da dupla camada elétrica ao redor de partículas de hematita e da bactéria *B. polymyxa*. Ao aumentar a força iônica da solução, a dupla camada elétrica que se forma ao redor da partícula é comprimida e os íons que se encontram perto da superfície da parede celular da bactéria são aproximados.

5.1.4

Medidas de Adesão do *R. opacus* entre solventes polares e apolares

A propriedade de aderência da superfície celular é um importante parâmetro na interação da bactéria *R. opacus* sobre as superfícies dos minerais. As medidas de aderência podem ser determinadas pela relação de células aderidas entre solventes polares e não polares.

A Tabela 20 apresenta os resultados dos testes de aderência do *R. opacus* para os solventes apolares e polares.

Tabela 20: Resultados dos testes de aderência da bactéria *R. opacus* para os diferentes solventes.

Concentração de tampão fosfato	% Aderência		
	Hexadecano	Acetato de Etil	Clorofórmio
M			
1	16,84	57,84	80,73
0,1	12,47	30,06	76,14
0,01	5	21,96	66,59

Adesão microbiana somente para hexadecano indica uma superfície celular totalmente hidrofóbica e as interações eletrostáticas estão ausentes. A adesão ou transferência para os solventes (clorofórmio e acetato de etil) poderia ser interpretada como uma medida da bactéria de ser doadora ou acceptora de elétrons.

Os resultados dos testes indicam que a bactéria *R. opacus* tem uma forte afinidade pelos solventes clorofórmio e acetato de etilo indicando afinidade por superfícies de características ácido – base, o que confirma a composição da parede celular como um balanço de grupos aniônicos e catiônicos.

Pelos experimentos de potencial zeta e infravermelho, a parede celular do *R. opacus* está conformada por grupos funcionais que lhe conferem características catiônicas /aniônicas. Estes grupos do tipo ácido - base interagiram com os grupos funcionais ácidos base das superfícies dos minerais.

Natarajan e Das (2003) fizeram os testes de aderência para a bactéria *A. ferroxidans* e encontraram que todas as cepas estudadas tinham uma forte afinidade pelo clorofórmio, o qual é um solvente polar do tipo acceptor de elétrons.

Sharma (2001) encontrou que a bactéria *B. polymyxa* tinha também maior afinidade pelo solvente devido aos grupos ácidos – base presentes na parede da bactéria.

Como pode ser observado na Tabela 20, a concentração do tampão de fosfato afeta a distribuição de células entre a fase aquosa e a fase orgânica. Aumentando a concentração da solução tampão, as proteínas da parede celular são desidratadas e a área hidrofóbica da superfície da parede celular aumenta. Por este motivo acrescenta o número de células transferidas para a fase orgânica. (Natarajan e Deo, 2001)

Além das características ácido-base, que foram determinadas nos testes de aderência, a bactéria *R. opacus* tem também características hidrofóbicas atribuídas à presença de ácidos micólicos e peptidoglicano na parede celular. Bendinger et al., (1993) estabeleceu alta capacidade de aderência do *Rhodococcus sp* para as superfícies de teflon, altamente hidrofóbica.

Os resultados de aderência obtidos para o *R. opacus* com o solvente hexadecano não refletem a propriedade hidrofóbica que a bactéria tem. As medidas de ângulo de contato feitas sobre a superfície da bactéria poderiam interpretar melhor o comportamento hidrofóbico da mesma.

5.2

Comportamento dos minerais antes e após Interação com *R. opacus*

5.2.1

Estudos de Potencial Zeta

As Figuras 16, 17 e 18 apresentam os resultados das curvas de potencial zeta em função do pH para a magnesita, calcita e barita respectivamente antes e após interação com a bactéria *R. opacus*.

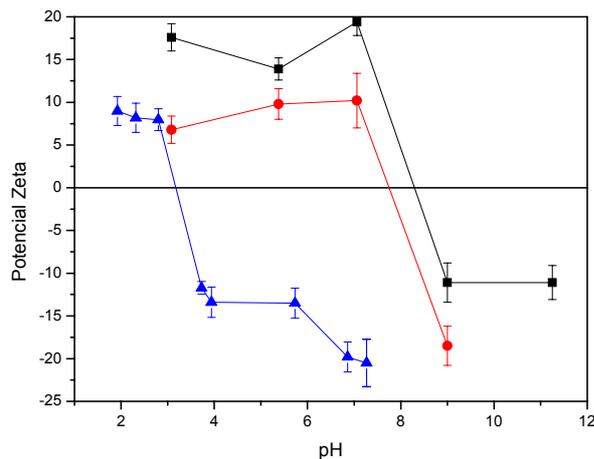


Figura 16: Curva de potencial zeta para magnesita NaCl como eletrólito indiferente.
 Legenda: ■ Magnesita ● Magnesita após interação com *R. opacus* ▲ *R. opacus*

A curva da magnesita antes da interação indica que o PIE foi de pH 8,2. Este resultado concorda com os estudos feitos por Pokrovsky et al., (1999), onde obtiveram valores de PIE semelhantes para diferentes tipos de magnesita.

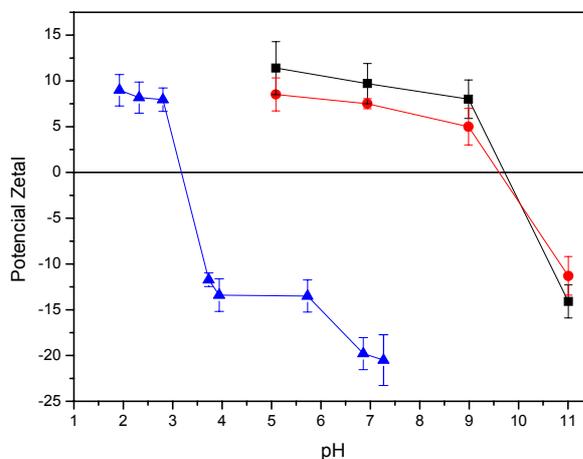


Figura 17: Curva de potencial zeta para calcita NaCl como eletrólito indiferente.
 Legenda: ■ Calcita antes interação ● Calcita após interação ▲ *R. opacus*

O PIE da calcita estudada foi de pH 10. Este valor confere com o encontrado por Vdovic e Biscan (1998).

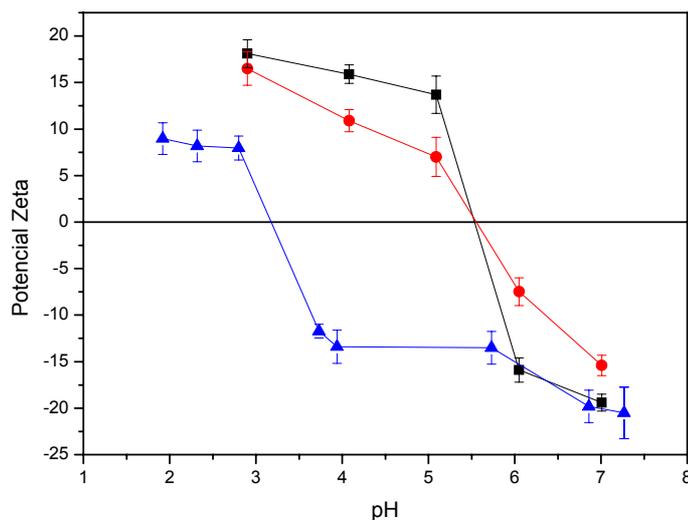


Figura 18: Curva de potencial zeta para barita. NaCl como eletrólito indiferente.
 Legenda: ■ Barita ● Barita após interação ▲ *R. opacus*

Nas curvas de potencial zeta para barita, o valor do PIE corresponde a 5,8. Este valor confere com o valor encontrado por Misra et al (2001).

Comparando a curva de potencial zeta do *R. opacus* com a curvas da magnesita, calcita e barita, observou-se que se apresenta uma janela entre o PIE do *R. opacus* (3,2) e o PIE dos minerais (magnesita pH 8,2, calcita pH 10, barita pH 5,9) na qual existe uma interação entre cargas opostas entre a bactéria e o mineral. Nesta faixa de pH, a bactéria tem um comportamento eletronegativo e o mineral positivo. Esta interação eletrostática poderia sugerir que pelo menos, nesta janela, poderá existir entre eles atração de cargas opostas favorecendo a adesão da bactéria sobre a superfície do mineral.

Analisando as Figuras 16, 17 e 18, após interação com a bactéria, observou-se modificações nos perfis das curvas de potencial zeta dos minerais. Este se poderia apresentar pela secreção das proteínas e carboidratos presentes na parede da bactéria e que interagiram com as superfícies dos minerais. Estes resultados foram também encontrados por Deo e Natarajan (1997), eles estabeleceram modificações nos valores de potencial zeta da calcita usando a bactéria *B. polymyxa* como biocoletor.

Embora, modificações nos perfis das curvas de potencial zeta sejam observadas para todos os minerais após interação com a bactéria *R. opacus*, para magnesita se

apresenta um deslocamento do PIE. Este comportamento poderia sugerir uma melhor afinidade das células do *R. opacus* pela superfície da magnesita como foi também encontrado por Patra e Natarajan (a 2003) quando estudaram a bioflotação de pirita de uma ganga mineral.

5.2.2 Análises de Infravermelho

As Figuras 19, 20 e 21 apresentam os espectrogramas de infravermelho para os minerais de magnesita, calcita e barita antes e após interação com a bactéria *R. opacus*

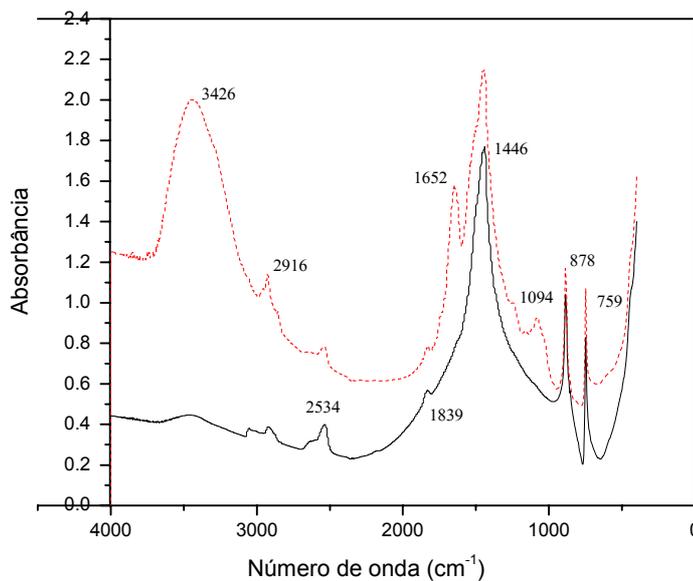


Figura 19: Espectrograma de Infravermelho para magnesita
Legenda: —antes interação com o *R. opacus* --- após interação com o *R. opacus*

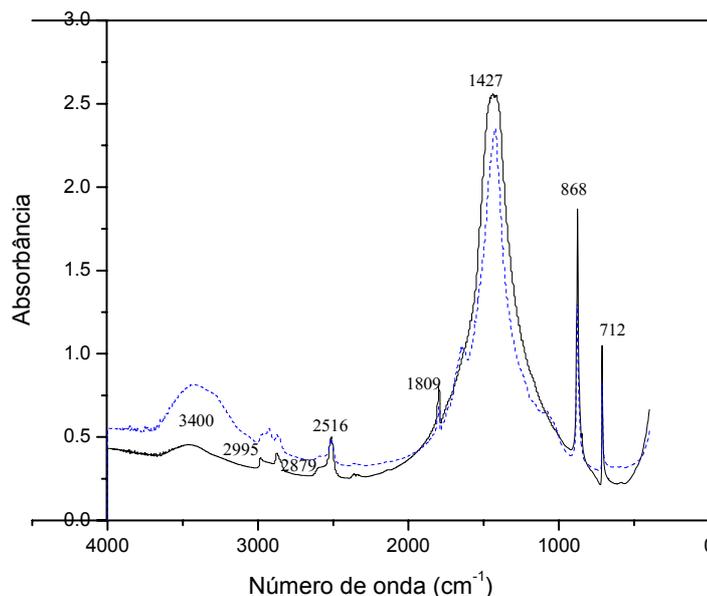


Figura 20: Espectrograma de Infravermelho para calcita

Legenda: —antes interação com o *R. opacus* --- após interação com o *R. opacus*

Os espectrogramas de infravermelho para os minerais de calcita e magnesita (Figuras 19 e 20) indicam os picos característicos para carbonatos. Faixas de absorvância entre 1798 – 1812, 1425 – 1435, 876 – 874 e 712 cm^{-1} são característicos de grupos assimétricos de carbonatos. Faixas entre 2545 e 2514 cm^{-1} representam as variações de Mg^{2+} ou Ca^{2+} , respectivamente. Os resultados obtidos nos espectrogramas para calcita estão de acordo com os encontrados por Bötcher et al., (1997) e Gunasekaran e Anbalagan (2006) para minerais do tipo carbonatos.

Fazendo uma comparação dos espectrogramas para magnesita (Figura 19), antes e após interação com o *R. opacus*, pode-se observar como o mineral exibe modificações no espectro de absorvância. Após a interação, observam-se picos de 3400 (cm^{-1}) correlacionados com grupos hidroxila (OH e NH), picos de 2916 (cm^{-1}) correspondentes a grupos de CH_3 e picos de 1094 cm^{-1} para grupos aminas. Estes grupos poderiam estar associados com os compostos presentes na parede celular da bactéria *R. opacus* e estariam interagindo com a superfície da magnesita.

Porém menor do que a magnesita, o espectrograma de infravermelho para calcita (Figura 20) também sofre modificações após a interação com a bactéria. Podem-se observar a presença dos picos de absorvância de 3400 e 2995 cm^{-1}

correspondentes a grupos hidroxila (OH e NH) e CH_3 respectivamente. Estes poderiam interagir com a superfície da calcita.

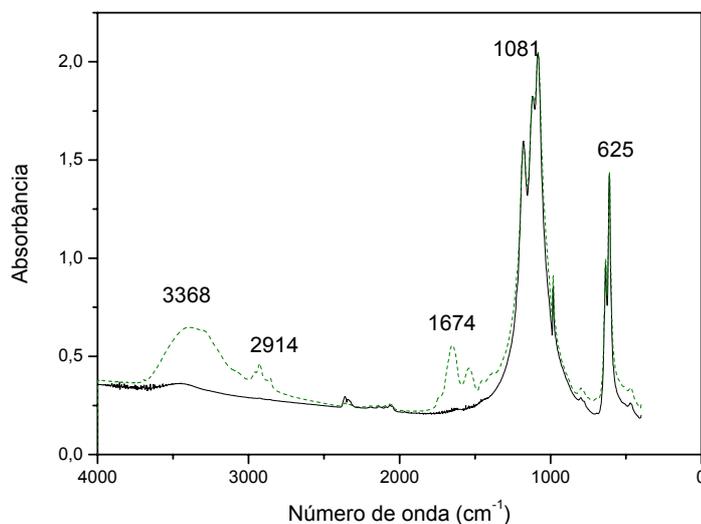


Figura 21: Espectrograma de infravermelho para Barita

Legenda: —antes interação com o *R. opacus* --- após interação com o *R. opacus*

Na Figura 21 pode-se observar o espectrograma de infravermelho para a barita antes da interação com o *R. opacus*. Os grupos de sulfetos (SO_4) da barita apresentam faixas características entre 600 e 1100 cm^{-1} . Os resultados obtidos estão de acordo com os estudos feitos por Sönmez e Cebeci (2003) para caracterizar suspensões da barita.

Embora, as modificações nos espectrogramas da barita sejam menores que as apresentadas nos espectros de magnesita, após interação com a bactéria *R. opacus* observou-se a presença de novos grupos funcionais. Picos de 3368-2914 e de 1674 cm^{-1} poderiam estar associados com os grupos de OH - NH e grupos NH_2 amidas presentes nas proteínas da parede celular da bactéria *R. opacus*.

Os resultados encontrados nos espectrogramas de infravermelho concordam com os estudos de potencia zeta que sugerem uma melhor afinidade da bactéria pela superfície da magnesita que pela calcita e barita.

Santhiya et al, (2002) compararam os espectros de galena e esfarelita após interação com os exopolissacarídeos (EPS) isolados da bactéria *B. polymyxa*. Eles encontraram que a esfarelita apresentou baixa afinidade pelos EPS e o espectrograma

de infravermelho apresentava menores modificações, por outro lado os espectros da galena exibiam uma maior afinidade pelos EPS e apresentavam modificações mais significativas.

5.2.3 Avaliação de Hidrofobicidade

A Figura 22 apresenta os resultados dos valores de ângulo de contato dos minerais em função do pH, após interação com a bactéria *R. opacus*. Como se pode observar na Figura, os três minerais exibem mudanças nas medidas de ângulo de contato em função dos valores de pH.

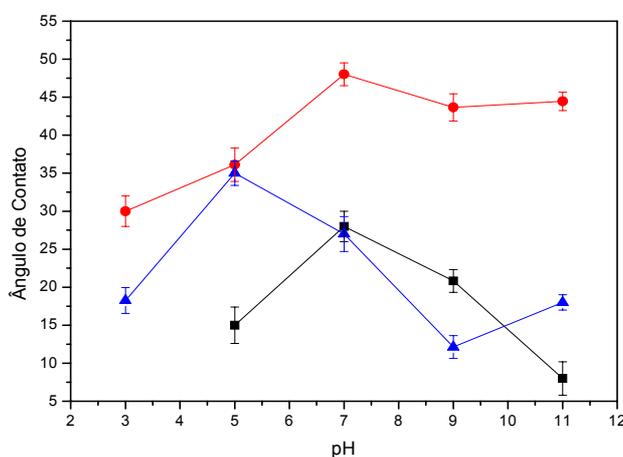


Figura 22: Influência do pH nas medidas de ângulo de contato dos minerais
Legenda: ■ Calcita ● Barita ▲ Magnesita

A magnesita foi o mineral que apresentou uma maior modificação nas medidas de ângulo de contato. Para valores de pH entre 5 e 7, houve um aumento nas medidas de até quase 20° comparado com os obtidos para pH 3, 9 e 11.

No caso da calcita, as modificações nas medidas de ângulo de contato foram menores, apresentando um valor máximo no aumento nas medidas de 27° para pH 7.

A barita apresenta uma hidrofobicidade natural maior que a apresentada para os minerais do tipo carbonatos (Wills, 1997). Como podem ser observados na Figura, na faixa de pH, os valores de ângulo de contato foram maiores que os encontrados para calcita e magnesita. A maior modificação na barita foi para um valor de pH 7, onde o aumento nas medidas de ângulo de contato foi de quase 15°.

Vários autores têm relacionado modificações nas medidas de ângulo de contatos nas superfícies minerais como função do pH, e a interação com a parede celular da bactéria. Mesquita (2000) encontrou mudanças nos valores de ângulo de contato para hematita e quartzo com o *R. opacus* em função dos valores de pH. Dubel et al., (1992) correlacionaram as medidas de ângulo de contato com o aumento da concentração da bactéria *Mycobacterium phlei*.

Variações nas medidas de hidrofobicidade indicam que além da interação da superfície do mineral com a parede celular da bactéria, existe uma modificação nas características hidrofóbicas do mineral, estes resultados permitem sugerir o comportamento que a bactéria *R. opacus* vai apresentar como coletor nos estudos posteriores de flotação dos minerais.

Os resultados de medida de ângulo de contato completam os estudos de potencial zeta e infravermelho onde se verifica a interação do *R. opacus* com a superfície dos minerais.

5.3 Estudos de Adsorção

Os experimentos de adesão bacteriana estabelecem a afinidade que o microorganismo tem pelas superfícies dos minerais. De acordo com Sharma e Hunumantha, (2002) a afinidade pode-se apresentar pela interação entre os grupos funcionais da parede celular da bactéria e a superfície mineral. O pH da solução, tempo de contato e concentração do microorganismo são fatores importantes que foram avaliados para determinar a capacidade de adsorção do *R. opacus* sobre as superfícies dos minerais.

5.3.1 Estudos de Efeito do pH

Na Figura 23 temos os resultados dos experimentos de adesão em função do pH sobre as superfícies de magnesita, calcita e barita. Os valores de pH estudados foram selecionados baseados nos resultados das curvas de potencial zeta. Devido à alta solubilidade da calcita no meio ácido, o estudo de adsorção da calcita foi feito para pH acima de 5.

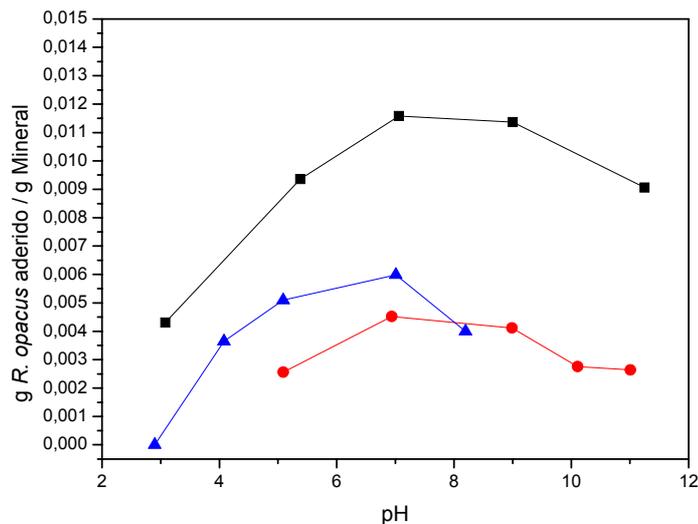


Figura 23: Influência do pH na adsorção de *R. opacus* sobre as superfícies minerais
 Legenda: ■ Magnesita ● Calcita ▲ Barita

Os resultados indicam que a bactéria tem capacidade de aderir sobre as superfícies dos três minerais, embora as células de *R. opacus* exibam maior afinidade pela superfície da magnesita nos valores de pH testados.

O estudo de adesão revelou que a capacidade de adsorção das células sobre as superfícies foi fortemente dependente dos valores de pH. Estes determinam as características catiônicas e / ou aniônicas e a ativação de grupos funcionais que estejam presentes nas superfícies dos minerais e do microorganismo afetando assim a afinidade do *R. opacus*.

Os resultados se assemelham ao obtido por Subramanian et al., (2003) quando estudaram o efeito do pH sobre os mecanismos de adsorção do *B. polymyxa* sobre a superfície de minerais sulfetos.

Para a magnesita o valor de pH onde se apresentou a melhor afinidade foi de 7, neste valor, a quantidade de células aderidas sobre a superfície mineral foi maior. Para calcita, a maior adesão foi para os valores pH de 7 e 9 e para barita foi de 7.

5.3.2

Efeito do tempo e da concentração do *R. opacus*

As Figuras 24, 25 e 26 apresentam os resultados dos estudos de adsorção para avaliar o efeito do tempo e da concentração do *R. opacus* sobre as superfícies de magnesita, calcita e barita respectivamente.

Para avaliar o efeito da contração do *R. opacus* foram selecionados os valores de pH onde se apresentou uma melhor adsorção das células sobre as superfícies dos minerais, para a magnesita pH 7, a calcita pH 9 e a barita pH 7.

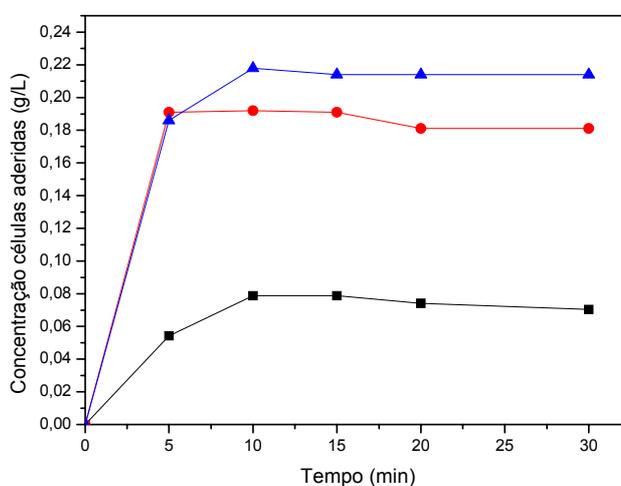


Figura 24. Efeito do tempo na adsorção do *R. opacus* sobre a superfície da magnesita. pH 7. Legenda: Concentração *R. opacus* (g.L⁻¹) ■ 0,1 ● 0,3 ▲ 0,5

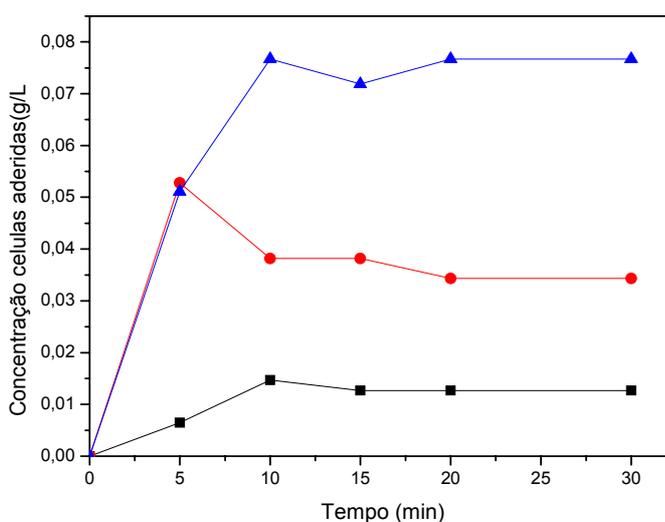


Figura 25. Efeito do tempo na adsorção do *R. opacus* sobre a superfície da calcita. pH 9. Legenda: Concentração *R. opacus* (g.L⁻¹) ■ 0,1 ● 0,3 ▲ 0,5

Os experimentos de adsorção do *R. opacus* sobre as superfícies dos minerais revelaram uma cinética rápida, atingindo uma concentração máxima de células nos primeiros 5 minutos. Após os 15 minutos, a curva permanece constante.

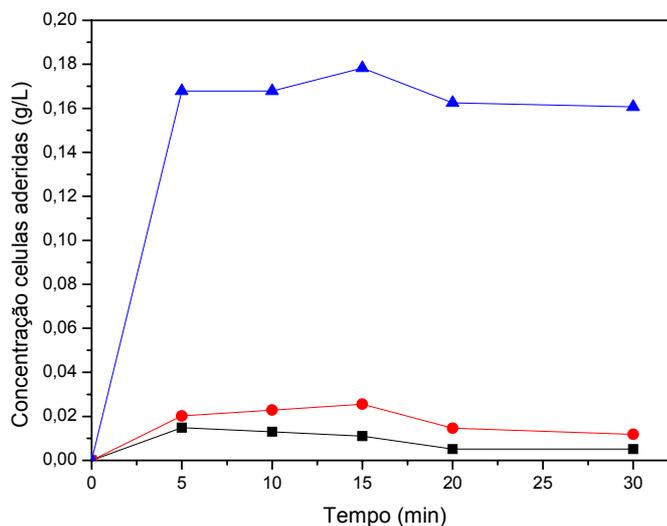


Figura 26. Efeito do tempo na adsorção do *R. opacus* sobre a superfície da barita pH 7. Legenda: Concentração *R. opacus* (g.L⁻¹) ■ 0,1 ● 0,3 ▲ 0,5

Outros autores estudaram a cinética de adsorção de células sobre superfícies minerais. Patra e Natarajan (2003) encontraram diferenças de afinidade do *B. polymyxa* pelas superfícies de pirita, calcita e quartzo. Todos os experimentos de adsorção indicavam que os três minerais chegavam até saturação após 20 min.

A concentração do *R. opacus* é uma variável muito importante que afeta a velocidade de adsorção das células sobre a superfície. Os resultados demonstraram que com aumento da concentração das células, aumenta a capacidade de adsorção.

As curvas de adsorção para os minerais em função da concentração do *R. opacus* apresentaram um comportamento similar, mas na superfície da magnesita, a quantidade de células adsorvidas foi maior atingindo um máximo de concentração de 0,22 g L⁻¹ e usando uma concentração inicial de células de 0,5 g L⁻¹.

Os ensaios de adsorção confirmam os resultados encontrados nos testes feitos para avaliar o comportamento dos minerais antes e após interação com a bactéria, indicando uma melhor afinidade do *R. opacus* pela superfície da magnesita.

5.3.3 Isotermas de adsorção

As isotermas de adsorção permitem determinar a capacidade de adsorção das células de *R. opacus* sobre a superfície dos minerais. A densidade celular representa o número de células depositadas por grama de mineral. Esta densidade depende da afinidade que possuem as superfícies pelos grupos funcionais presentes na parede da bactéria. As Figuras 27, 28 e 29 apresentam as isotermas de adsorção da bactéria *R. opacus* sobre as superfícies de magnesita, calcita e barita respectivamente.

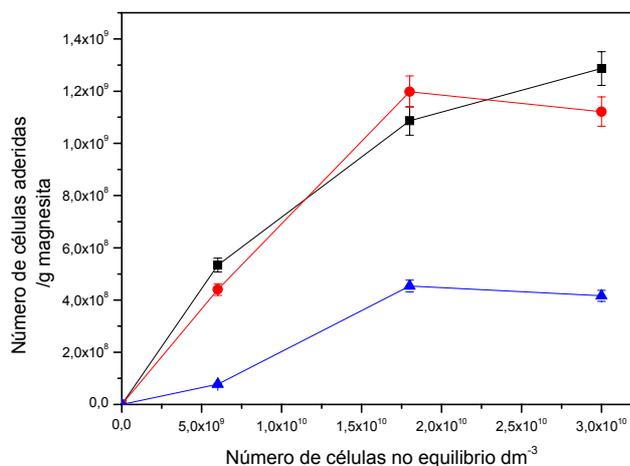


Figura 27. Isoterma de adsorção do *R. opacus* sobre a superfície da magnesita
Legenda: ■ pH 7 ● pH 9 ▲ pH 3

No caso da magnesita, pode-se observar que o número de células do *R. opacus* adsorvidas sobre a superfície dos minerais incrementa com o correspondente aumento na concentração das células no equilíbrio, o número de células adsorvidas sobre a superfície da magnesita chega até um valor de $1,2 \times 10^9$ células por grama de mineral. Após atingir a máxima concentração celular, a densidade celular é mantida constante. O maior número de células adsorvidas é atingido para valores de pH 7 e 9; para valores de pH 3 observa-se que a densidade celular foi menor.

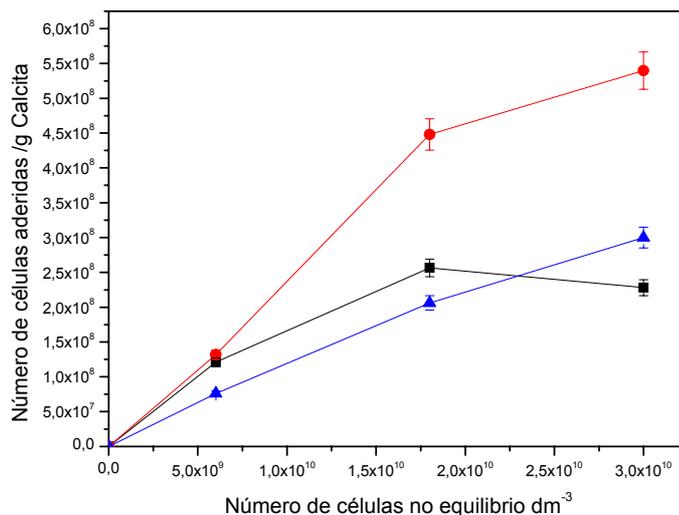


Figura 28. Isoterma de adsorção do *R. opacus* sobre a superfície calcita, Legenda: ■ pH 5 ● pH 7 ▲ pH 9

Para a isoterma da calcita se verifica também um incremento da densidade celular, com o correspondente aumento na concentração das células no equilíbrio até chegar ao estado estacionário, porém a densidade das células sobre a superfície da calcita foi menor. O máximo número de células sobre a superfície foi de $5,5 \times 10^8$ células por grama de calcita para pH 7.

A isoterma de adsorção da barita tem um comportamento similar às anteriores, mas a densidade de adsorção celular foi menor. O máximo número de células sobre a superfície foi de 2×10^8 células por grama de mineral para de pH 7.

Como se pode observar nas isotermas, a adsorção de células do *R. opacus* sobre a superfície do mineral aumenta progressivamente até alcançar um estado estacionário. De acordo com a classificação feita por Giles, as isotermas de adsorção da bactéria sobre os minerais poderiam se categorizar como Langmuir do tipo II (Volesky, 1990). As células de *R. opacus* poderiam adsorver sobre os sítios ativos da superfície mineral até alcançar um estado de saturação.

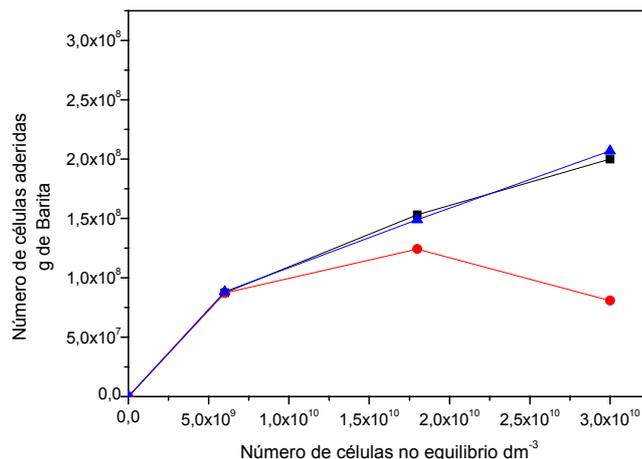


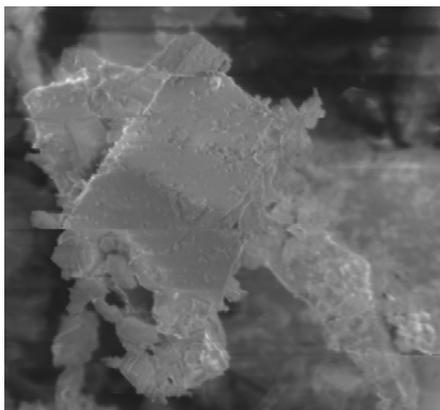
Figura 29. Isotherma de adsorção do *R. opacus* sobre a superfície da barita, Legenda: ■ pH 5 ● pH 3 ▲ pH 7

Vários autores têm estudado o comportamento das isothermas de adsorção de células sobre a superfície dos minerais. Shashikala e Raichur (2001) estudaram as isothermas de *B. polymyxa* sobre as superfícies de hematita e quartzo e encontraram também um comportamento do tipo Lagmuriano. Ohmura et al., (1993) encontraram um comportamento parecido para as bactérias *T. ferroxiens* e *E. coli* sobre a superfície de pirita.

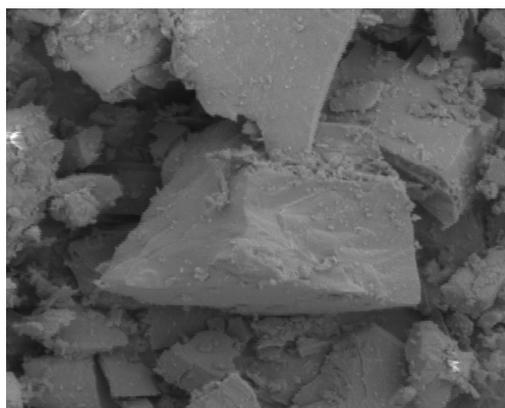
5.3.4 Microfotografias dos minerais através do M. E. V.

As microfotografias dos minerais de magnesita, calcita e barita antes e após adsorção da bactéria *R. opacus*, obtidas através de microscopia eletrônica de varredura são apresentados nas Figuras 30, 31 e 32.

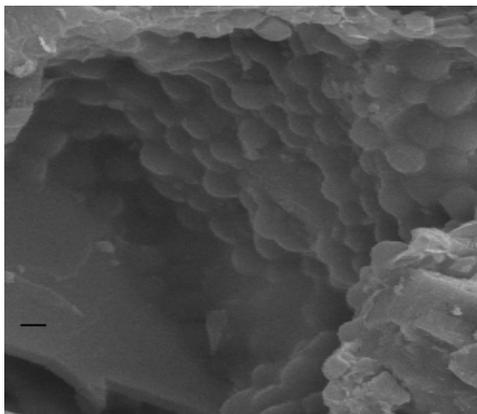
As imagens mostram a bactéria de *R. opacus* aderida sobre a superfície dos minerais.



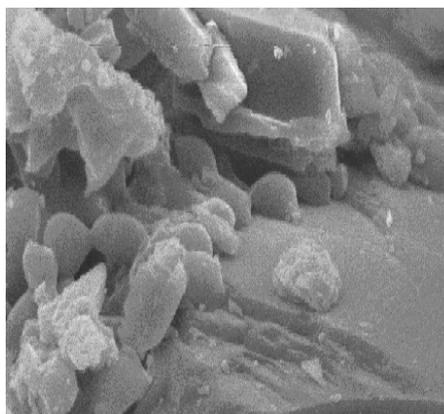
(a) Magnesita antes interação (aumento 2000X)



(b) Magnesita antes interação (aumento 3000X)

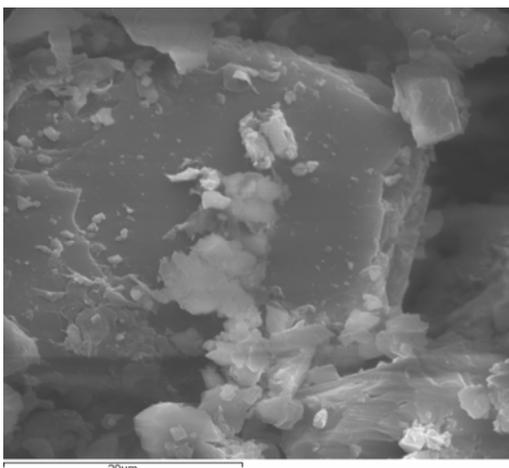


(c) Magnesita após interação (aumento 5000X)

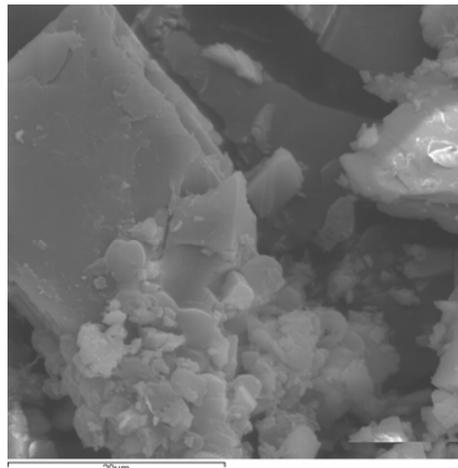


(d) Magnesita após interação (aumento 10000X)

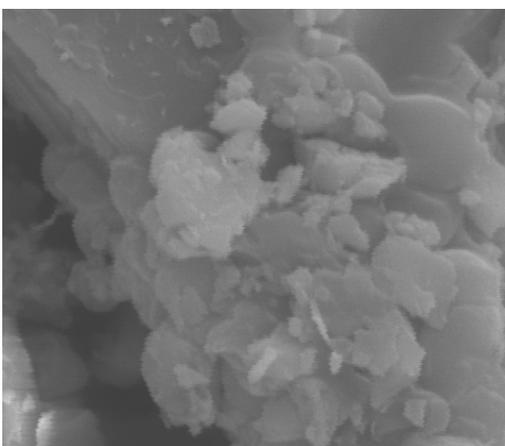
Figura 30. Microfotografias da magnesita antes e após adsorção com *R. opacus*
Obtidas através da microscopia eletrônica de varredura



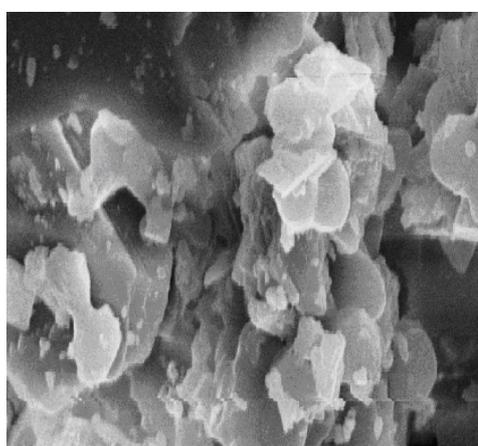
(a) Calcita antes interação (aumento 2000X)



(b) Calcita antes interação (aumento 5000X)



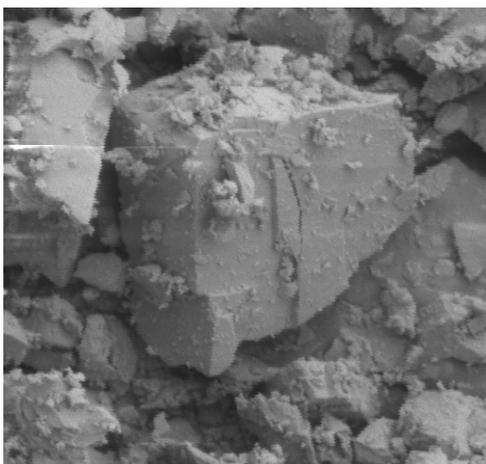
(c) Calcita após interação (aumento 10000X)



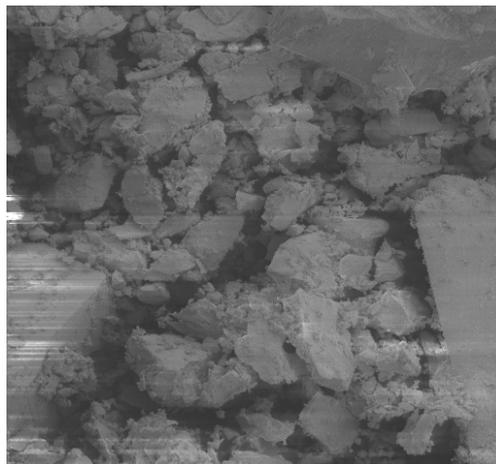
(d) Calcita após interação (aumento 5000X)

Figura 31. Microfotografias da calcita após adsorção com *R. opacus*
Obtidas através da microscopia eletrônica de varredura

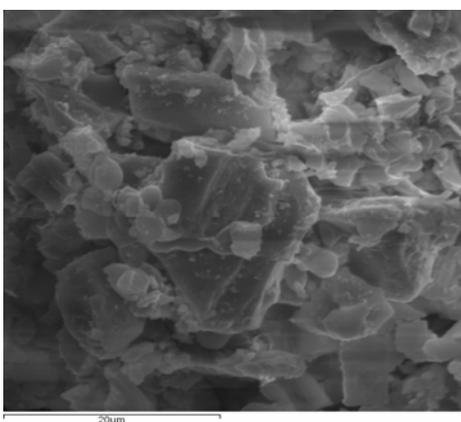
As imagens indicam a adsorção das células de *R. opacus* sobre as superfícies minerais. Comparando as microfotografias, pode-se sugerir que a quantidade de células depositada sobre a magnesita foi maior que para calcita e barita. Esta observação esta em concordância com os resultados de adsorção.



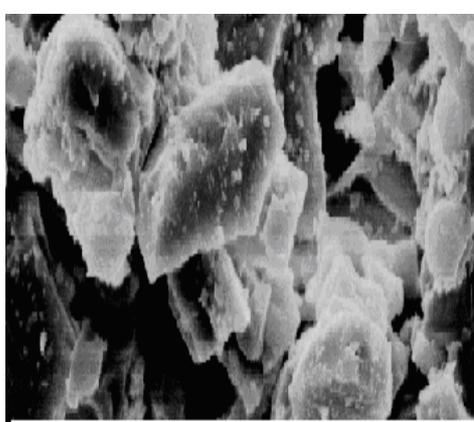
(a) Barita antes interação (aumento 2000X)



(b) Barita antes interação (aumento 500X)



(c) Barita após interação (aumento 10000X)



(d) Barita após interação (aumento 5000X)

Figura 32. Microfotografias da barita após adsorção com *R. opacus*
Obtidas através da microscopia eletrônica de varredura

5.4. Estudos de Microflotação

5.4.1 Efeito da concentração de *R. opacus*

Os estudos de Microflotação foram realizados para avaliar o potencial do *R. opacus* como biocoletor. Baseados nos melhores resultados de adsorção foram selecionados três valores de pH para serem usados nos testes de flotação.

A Figura 33 apresenta os resultados obtidos nos experimentos de flotação para a magnesita.

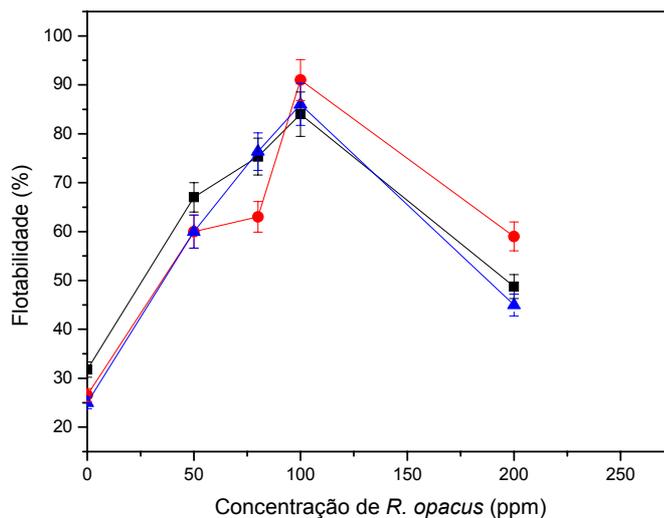


Figura 33: Efeito da concentração do *R. opacus* na flotabilidade da magnesita
 Legenda: ■ pH 5 ● pH 7 ▲ pH 9

Na Figura 33 se observa que a melhor porcentagem de flotabilidade da magnesita foi de 92% usando uma concentração de *R. opacus* de 100 ppm. Pode-se observar também que para a concentração de *R. opacus* de 100 ppm a diferença de porcentagem de flotabilidade entre os valores de pH não é significativa.

Os resultados da flotação da magnesita estão em concordância como os testes de adsorção que mostraram uma alta afinidade das células pela superfície da magnesita. Os grupos carboxila os lipídeos presentes tais como glicolípídeos, fosfolípídeos e lipídeos livres poderiam apresentar interação pela superfície mineral e modificar as propriedades hidrofóbicas do mesmo. Os autores Sheng et al., (2001) encontraram que estes grupos funcionais dos polímeros, presentes na parede das células do *Mycobacterium phlei*, seriam os responsáveis da adesão da bactéria sobre a dolomita, conseqüentemente facilitando a separação de apatita.

Gawel et al., (1997) estudaram os efeitos do biotratamento na recuperação da magnesita usando *Aspergillus niger*. Como foi sugerido no estudo, a formação de complexos entre os grupos metabólicos das células e as espécies presentes na superfície da magnesita deve ser considerada para entender os mecanismos de adsorção do *R. opacus* sobre a magnesita.

A melhor porcentagem da magnesita foi atingida com uma concentração de *R. opacus* de 100 ppm, acima deste valor a porcentagem decresceu. O fato

aparentemente acontece pela formação de flocos grandes de magnesita que não poderiam ser levitados pelas bolhas de gás. Os resultados sugerem uma concentração crítica do *R. opacus* onde a partir dela se poderia reduzir a capacidade coletora do microorganismo. Dubel *et al.*, (1992) encontraram resultados similares usando o *Mycobacterium phlei* como coletor na flotação de hematita. Poderia sugerir-se que a alta afinidade da bactéria com a magnesita forma pontes as células e a superfície mineral aumentando o tamanho dos flocos.

De acordo com as características de aderência da bactéria, a qual tem alta afinidade pelos grupos ácido-base, poder-se-ia afirmar que na superfície da magnesita, os sítios ocupados pelos grupos Mg^{2+} têm um papel fundamental nos mecanismos de interação da bactéria sobre a superfície. Beveridge e Murray (1976) e Fein *et al.*, (1997) encontraram que alguns grupos funcionais das bactérias Gram positivas tem uma alta afinidade por determinados íons metálicos que permite a ligação ácido base.

A Figura 34 mostra os resultados de porcentagem de flotabilidade da calcita usando o *R. opacus* como biocoletor.

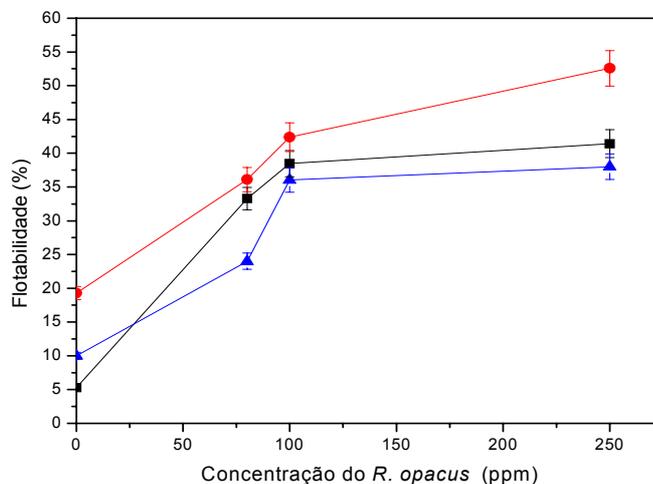


Figura 34: Efeito da concentração do *R. opacus* na flotabilidade da calcita
 Legenda: ■ pH 5 ● pH 7 ▲ pH 9

Os resultados de flotação da calcita indicam que embora a porcentagem da calcita na presença do *R. opacus* foi menor que para magnesita, Para pH 7, o aumento na concentração do coletor *R. opacus* melhora a flotação da calcita. O melhor valor de porcentagem da calcita flotada foi de valores próximos de 55% com uma concentração de 250 ppm e um pH de 7.

Patra e Natarajan (2003) estudaram a flotação da calcita usando uma bactéria Gram positiva, eles encontraram que os polissacarídeos da parede celular afetam a recuperação da calcita. Natarajan, (2006); Pavlovic e Brandão (2003) e Subramanian *et al.*, (2003) encontraram que os EPS presentes nas paredes das bactérias poderiam interagir com as partículas minerais.

Embora, os minerais da calcita e magnesita pertençam ao mesmo grupo carbonato, encontrou-se diferenças na porcentagem de flotabilidade. As diferenças nos resultados entre magnesita e calcita podem ser atribuídas aos grupos iônicos de Mg^{2+} e Ca^{2+} respectivamente. Como foi determinado nos estudos de aderência da bactéria, o *R. opacus* apresenta alta afinidade por grupos ácido base e de acordo com Beveridge e Murray (1976), esta afinidade seria maior pelos íons de Mg^{2+} que pelos íons de Ca^{2+} .

Sheng *et al.*, (2001) encontraram que a bactéria *B. subtilis* tinha uma maior afinidade pela superfície da apatita que contém íons de Mg^{2+} que pela dolomita contendo íons de Ca^{2+} . Eles encontraram que o microorganismo melhorava a separação seletiva entre a apatita e a dolomita.

A Figura 35 mostra as porcentagens de flotabilidade da barita usando *R. opacus* como biocoletor.

No caso da flotação da barita, usando o *R. opacus* como coletor, encontrou-se que a melhor flotabilidade é de 70% para o valor de pH 7 e usando uma concentração de *R. opacus* de 350 ppm. Também se pode observar que para o caso da barita, aumentando a concentração de coletor, melhora a flotação do mineral.

Kolahdoozan *et al.*, (2004) usaram a bactéria *A. ferroxidans* para estudar a flotação de sulfeto de cobre, eles encontraram que a bactéria apresentava afinidade pela superfície do mineral e atingiam recuperação de até 70 para cobre e 40 % para ferro.

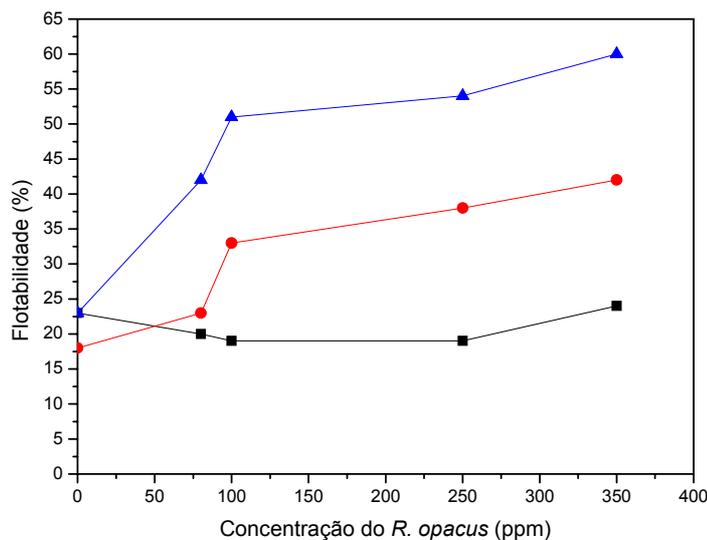


Figura 35: Efeito da concentração do *R. opacus* na % de flotabilidade da barita
 Legenda: ■ pH 3 ● pH 5 ▲ pH 7

5.4.2 Efeito do *R. opacus* com coletores tradicionais

Assim como é importante determinar a capacidade coletora da bactéria *R. opacus*, é interessante também avaliar o efeito que a bactéria têm com os coletores empregados tradicionalmente na flotação dos minerais.

A Figura 36 mostra os resultados da flotação usando a bactéria *R. opacus* e oleato de sódio para magnesita e calcita como foi reportado por Liu et Liu (2004) e Sódio Dodecil sulfato (SDS) para barita como foi reportado por Ozkan e Yekeler (2003).

Como se mostra a Figura 36, a bactéria *R. opacus* não parece ter um efeito significativo na flotação da magnesita. Os valores de porcentagem permanecem relativamente constantes com o aumento da concentração da bactéria.

Analisando os resultados para calcita, se observa que a bactéria parece ter um efeito negativo na flotação do mineral, na medida que aumenta a concentração da bactéria, diminui a flotabilidade. Os grupos funcionais presentes nos polissacarídeos da parede celular do microorganismo poderiam interagir com os grupos funcionais do oleato de sódio e afetar sua capacidade coletora.

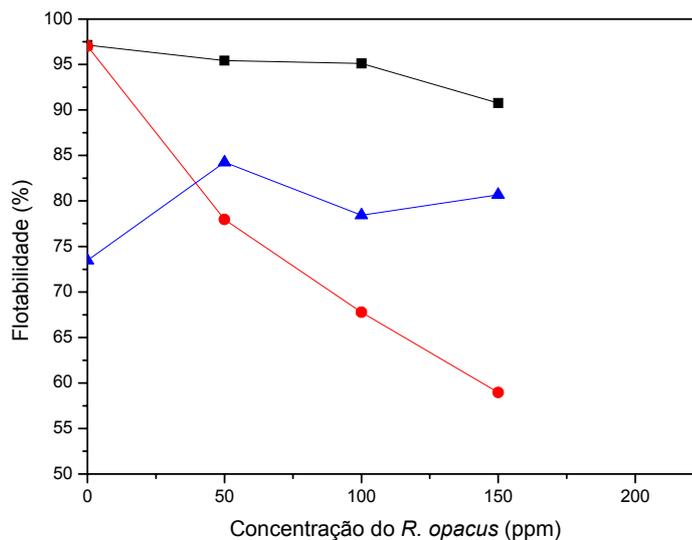


Figura 36: Efeito da adição de *R. opacus* na flotabilidade com coletores tradicionais

Legenda: ■ Magnesita na presença de oleato de sódio (100 ppm)
 ● Calcita na presença de oleato de sódio (100 ppm)
 ▲ Barita na presença de SDS (200 ppm)

Santhiya *et al.*, (2002) avaliaram o efeito dos exopolissacarídeos (EPS) da bactéria *B. polymyxa* na flotação de esfarelita e galena usando o xantato de potássio como coletor. Eles encontraram que após a adição dos EPS, a flotação da esfarelita permanecia constante e a porcentagem da flotação da galena era reduzida. Neste caso os EPS atuavam como depressores da galena.

No caso da barita, a influência mútua entre a bactéria e o coletor SDS parece ter um efeito positivo no aumento da flotabilidade do mineral. Os grupos de lipídeos presentes na parede da bactéria poderiam interagir com os próprios do SDS melhorando assim as características hidrofóbicas do mineral.

Vários autores estabeleceram uma melhora nos resultados de flotação do coletor tradicional na presença de ativadores de tipo bacteriano. É o caso de Sheng *et al.*, (2001) reportaram que a presença da bactéria *M. plei* e o oleato de sódio atuando como coletor, melhorava a separação seletiva de dolomita e apatita. Eles supuseram que os grupos amidas e ácidos carboxílicos, presentes na parede do microorganismo, tinham um efeito modulador com o coletor melhorando a flotação e consequentemente a separação dos minerais.

5.5 Avaliação das energias de Interação

A Tabela 21 mostra os resultados dos cálculos para avaliar os diferentes componentes de energia livre interfacial para a bactéria *R. opacus* e para os minerais de barita, calcita e magnesita usando as equações das aproximações mencionadas no Capítulo 1.

Tabela 21: Equações para avaliar os componentes da energia livre interfacial

Equação	Tensão interfacial (mJm ⁻²)	Bactéria	Barita	Calcita	Magnesita
Fowkes	γ^d	0,64	2,42	0,59	3,78
Meia Geométrica	γ^d	0,64	2,42	0,59	3,78
	γ^h	34,04	35,85	15,13	12,27
	γ^{total}	34,65	38,27	15,62	16,05
Liftiz van der wal AB	γ^+	8,12	207,13	5,69	51,14
	γ^-	28,51	0,796	57,02	9,41
	γ^{LW}	0,64	2,42	0,59	3,78
	γ^{AB}	30,421	44,80	36,02	43,88
	γ^{total}	31,06	47,22	36,61	47,67

Os resultados obtidos no cálculo de tensão interfacial indicam que os valores para as componentes apolares γ^d usando a equação de Fowkes, e γ^{LW} com a equação de Liftiz van der wal têm valores iguais. As equações correspondentes usadas para avaliar estes componentes apolares são similares e eles requerem somente uma medida do ângulo de contato com o solvente apolar α -bromonaftaleno.

Já no caso dos componentes polares se observam diferenças entre os valores de γ^h , usando a aproximação da meia geométrica; com os valores de γ^{AB} , usando a equação de Liftiz van der wal. Para o cálculo do γ^h são necessários os valores de ângulo de contato de um solvente polar e um apolar (água e formamida). Para o cálculo de γ^{AB} são necessários os valores de três medidas de ângulo de contato, dois com solventes polares e um com o solvente do tipo apolar.

O valor de tensão interfacial obtidos a través da aproximação de Liftiz van der wal representariam melhor a divisão da energia livre interfacial total. (van Oss, 1995).

5.5.1

Aproximação Termodinâmica para a Avaliação da Energia de Interação da bactéria com solventes

A Figura 37 representa os valores de tensão interfacial para cada um dos componentes de energia livre para a bactéria *R. opacus* obtidos a través da equação de Lifitz van der wal .

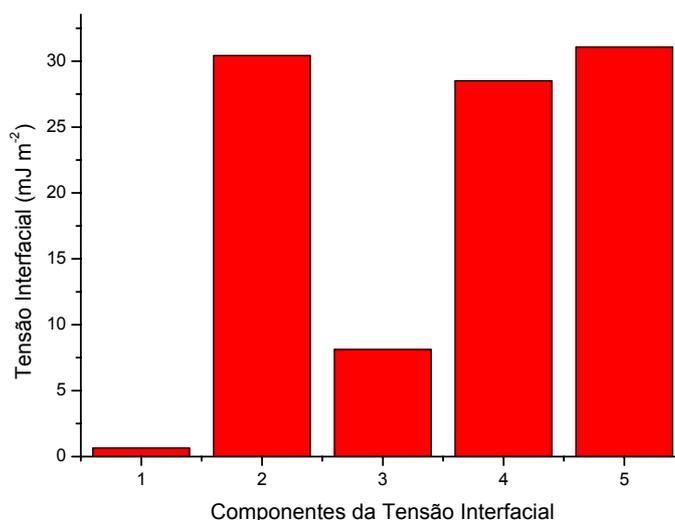


Figura 37: Componentes de tensão interfacial para *R. opacus*

Legenda: 1: γ^{LW} ; 2: γ^{AB} ; 3: γ^+ ; 4: γ^- ; 5: γ^{TOTAL}

Os valores de tensão interfacial γ^{LW} para a bactéria *R. opacus* estão em concordância com os estudos feitos por Cristofi e Ivishina (2002). Eles mediram a tensão interfacial para diferentes cepas de *Rhodococcus* e encontraram que os valores de tensão variavam entre 0 e 9 mJ.m⁻².

Analisando a Figura 37 pode-se observar que para o *R. opacus*, os valores dos componentes γ^- doador de elétrons e o componente γ^+ acceptor de elétrons são maiores que o componente γ^{LW} , confirmando que a bactéria vai ter afinidade pelas superfícies ácido-base.

A Tabela 22 exhibe os resultados do cálculo da aproximação termodinâmica para a bactéria e o solvente apolar (hexadecano) e solventes polares doadores de elétrons (etiloacetato) e acceptor de elétrons (clorofórmio).

Tabela 22: Energia de adesão da bactéria para os solventes

Solvente	G^{LW} (mJ)	G^{AB} (mJ)	G total (mJ)
Etilacetato	1,70	-0,01	1,68
Hexadecano	4,59	-19,30	-14,70
Clorofórmio	4,19	-20,42	-16,24

A Tabela 22 mostra que a energia total de interação da bactéria com os solventes é mais negativa para o caso do clorofórmio. Estes resultados coincidem com os obtidos nos estudos de aderência onde se apresentou uma maior afinidade da bactéria pelo solvente polar.

No caso do solvente hexadecano se observa que a energia total de interação é também negativa, indicando uma atração entre a bactéria e o solvente apolar. A diferença dos testes de aderência, os resultados pela aproximação termodinâmica são similares aos obtidos por Bendinger *et al.*, (1993) e confirmam as propriedades hidrofóbicas de bactéria.

Para etilacetato a energia total de interação foi positiva, o que significa que existe uma repulsão das células pelo solvente polar doador de elétrons. Estes resultados são opostos aos testes de aderência onde se teve afinidade das células pelo solvente.

Analisando as diferenças entre as aproximações termodinâmicas com os testes de aderência, estas poderiam ser atribuídas às metodologias de medição empregadas para cada caso. Os testes de aderência estão baseados nas medidas de concentração celular as quais poderiam ser afetadas pela presença de solventes nas amostras. No caso da avaliação das energias de interação, as medidas são feitas no goniômetro e os valores de ângulo de contato representam melhor o comportamento da interface solvente - bactéria- ar. (Cheng e Strevett, 2003).

Estudos comparativos entre os testes de aderência e as aproximações termodinâmicas foram feitos por Sharma *et al.*, (2001). Eles encontraram inconsistências nos resultados dos testes de aderência para a bactéria *B. polymyxa* e utilizaram os resultados dos cálculos de energia total para explicar a afinidade da bactéria pelos solventes.

5.5.2

Aproximação Termodinâmica do *R. opacus* com os Minerais

A Tabela 23 apresenta os valores dos componentes de tensão interfacial para a bactéria *R. opacus* calcita, magnesita e barita e os valores de energia de adesão ΔG_{adh} para os sistemas bactéria - água - mineral.

Tabela 23: Aproximação Termodinâmica de adesão para os sistemas bactéria mineral.

Componente	ΔG^{LW}_{bwm} (mJ)	ΔG^{AB}_{bwm} (mJ)	ΔG^{adh}_{bwm} (mJ)
Calcita	-6,23	39,08	-7,03
Magnesita	-13,2	9,91	-32,20
Barita	-119,37	-7,03	-119,37

Usando a aproximação termodinâmica e analisando os valores de energia de adesão, ΔG^{AB}_{bwm} , ΔG^{adh}_{bwm} para os sistemas de magnesita, calcita e barita; é interessante observar como a energia de adesão para todos os minerais é negativa, sugerindo uma adsorção espontânea da bactéria sobre as superfícies. A aproximação confirma os resultados dos testes de adsorção onde se observou as células de *R. opacus* apresentavam afinidade pelas superfícies minerais.

Comparando os valores da energia de adesão de magnesita, observa-se que a magnesita foi a mais negativa comparada com os valores da calcita; esta aproximação prediz a afinidade da bactéria sobre a superfície da magnesita e sustenta os resultados de adesão obtidos neste estudo.

Grasso et al., (1996) determinaram a aproximação termodinâmica para avaliar os resultados de adesão da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* sobre a superfície de dolomita. Eles confirmaram os resultados obtidos nos testes de adesão com a aproximação termodinâmica

No caso da barita, o valor da energia de adesão foi muito mais negativo que para calcita e magnesita. Este resultado contradiz o encontrado nos testes de adesão onde a afinidade foi menor que para a magnesita. Seria interessante avaliar outras condições experimentais nos testes de adesão e flotação que estabeleçam melhor a afinidade da bactéria pela superfície da barita e conferir com o encontrado na aproximação termodinâmica.

Sharma e Hunumantha (2003) fizeram um estudo comparativo das energias de interação para o sistema pirita com a bactéria *P. polymyxa*. Eles empregaram a aproximação termodinâmica para prever a energia de adesão. Neste caso encontrou-se que as aproximações termodinâmicas não podiam prever a adesão experimentalmente encontrada nos ensaios de adesão e flotação da pirita.

5.5.3

Teorias DLVO e X-DLVO do *R. opacus* com as Partículas Minerais.

A avaliação das energias de interação entre a bactéria *R. opacus* e as superfícies dos minerais em função da distância entre elas foram avaliadas comparando as teorias DLVO clássica e DLVO estendida (X-DLVO).

Para avaliar a energia de interação mediante as teorias DLVO e X-DLVO é necessário determinar primeiro as constantes de Hamaker individuais e depois a constante para sistema mineral - água - bactéria. Os valores das constantes foram calculados conforme apresentado no capítulo de matérias e métodos. A Tabela 24 mostra os valores da tensão interfacial para os minerais e a bactéria *R. opacus* usando a aproximação de Fowkes e as constantes de Hamaker individuais e efetiva para os sistemas bactéria - água-mineral.

Tabela 24: Determinação das constantes de Hamaker individuais e efetivas para os sistemas bactéria - água - mineral.

Material	Tensão interfacial (mJm ⁻²) Aproximação Fowkes	Constante Hamaker individual (J) 10 ⁻²¹	Constante Hamaker Efetiva (J) 10 ⁻²⁰
<i>R. opacus</i>	0,64	0,92	-
Calcita	0,59	0,84	2,6
Magnesita	3,78	5,4	1,92
Barita	2,4	3,48	2,1

Apresentam-se diferenças entre a constante de Hamaker calculada para a bactéria *R. opacus* e a correspondente obtida por Rijnaarts et al., (1995). O valor obtido por eles foi de $6,1 \times 10^{-20}$ J.

Dependendo da espécie, do tipo de cepa e do tempo de cultivo, as características superfícies do microorganismo podem variar resultando em diferentes valores nas medidas dos ângulos de contato o que repercute no cálculo da tensão interfacial e posteriormente no cálculo da constante de Hamaker. De acordo com Cristofi e Ivishina (2002), o valor de tensão interfacial para o *Rhodococcus* estaria entre $0-9 \text{ mJ.m}^{-2}$, que resultaria em valores de constante de Hamaker entre $1,4 \times 10^{-23}$ e $7,2 \times 10^{-20} \text{ J}$.

De acordo com Freitas e Adamian (2000) o valor da constante de Hamaker para calcita foi de $10,1 \times 10^{-20} \text{ J}$. Este valor foi obtido através do método de calorimetria.

No caso da barita e magnesita, foram comparados os valores da tensão interfacial com os obtido por Wu e Nancollas (1999). Eles reportaram valores de tensão de 25 mJ.m^{-2} para barita e 81 mJ.m^{-2} para magnesita obtidos a partir de dados cinéticos.

Os valores das constantes de Hamaker variam dependendo dos métodos usados para serem calculadas (calorimetria, nucleação, cinética da reação, ângulo de contato) Médout-Marère *et al.*, (1998).

De acordo com Laskowski e Ralston (1992), para calcular a constante de Hamaker efetiva de um sistema mineral- água, é importante empregar as constantes de Hamaker individuais obtidas a partir da mesma metodologia.

Após calcular as constantes de Hamaker do sistema bactéria- água – mineral, foram determinadas as curvas de energia em função da distância usando as teorias DLVO e X-DLVO como foi mencionado no capítulo de matérias e métodos.

As Figuras 38, 39 e 40 apresentam as curvas de energia correspondes a ΔG_{eit} , ΔG_{atr} , ΔG_{AB} , ΔG_{DLVO} e $\Delta G_{\text{X-DLVO}}$ em função da distancia entre partículas (H) para magnesita, calcita e barita respectivamente. Foram selecionados os valores de pH que apresentavam a melhor flotação dos minerais usando a bactéria como coletor.

Para a magnesita e de acordo com os estudos prévios para os valores de pH 5 e 7, as cargas entre as células bacterianas e as partículas de magnesita seriam opostas. Nestes valores de pH existiria atração eletrostática. A Figura 38 mostra que

efetivamente, a curva de G_{total} forma um mínimo secundário indicando a adesão das bactérias sobre a superfície mineral. .

Observando a curva de G_{X-DLVO} , para pH 7 e 5, se observa que o mínimo secundário para pH 7 é mais negativo, sugerido que além de apresentar adesão, esta vai ser mais espontânea para o valor de pH 7. Os resultados experimentais de adesão e flotação confirmam o encontrado com as teorias DLVO e X-DLVO.

Analisando as Figura 39 para a calcita, para os valores de pH 7 e 9 as atrações eletrostáticas entre as partículas determinariam a adesão da bactéria *R. opacus*. Nestes valores de pH a teoria DLVO conseguem prever a afinidade das células pela superfície da calcita.. Estes resultados coincidem com o encontrado experimentalmente nos teste de adesão e flotação.

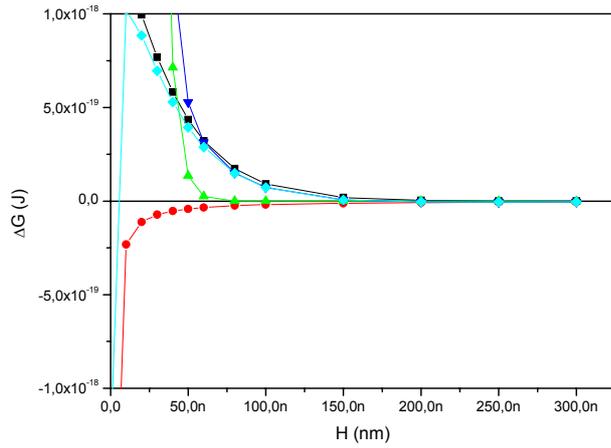
No caso de pH 11 existe uma repulsão eletrostática entre as partículas de *R. opacus* e a superfície da calcita e não deveria existir adesão como efetivamente foi observado nas curvas de energia obtido pela teoria DLVO.

No caso da barita, e como foi encontrado nos estudos de potencial zeta, para os valores de pH 3,2 e 7,5 existiria uma repulsão eletrostática entre as células de *R. opacus* e a superfície mineral em pH 5 as cargas seriam opostas o que facilitaria a adesão sobre as superfícies.

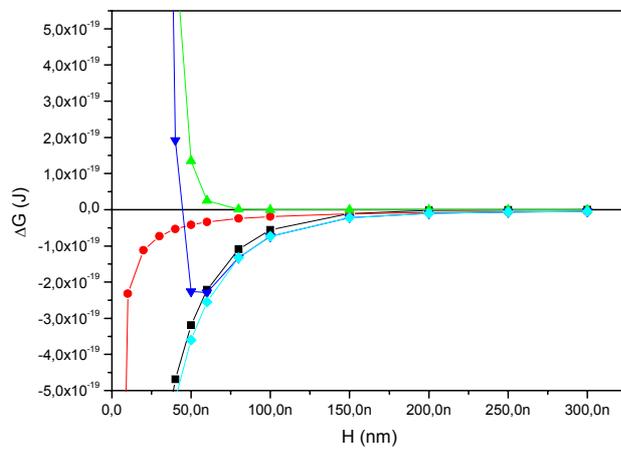
Na Figura 40 se observa que para os valores de pH 3 e 5, a teoria DLVO consegue prever o comportamento das partículas. Já no caso de pH 7, a teoria DLVO prognostica a não adesão das células sobre a calcita. Neste caso a teoria DLVO não consegue prever o obtido experimentalmente nos testes de adesão e flotação.

Na curva de energia total usando X-DLVO da barita em pH 7, se observa-se a formação de um mínimo secundário, prognosticando adesão das células na superfície. Nos estudos correspondentes à adesão e flotação da barita, se observou que para pH 7 existia uma maior afinidade das células pela superfície mineral assim como se melhorava a flotabilidade da barita. Neste caso, as interações ácido-base seriam as responsáveis pela adesão como efetivamente foi obtido experimentalmente.

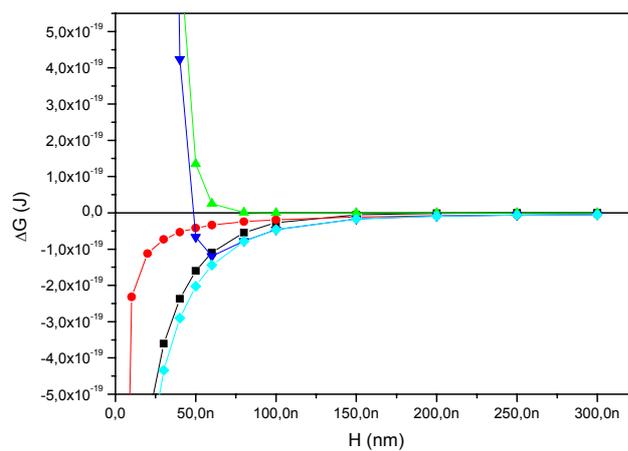
Embora, as avaliações da energia total resultantes da aproximação termodinâmica e as teorias DLVO e X-DLVO interpretem de maneira diferente as interações da bactéria *R. opacus* com as superfícies minerais, os resultados são complementares. A aproximação termodinâmica avalia a espontaneidade com que se apresenta a adesão das partículas sobre a superfície, já no caso das teorias DLVO e X-DLVO, é possível determinar a energia em função da distância e avaliar efeitos tão importantes como o pH ou a força iônica da solução.



(a) pH 9

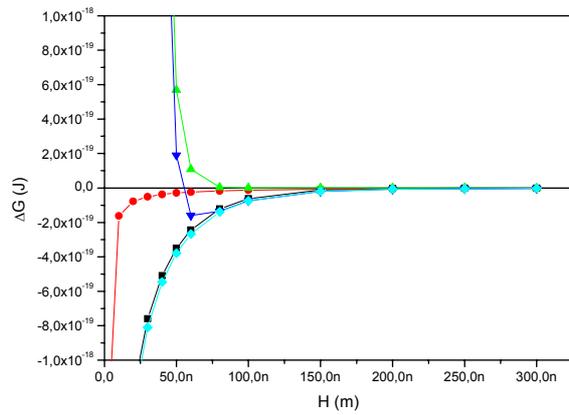


(b) pH 7

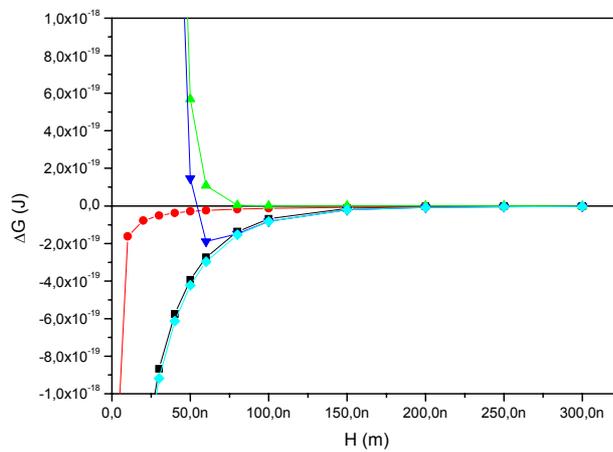


(c) pH 5

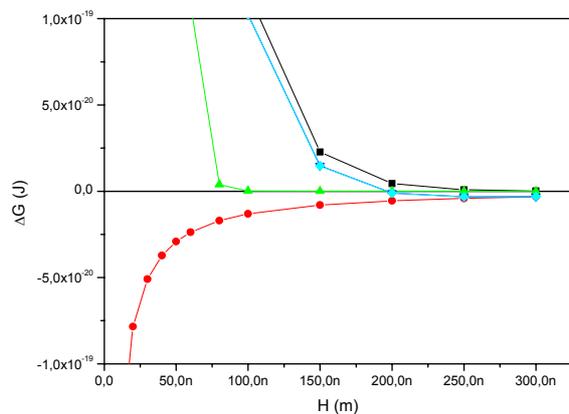
Figura 38: Curvas de Energia em função da distancia. Sistema *R. opacus* – Magnesita – Água
 Legenda: \blacksquare ΔG^{ele} \bullet ΔG^{LW} \blacktriangle ΔG^{AB} \blacktriangledown ΔG^{total} X- DLVO \blacktriangledown ΔG^{total} DLVO ($K = 3,8 \times 10^8 \text{ m}^{-1}$)



(a) pH 9

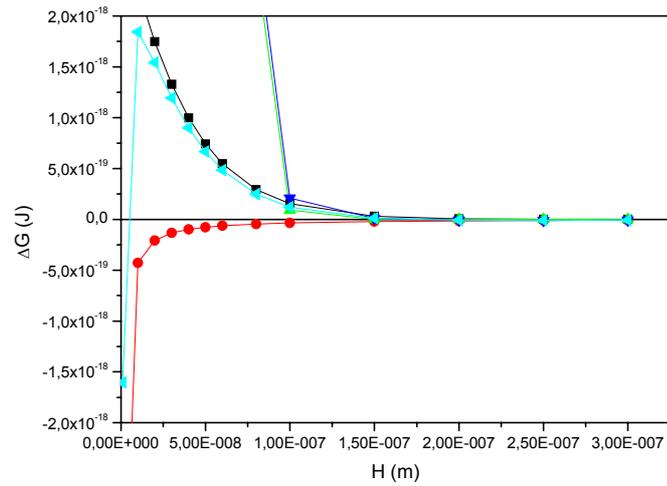


(b) pH 7

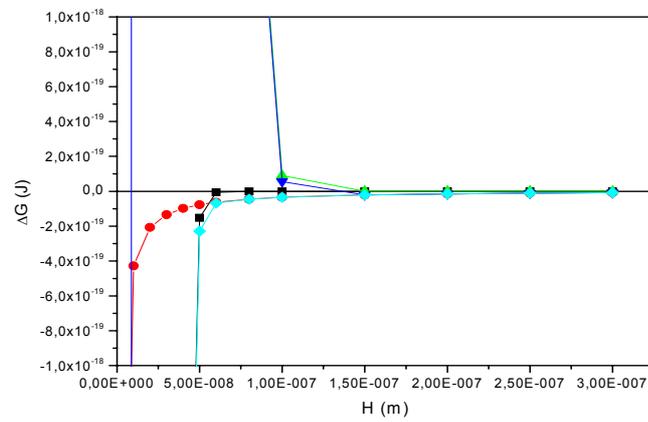


(c) pH 11

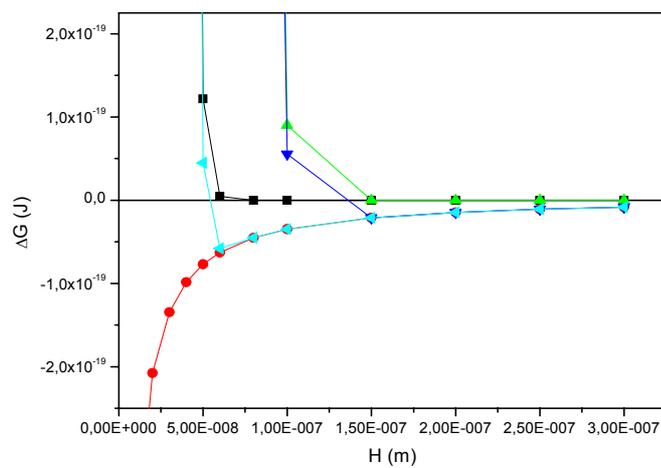
Figura 39: Curvas de Energia em função da distancia. Sistema *R. opacus* - Calcita – Água
 Legenda: ■ ΔG^{ele} ● ΔG^{LW} ▲ ΔG^{AB} ▼ ΔG^{total} X- DLVO ▼ ΔG^{total} DLVO ($K = 3,8 \times 10^8 \text{ m}^{-1}$)



(a) pH 3



(b) pH 5



(c) pH 7

Figura 40: Curvas de Energia em função da distancia. Sistema *R. opacus* - Barita – Água
 Legenda: ■ ΔG^{ele} ● ΔG^{LW} ▲ ΔG^{AB} ▼ ΔG^{total} X- DLVO ▼ ΔG^{total} DLVO ($K = 3,8 \times 10^8 \text{ m}^{-1}$)