5
Resultados e Discussão

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos ao longo da pesquisa, referentes à caracterização da biomassa e dos minerais utilizados, os estudos eletrocinéticos, assim como os estudos de adesão. Finalmente, são apresentados os resultados do processo de microflotação de apatita e quartzo usando a cepa *Rhodococcus opacus*. Concomitantemente, serão realizadas as discussões dos resultados obtidos com trabalhos encontrados na literatura.

5.1.
Preparação e caracterização dos Minerais

Os minerais utilizados neste trabalho foram: quartzo e dois tipos de apatita. O procedimento para obter as amostras minerais utilizadas no desenvolvimento do trabalho foi o mesmo para todos os casos, sendo necessárias operações de britagem, moagem, homegenização, classificação e um cuidadoso lavado; separando o mineral em quatro frações granulométricas, as que foram usadas no decorrer da pesquisa.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

Tabela 23- Composição mineralógica das amostras de mineral via DRX (Difração de Raios X)

Fase	**Apatita *"A"***	**Apatita *"B"***
Fluorapatita	97.9	99.69
Quartzo	1.5	0.13
Rutilo	0.1	--
Talco	0.5	--
Calcita	--	0.18

O alto grau de pureza das amostras minerais utilizados neste trabalho foi determinado fazendo uso da difração de raios X (DRX) e fluorescência de raios X, os resultados podem ser vistos nas Tabelas 23 e 24.

Da Tabela 23podemos observar que a principal fase presente em ambas as amostras de apatita, é a flourapatita, com presença de quartzo, a amostra de apatita *"A"* apresentou algumas impurezas como rutilo e talco, enquanto calcita esteve presente na apatita *"B"*. A apatita *"B"* apresentou um maior grau de pureza, tendo 99.69% de fluorapatita, contra 97.9% presente na apatita *"A"*. Os resultados da análise semiquantitativa das amostras via fluorescência de raios X minerais podem ser vistos na Tabela 25, mostrando os principais componentes presentes nas amostras de apatita. Foram encontrados valores da relação CaO/P_2O_5iguais a 1.329 e 1.285, para apatita *"A"* e apatita *"B"*, respectivamente.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

Tabela 24- Análise semiquantitativa das amostras minerais via espectrômetro por fluorescência de raios X Epsilon (EDS)

Componente	**Apatita *"A"***	**Apatita *"B"***
P_2O_5	39.96	42.33
CaO	53.14	54.39
Cl	--	0.32
PF	0.10	0.20
Fechamento	97,04	93,10
CaO/ P_2O_5	1.329	1.285

5.2.
Bactéria: crescimento adaptação e caracterização

Depois de ter realizado todo o processo de crescimento da bactéria, lavagem, centrifugação e inativação, obteve-se um concentrado celular final (Figura 37), alíquotas desse concentrado foram tomadas para poder realizar os diferentes ensaios do presente trabalho.

Figura 37- Concentrado celular da bactéria *Rhodococcus opacus*. a) células adaptadas a substrato mineral, b) células sem adaptação.

Figura 38- Concentrado de *Rhodococcus opacus* de trabalhos anteriores [81].

A Figura 39 apresenta uma micrografia obtidas através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) onde pode ser observada a morfologia da bactéria *R. opacus*, a bactéria possui um diâmetro em torno de 1,5 µm. Segundo Botero [52], Bueno [63], Mesquita et al., [54] a bactéria tem forma de bastão na fase exponencial e esférica (coco) na fase estacionária. Pode ser observado na imagem, que a bactéria tem forma de bastão, o que estaria de acordo à literatura já que a coleta das bactérias foi feita após 48 horas de incubação quase no final da etapa exponencial. Um concentrado celular da bactéria usada pelos autores mencionados pode ser vista na Figura 38, visivelmente pode ser notada uma

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

diferença na coloração desse concentrado (coral) comparado com a coloração do concentrado usado nesta pesquisa (rosa). Mesmo que ambos os concentrados sejam da bactéria *Rhodococcus opacus* tal diferença pode ser devida as condições de crescimento empregadas assim como a fonte de obtenção da mesma, sendo que a cepa empregada pelos autores mencionados foi obtida da Fundação André Toselo (São Paulo – Brasil) enquanto a cepa usada nessa pesquisa foi obtida da Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria – CBMAI.

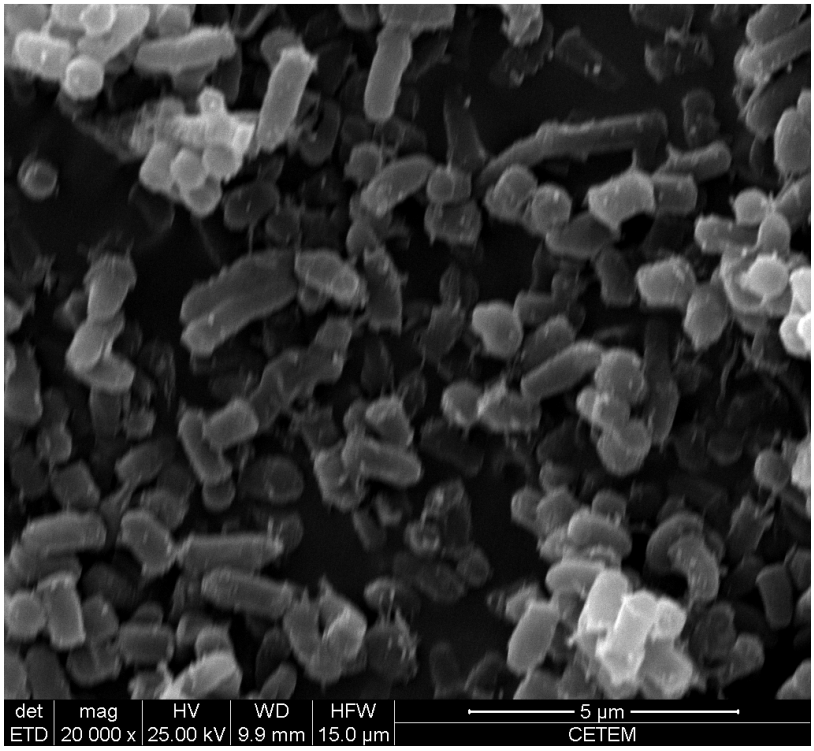

Figura 39- Micrografia em MEV de células da Bactéria *R. opacus*.

Segundo vários autores [37, 51, 65, 68, 69, 70, 72] se as bactérias forem adaptadas a diferentes substratos, no caso algum mineral, poderia variar a taxa de produção de produtos metabólicos, mudando assim os grupos funcionais presentes e em consequência obter uma diferente resposta no processamento de minerais. Sendo assim, a bactéria *R. opacus* foi adaptada a presença de apatita e quartzo. A Figura 37 mostra dois concentrados, a) concentrado celular com adaptação a quartzo b) concentrado celular sem adaptação.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

5.3.
Potencial Zeta das amostras

Com o motivo de avaliar a possível variação nas propriedades eletrocinéticas dos minerais em presença de células da bactéria *Rhodococcus opacus*, foram realizadas medidas de potencial zeta, feitas na bactéria e nos minerais, antes e após interação com a bactéria.

A Figura 40 apresenta o perfil de potencial zeta da bactéria em função do pH, como pode ser observado o PIE da bactéria fica em torno de pH igual 2,8. Valor relativamente parecido com os valores encontrados em outros trabalhos [53, 54, 63] que encontraram um PIE em torno de 3,2. A diferença observada pode ser relacionada a vários fatores, entre eles, as condições de cultivo, além da origem da cepa, mencionado anteriormente. Os valores do potencial zeta demonstraram uma relativa estabilidade das células em suspensão alcançando valores próximos de -35 mV na faixa alcalina. Já nos valores correspondente a meio ácido, pelo fato de ficar próximo do PIE, a estabilidade das células em suspensão é reduzida e após 2 minutos de repouso as células começam a "aglomerar" e sedimentar. Esse efeito provavelmente seja devido a que nessa faixa de pH acontece uma diminuição das forças eletrostáticas repulsivas presentes, fazendo com que exista um incremento na probabilidade de choque entre células da bactéria, e assim serem aderidas por meio de interações hidrofóbicas.

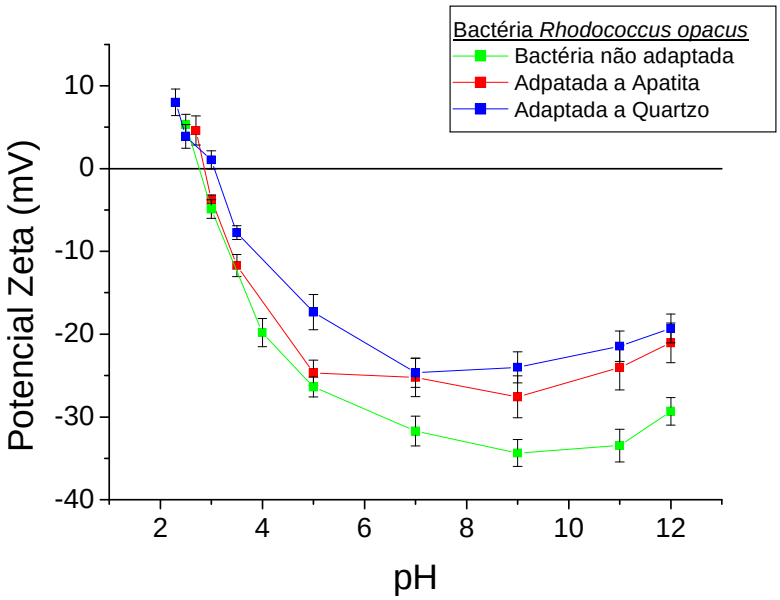

Figura 40- Potencial zeta de células da bactéria *R. opacus*. (eletrólito, NaCl :10^{-3} M)

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

Na mesma figura, também podemos encontrar os valores de potencial zeta da bactéria adaptada a presença de minerais, como pode ser visto, a bactéria adaptada a apatita praticamente não teve nenhuma mudança na faixa acida de pH. No entanto, foi observada uma leve mudança no PIE, mas ainda próximo de 2,8; já, acima de um valor de pH 5, observou-se um aumento nos valores de potencial zeta. No caso da bactéria adaptada à presença de quartzo, a mudança no valor do PIE foi maior que no caso da apatita, ficando em torno de 3. Finalmente com maiores valores de pH, foram observados maiores incrementos do potencial zeta que no caso da bactéria adaptada a apatita.

Essa mudança do valor do PIE da bactéria após adaptação mineral também foi observada por Somasundaran et al., [82] que afirmaram que o incremento do valor do PIE da bactéria *P. polymyxa* adaptada é devido a uma maior secreção e/ou produção de proteínas pelas células da bactéria durante a adaptação ao quartzo.

A Figura 41 apresenta os valores de potencial zeta dos minerais usados neste trabalho, como pode ser observado na figura, não foi possível encontrar o PIE de nenhum dos minerais. Segundo a literatura [25, 29, 30, 31, 32, 33] o valor do PIE do quartzo varia em torno de 1,8 – 2,5. Considerando que neste trabalho a faixa de estudo do pH foi entre 2,5 e 11, era de esperar-se que o PIE do quartzo não fosse encontrado. Contudo, encontraram-se valores negativos de potencial zeta na faixa de pH estudado, sendo determinada assim uma carga negativa na superfície do quartzo em solução aquosa.

Da mesma forma que no caso do quartzo, não foi possível encontrar o valor do PIE das amostras de apatita. Segundo a literatura o PIE da apatita pode variar dependendo de diversos fatores, entre eles, os mais importantes são a sua composição, origem do mineral e o método usado para determinar o potencial zeta, além do tempo de acondicionamento da amostra em solução. Por tal motivo existe uma ampla faixa de valores de pH (2 – 8) para o PIE deste mineral [17, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28].

Ambas as amostras de apatita apresentaram quase o mesmo perfil de valores de potencial zeta, com valores negativos em toda a faixa de pH estudada. Apresentando uma pequena diferença na faixa ácida e muito menor na faixa

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

neutra, fato que pode ser visto na Figura 41. Essa pequena diferença nos valores de potencial zeta pode ser atribuída à composição química de cada amostra, mas o fato das amostras apresentarem valores de potencial zeta muito similares pode ser explicado pela presença dos íons determinadores de potencial presentes no sistema, que no caso da ambas amostras de apatita são OH^- e H_3O^+ e PO_4^{3-}

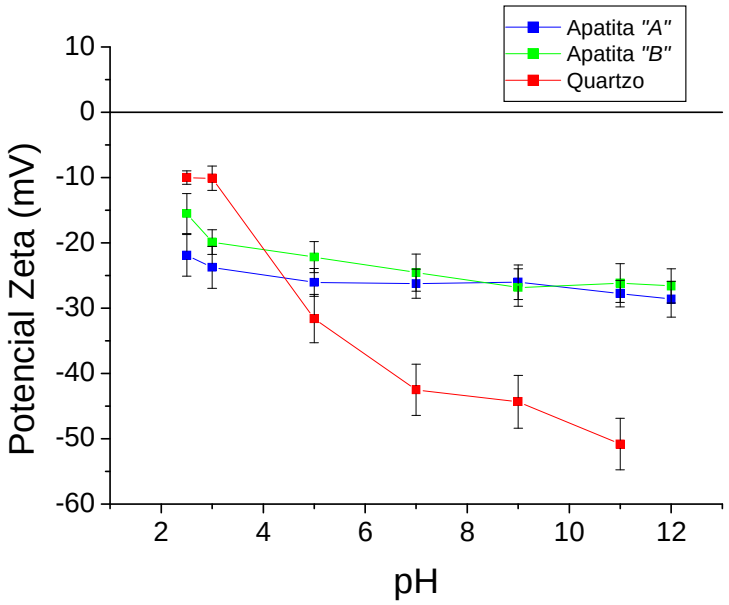

Figura 41- Potencial zeta das amostras minerais (eletrólito suporte, NaCl: 10^{-3}M).

Na Figura 42, podemos ver os valores de potencial zeta do quartzo após interação com a suspensão celular da bactéria *R. opacus*, nela claramente é apreciado que o perfil de potencial zeta do quartzo é afetado pela presença das células da bactéria e ou produtos metabólicos. Em forma geral, os valores de potencial zeta do quartzo após o contato com a bactéria sofreram um incremento, ficando próximos dos valores de potencial zeta da bactéria; o que poderia ser atribuído à interação de células da bactéria na superfície do mineral como afirmado por Vilinska e Rao [37], Dubel et al., [38], Raichur et al., [43], Faharat et al., [50], Botero et al., [53], Mesquita et al., [54], Deo et al.,[56], Subramanian et al., [60] e Chandaprabha e Natarajan [66]. Segundo Hirajima et al., [73] e Faharat et al., [50] em meio acido a superfície da bactéria e do mineral tem carga contrária, dando lugar à uma possível interação eletrostática entre ambas as superfícies,formando assim um biofilme na superfície do mineral e deste modo o

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

valor do potencial zeta da superfície mineral fica próximo do valor do potencial zeta da bactéria.

Neste caso, na faixa de pH 2,5 – 3, (Figura 42) foi observado que o potencial zeta do quartzo não sofreu quase nenhuma alteração após interação com a bactéria. A explicação pode ser encontrada no valor do PIE da bactéria utilizada; no trabalho de Faharat et al., [50] a bactéria usada foi *E.coli* com um PIE em torno de 4,5. Os autores afirmaram que a maior adesão da bactéria sobre a superfície mineral foi encontrada em torno de um pH 2,5. Valor bem distante do PIE, assim a superfície da bactéria deveria apresentar uma carga positiva elevada, podendo dar lugar a uma atração eletrostática entre a bactéria positivamente carregada e a superfície negativa do mineral. Afirmação que poderia ser confirmada pelo valor de potencial zeta da bactéria nesse valor de pH, lastimosamente os autores não forneceram esse valor.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

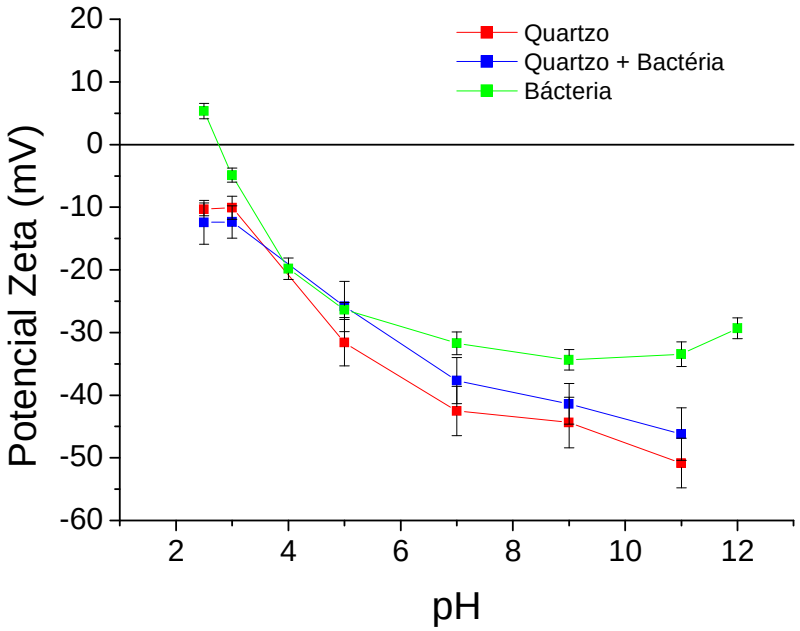

Figura 42- Potencial zeta do quartzo antes e após interação com a bactéria (eletrólito, NaCl: 10^{-3}M)

Como falado anteriormente a bactéria *R. opacus* apresenta um PIE em torno de 2,8 – 3,e com valores de +5 mV e – 4 mV para valores de pH de 2,5 e 3, respectivamente. Assim, espera-se uma menor atração eletrostática entre a

bactéria e a superfície negativa do mineral nessa faixa de pH, dando lugar a outro tipo de interações, além da interação entre as próprias células da bactéria (hidrofóbica), que com uma carga praticamente nula tendem a coagular, formando flocos entre si, ao em vez de se aderirem à superfície mineral.A maior alteração nos valores de potencial zeta do quartzo após interação com células da bactéria foi observado num valor de pH igual a 5. Finalmente, na da faixa de pH entre 7 e 11 observou-se um leve incremento dos valores do potencial zeta, não sendo muito significativo.

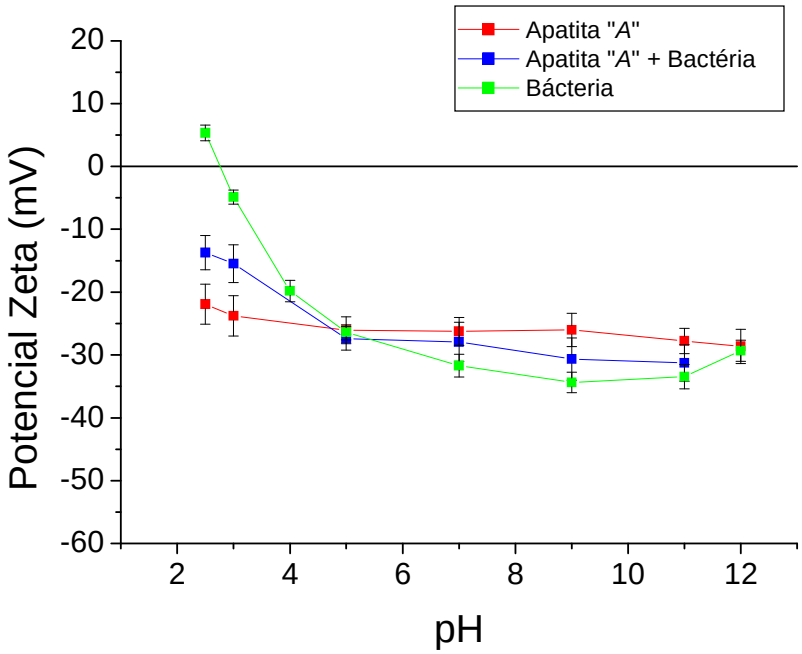

Figura 43- Potencial zeta da apatita *"A"* antes e após interação com a bactéria (eletrólito suporte: NaCl 10^{-3}M)

No caso dos minerais de apatita foi mais difícil interpretar os resultados, visto que os valores de potencial zeta da bactéria e os minerais na faixa 5 – 11 foram relativamente próximos. Mas, fica claro que o comportamento de ambas as amostras de apatita após interação com a suspensão celular parece ser similar. A Figura 43 mostra os resultados do potencial zeta da apatita "A" após interação com células da bactéria. Na faixa de pH entre 2,5 – 3,5 observou-se um incremento nos valores de potencial zeta, provavelmente devido a adesão das células, sendo essa alteração mais significante que no caso do quartzo. Assim

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

podemos dizer que existe uma maior preferência das células da bactéria pela apatita que pelo quartzo nessa faixa de pH. Na faixa de pH entre 4 – 5 foi observado que o potencial zeta da bactéria e da amostra mineral, tem praticamente os mesmos valores, motivo pelo qual não pode ser observada qualquer alteração do potencial zeta da amostra de apatita “A” após interação com a bactéria. No entanto, para valores de pH acima de 5 podemos observar que os valores de potencial zeta ficaram mais negativos em direção dos valores de potencial zeta da bactéria.

Finalmente, os valores de potencial zeta da apatita “B” após interação com células da bactéria podem ser vistos na Figura 44. Da mesma forma que no caso do quartzo, foi possível observar que a maior alteração do potencial zeta da apatita “B” após interação com a bactéria foi no valor de pH 5. Apresentando valores de potencial zeta praticamente iguais aos valores da bactéria, o qual poderia indicar uma maior adesão das células nesse valor de pH sendo essa alteração mais significante que no caso do quartzo e a apatita “A”. Já no faixa alcalina, o comportamento é similar ao da apatita “A”, considerando que antes da interação com bactérias ambas as amostras têm quase o mesmo comportamento eletrocinético e que o desenvolvimento dos ensaios foi realizado sob as mesmas condições é coerente obter um similar perfil de potencial zeta de ambas as amostras após contato com a suspensão celular.

Os resultados dos estudos de potencial zeta podem demonstrar claramente que existe uma mudança nos valores de potencial zeta de uma amostra mineral após interação com células da bactéria, mudança causada pela adesão/adsorção de células da bactéria e/ou produtos metabólicos. Os ensaios de potencial zeta ajudam também a elucidar os mecanismos envolvidos na interação das células bacterianas na superfície mineral. Segundo vários autores [38, 43, 50], existem janelas na faixa de pH que seriam zona potencial para atração eletrostática entre as células bacterianas e uma superfície mineral negativa, essa faixa corresponde a valores de pH menores que o valor do PIE da bactéria. No caso da bactéria *R. opacus* essa faixa corresponderia a valores de pH menores que 2,9. Enquanto na faixa de pH acima do PIE da bactéria, além de existir interações eletrostáticas também podem interações especificas.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

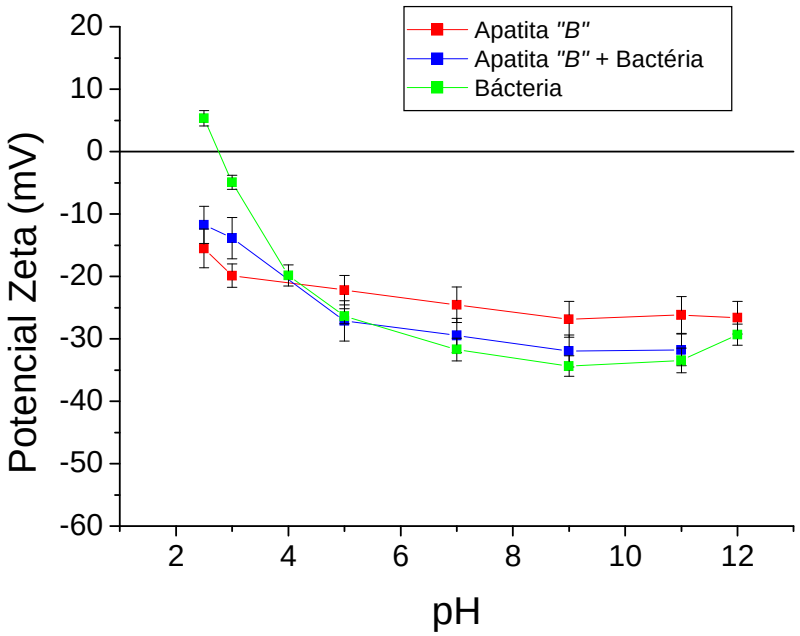

Figura 44- Potencial zeta da apatita *"B"* antes e após interação com a bactéria (eletrólito, NaCl: 10^{-3}M).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

5.4.
Ângulo de Contato

Como falado no capitulo 3, os ensaios de ângulo de contato das superfícies minerais foram feitos através do método de bolha cativa. A natureza hidrofílica das amostras minerais foi comprovada pelos baixos valores de ângulo de contato das amostras em solução aquosa. Com valores em torno de zero ou menores que 10 graus para as três amostras minerais em toda a faixa de pH estudado.

Os resultados de ângulo de contato das amostras minerais de quartzo, apatita "A" e apatita "B", antes e após interação com células da bactéria, podem ser vistos nas Figuras 45 – 47 respectivamente. Todos os ensaios foram realizados sob as mesmas condições, concentração de bactéria igual a 0,15 $g.L^{-1}$, tempo de acondicionamento 10 minutos e numa temperatura de 23^0C.

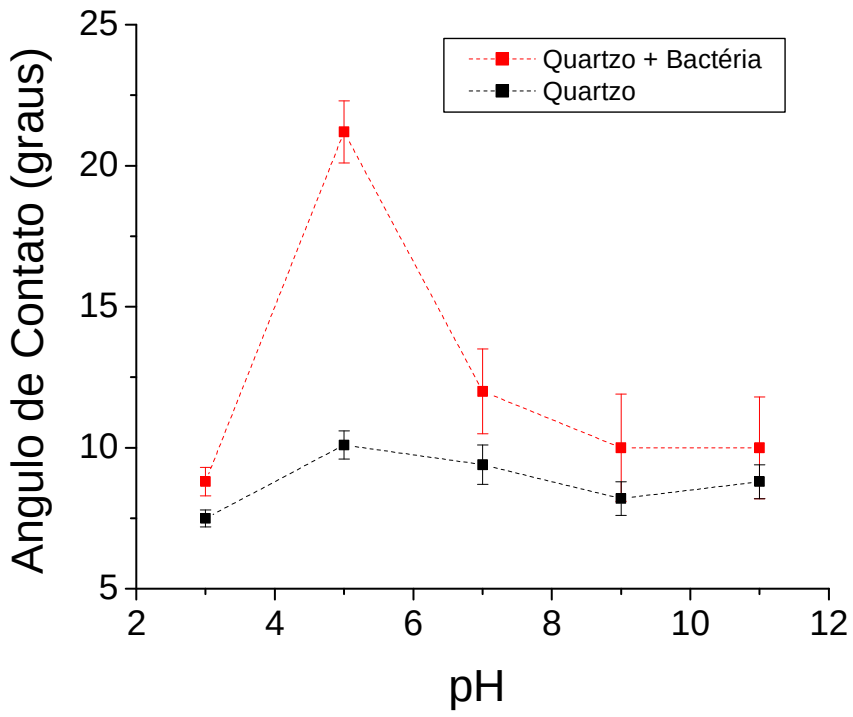

Figura 45- Ângulo de contato dos minerais após contato com suspensão celular da bactéria *R.opacus*, (concentração celular: 0,15 g.L^{-1}; tempo de contato: 5 minutos).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

Pode ser apreciado um incremento na medida do ângulo de contato de todas as amostras após interação com a bactéria em toda a faixa de pH estudado. As três amostras minerais sofreram o mesmo efeito, apresentando o maior incremento na medida do ângulo de contato num valor de pH em torno de 5. Claramente, esse incremento foi maior nas amostras de apatita que na amostra de quartzo, e da mesma forma, maior na apatita "B" em comparação com a apatita "A". Obtendo-se valores de ângulo de contato em torno de 20 graus (Figura 45), 35 graus (Figura 46) e 42 graus (Figura 47), para quartzo, apatita *"A" e* apatita *"B"* respectivamente.

Em base nisso, pode ser afirmado que existiu uma menor aderência de células da bactéria *R. opacus* sobre a superfície de quartzo, mantendo seu comportamento hidrofílico, por outro lado, uma maior aderência das células sobre a superfície da apatita explicaria o incremento no valor do ângulo de contato, sendo maior na amostra de apatita "B". Tornando essa amostra mineral mais hidrofóbica em comparação com as outras duas amostras.

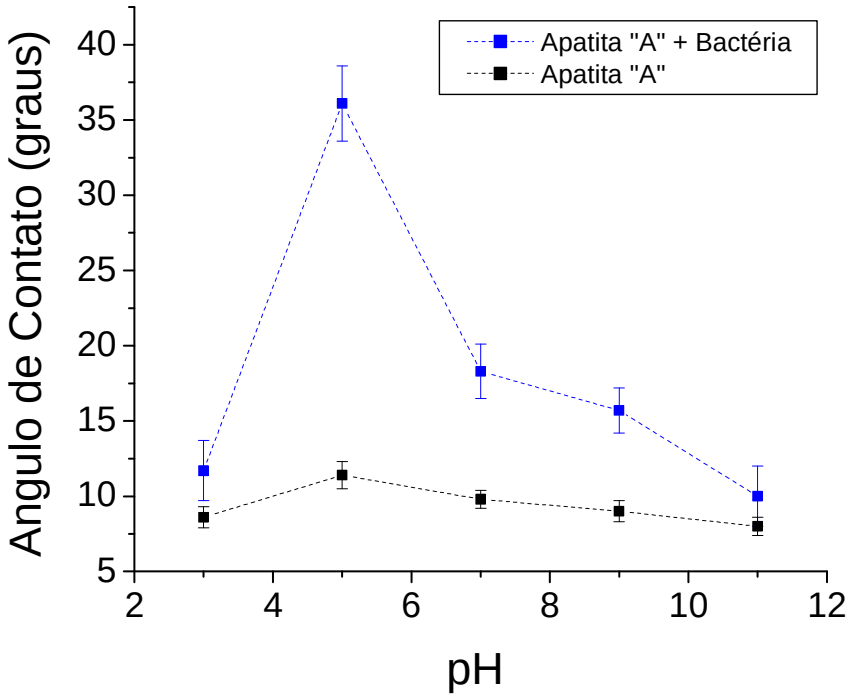

Figura 46- Ângulo de contato dos minerais após contato com suspensão celular da bactéria *R. opacus*, (concentração celular: 0,15 g. L^{-1}; tempo de contato: 5 minutos).

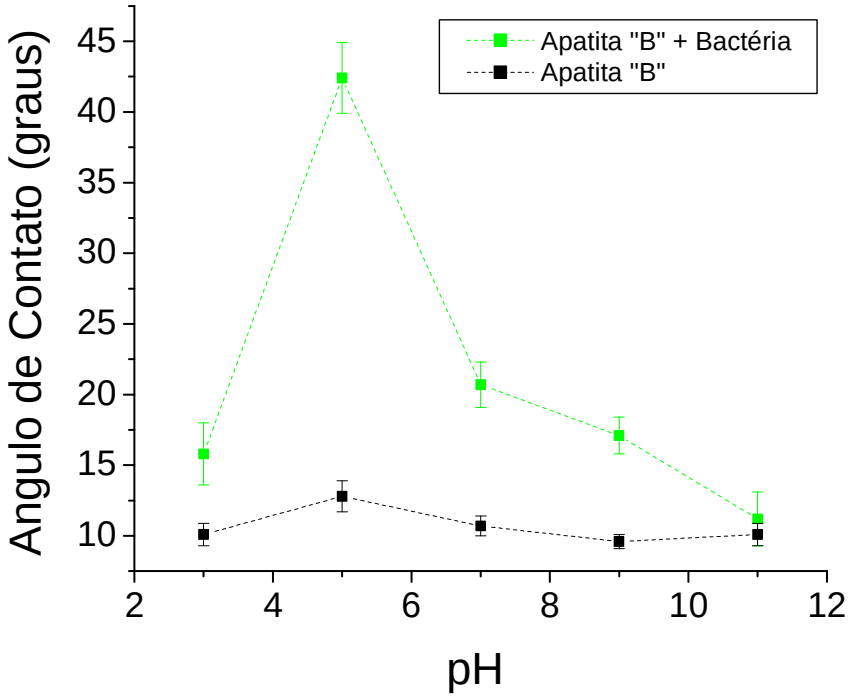

Figura 47- Ângulo de contato dos minerais após contato com suspensão celular da bactéria *R. opacus*, (concentração celular: 0,15 g. L^{-1}; tempo de contato: 5 minutos).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

5.5.
Microflotação usando a bactéria como biorreagente

5.5.1.
Comportamento da bactéria *R. opacus* como espumante

Como foi mencionado anteriormente o pH da suspensão afeta o desempenho da flotação mineral, ele pode afetar as propriedades da superfície do mineral tanto como da superfície da parede celular da bactéria, sendo assim, nesta etapa de estudo foram realizados ensaios de microflotação em função do pH, usando uma suspensão de bactéria (0,15 g. L^{-1}) com eletrólito suporte de NaCl (1×10^{-3} M), o valor do pH foi ajustado usando alíquotas de HCl e NaOH. A finalidade destes ensaios foi determinar o comportamento da bactéria *R. opacus* na formação de espuma em função do pH, durante o processo de flotação.

A Figura 48 apresenta imagens da espuma formada depois de 2 minutos de flotação em função do pH da solução. Podemos ver claramente, na faixa acida de pH, uma grande densidade de pequenas bolhas de ar (Figura 48a). Com incrementos nos valores de pH, foram observados dois efeitos. Primeiro uma redução na densidade das bolhas de ar formadas, e segundo, um incremento no tamanho das bolhas de ar (Figura 48. b, c). Até que na faixa alcalina, pH entre 9 e 11 (Figura 48 d, e), a formação de bolhas foi praticamente deprimida. Em resumo, podemos dizer que a bactéria consegue formar espuma com valores de pH entre 3 e 7. Sendo que a maior quantidade de espuma produzida foi conseguida próximo do PIE da bactéria.

A formação de espuma vem acompanhada com uma redução na tensão superficial da solução, fato que pode ser observado na Figura 49, na qual podemos ver os valores de tensão superficial da suspensão bacteriana em função do pH. Claramente, foi observado que os menores valores de tensão superficial corresponderam à faixa de pH com maior densidade de espuma formada, apresentando valores próximos de 54 mN/m 55 mN/m e 56 mN/m para valores de pH de 3, 5, e 7 respectivamente. Já na faixa de pH entre 9 e 11, observou-se valores em torno de 63 mN/m. Assim, supõe-se que a menores valores de pH existe uma maior adsorção do biorreagente na interface liquido/ar e portanto uma maior formação de espuma.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

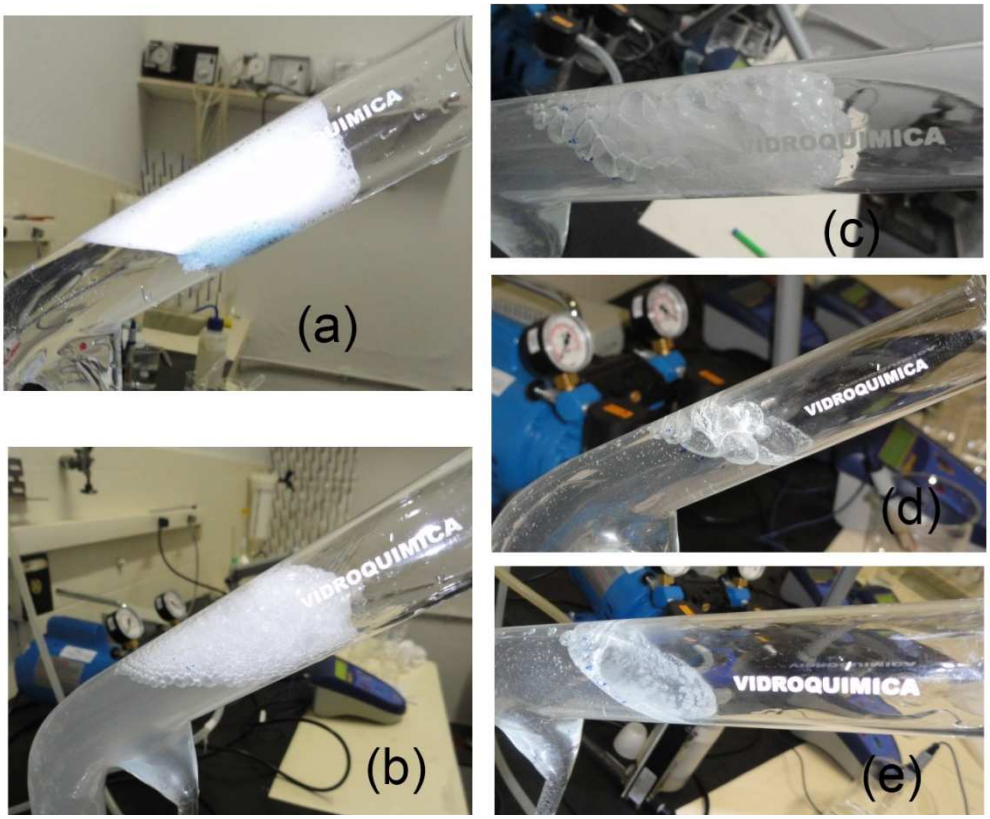

Figura 48- Espuma formada pela suspensão bacteriana a diferentes valores de pH, concentração: 0,15 g.L^{-1}. (a) pH 3, (b) pH 5, (c) pH 7, (d) pH 9, (e) pH 11.

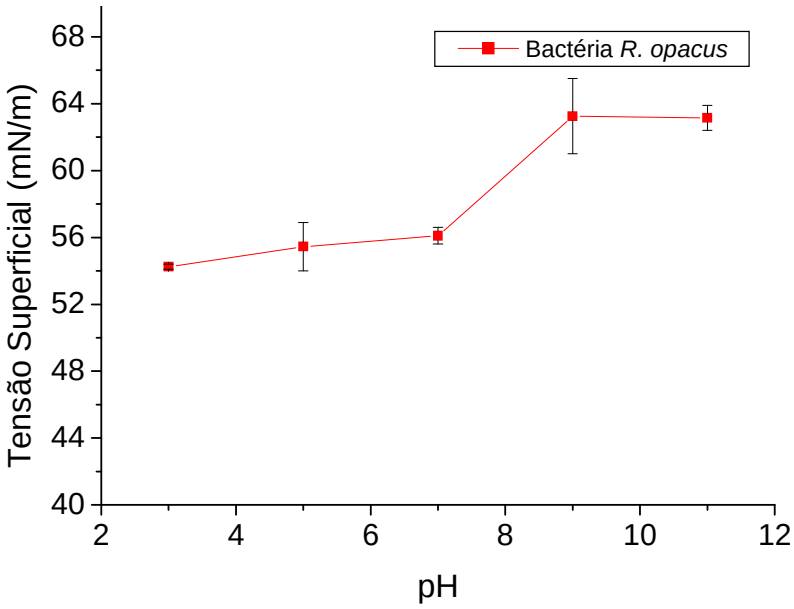

Figura 49- Tensão superficial da suspensão celular de *R. opacus* em função do pH. (concentração celular: 0,15 g.L^{-1}).

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

Além do pH da suspensão outro fator que afeta a estabilidade e formação de espumas é a concentração do biorreagente. Assim, o efeito da concentração da bactéria na tensão superficial da interface ar/água da suspensão bacteriana pode ser observado na Figura 50. A tensão superficial da água pura apresentou um valor em torno de 70 mN/m; após adição do microrganismo observou-se uma rápida redução nos valores de tensão superficial, alcançando um valor em torno de 55 mN/m com a presença de 0,15 $g.L^{-1}$ da biomassa, com maiores concentrações de biomassa, a tensão sofreu menores reduções, apresentando valores de 53.1 mN/m e 52.8 mN/m com 0,30 $g.L^{-1}$ e 0,50 $g.L^{-1}$ de biomassa em suspensão, respectivamente.

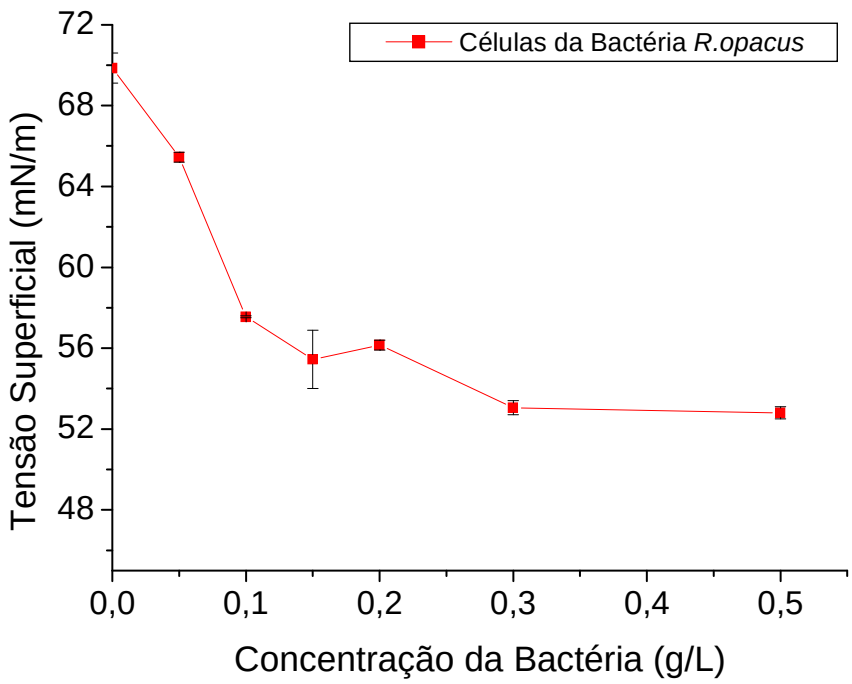

Figura 50- Tensão superficial da suspensão celular de *R. opacus* em função da concentração; pH 5.

Vários autores sugerem que os produtos metabólicos de diferentes microrganismos reduzem a tensão superficial na interface ar/água. Como os lipídios da membrana celular da bactéria *Archaea* ou *archaebacteria* os quais tendem a reduzir a tensão superficial da interface ar/água até um valor em torno de 32 mN/m a 20 ^{0}C [83].

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

Para Wen-jia et al., [84], os biosurfactantes, produzidos por diferentes famílias de microrganismos como bactérias, leveduras, fungos, reduzem a tensão superficial e a tensão interfacial de misturas aquosas e de hidrocarbonetos. Na Tabela 25 podemos ver os valores da tensão superficial de diferentes biosurfactantes. Os autores afirmaram que a tensão superficial incrementa com menores valores de pH da suspensão. Segundo eles, a precipitação do biosurfactante na faixa acida de pH, explica os altos valores de tensão superficial obtidos nesse mesma faixa de pH. Devido a que o biosurfactante não consegue ser adsorvido na interface ar/água.

Tabela 25- Valores de tensão superficial de diferentes microrganismos na interface ar/água (no valor da CMC do biosurfactante)

Microrganismo	**Tensão superficial (mN/m)**
Pseudomonas aeruginosa	22.56
Bacillus subtilis	27.12
Rhodococcus erythropolis	29.45

Segundo Makri e Doxastakis [85] simples proteínas ou em colaboração com outros componentes ativadores de superfície, são adsorvidos na interface de bolhas de ar, criando uma camada ao redor delas. Essa camada de proteínas protege a espuma da desestabilização. Os autores usaram as proteínas extraídas de dois tipos de feijão (*Phaselou Vulgaris e coccineus*) e avaliaram a estabilidade da espuma formada, assim como a adsorção da proteína por meio de medidas de tensão superficial na interface ar/água. Segundo eles, a tensão superficial foi reduzida com maior concentração da proteína, conseguindo alcançar valores próximos de 47 mN/m com 0.1 % (p/v) de proteína, mas o fator determinante na estabilidade de uma espuma foi o pH. Encontrando menores valores de tensão superficial em quanto os valores de pH eram mais afastados do PIE.

Lambert et al., [86] estudaram o efeito do pH no fracionamento por espumas de β-glucosidade e a celulase, enzimas extraídas dos fungos *Aspergillus niger* e *Trichoderma reesei* respectivamente. O objetivo dos autores foi encontrar as condições adequadas para formação de espumas de ambas as enzimas. Os autores

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

afirmaram que, para ambos os casos as melhores condições para formar espuma – menores valores de tensão superficial – foram encontradas em dois pontos de pH, o primeiro no PIE da enzima e o segundo num pH próximo de 10, usando 300 $mg.L^{-1}$ da enzima. Além disso, afirmaram que a celulase produz maior quantidade de espuma por ser uma enzima hidrofóbica enquanto a β-glucosidade é hidrofílica. Os valores de tensão superficial para esses pontos de pH podem ser visto na Tabela 26.

Tabela 26- Mínimos de Tensão superficial de β-glucosidade e celulase

	Tensão superficial (mN/m)	
Enzima	**PIE**	**pH - 10**
β-glucosidade	39.9	47.3
celulase	38.2	40.9

Em todos esses estudos, os autores mencionaram menores valores de tensão superficial com incrementos da concentração do biorreagente, provavelmente devido a que, com maiores concentrações do biorreagente a interface ar/água encontrara-se completamente recoberta. Alguns autores afirmaram que a menor tensão superficial é obtida num valor de pH afastado do PIE, devido a maior mobilidade das moléculas nesse valor de pH, assim poderiam chegar até a interface e serem adsorvidos. Neste trabalho foi encontrado que a menor tensão interfacial e melhor condição para formação de espuma é num pH próximo de 3. Valor muito próximo do PIE da bactéria concordando com o falado por Lambert et al., [86]. Nesse pH a bactéria tem um valor de carga superficial próximo de zero e começa a coagular formando flocos de células (mecanismo explicado anteriormente). Além disso, se considerarmos que uma bolha de ar tem um PIE em torno de um pH 2,5 [87], então nessa faixa de pH seria possível que exista uma maior interação das células da bactéria com a superfície das bolhas de ar, já que a repulsão eletrostática entre as bolhas e as células da bactéria seria reduzida.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

5.5.2.
Ensaios exploratórios de microflotação

Os ensaios de microflotação foram feitos num tubo de Hallimond modificado. Inicialmente foi testada a altura do tubo, visando diminuir o arraste de partículas finas, causado pela vazão de ar. A Figura 51 apresenta imagens do tubo de Hallimond com diferentes alturas; para modificar a altura do tubo foram utilizados tubos prolongadores do mesmo material (vidro), o primeiro aumentou a altura do tubo em 50 mm e o segundo em 100 mm. Obtiveram-se assim volumes de 130 mL, 160 mL e 190 mL, respectivamente.

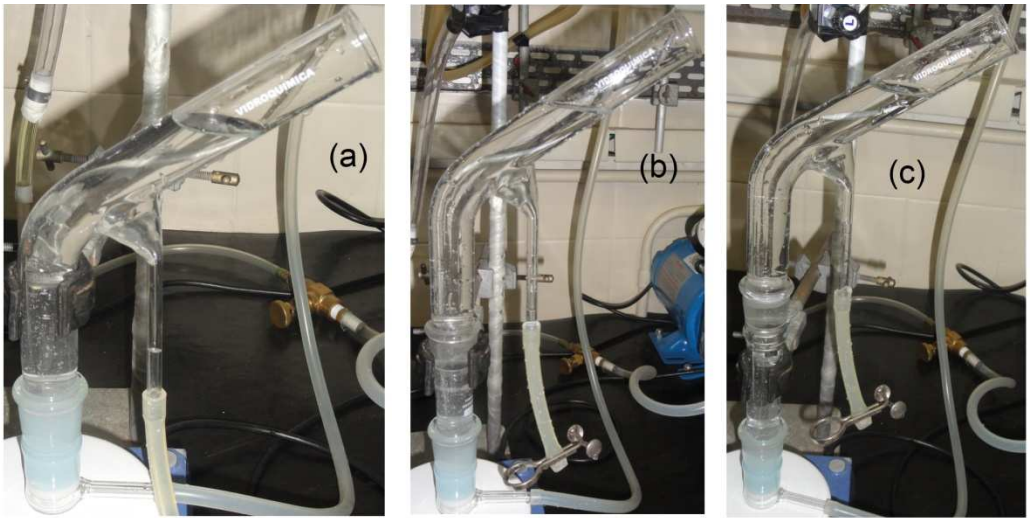

Figura 51- Tubo de Hallimond modificado com diferentes alturas para minimizar o arraste de partículas, (a) sem tubo prolongador 130 mL, (b) Tubo prolongador de 50 mm; 160 mL, (c) Tubo prolongador de 100 mm, 190 ml.

Assim, realizaram-se ensaios de flotabilidade dos minerais em estudo (apatitas e quartzo) com diferentes tamanhos de partículas – (150 – 106) µm, (106 – 75) µm e (75 – 38) µm –, usando diferentes alturas no tubo de Hallimond. Todos os ensaios foram realizados com solução de NaCl 1×10^{-3} M, com um valor de pH igual a 5, a 23 ºC. e sob agitação, para manter em suspensão as partículas minerais. Os resultados destes ensaios podem ser vistos na Tabela 27.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

Tabela 27- Flotabilidade das amostras minerais usando tubo de Hallimond modificado com diferentes alturas

Altura (mm)	**Flotabilidade (%)**								
	Apatita "B" (µm)			Apatita "A" (µm)			Quartzo (µm)		
	(150-106)	(106-75)	(75-38)	(150-106)	(106-75)	(75-38)	(150-106)	(106-75)	(75-38)
50	5.8	13.2	20.21	1.1	2.1	3.64	2.3	3.5	15.88
100	2.56	6.02	8.8	0.31	0.87	1.19	3.29	2.41	11.34
150	1.75	3.2	5.56	0.3	0.71	1.05	0.51	0.8	6.14

Os baixos valores de flotabilidade encontrados mostraram a natureza hidrofílica das amostras minerais. Da tabela podemos ver que o arraste incrementou com menores tamanhos de partícula, porém incrementando a altura do tubo de Hallimond – por meio do tubo prolongador – os valores do arraste conseguiram ser diminuídos até valores pouco significativos. Esse efeito foi apresentado por todas as amostras estudadas. Também foi observado que ao incrementar a altura do tubo prolongador de 100 mm para 150 mm não existiu uma maior variação no arraste. Motivo pelo qual se optou por continuar a pesquisa usando essa altura do tubo prolongador. Contudo, com essa altura, foi observado um maior arraste de partículas finas de quartzo.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

5.5.3.
Influência do pH na flotabilidade mineral

Sabe-se que a variável mais importante no processo de flotação é o pH da suspensão, pois dependendo do pH é que a superfície do mineral e da bactéria são ativadas, através de diversas reações de dissolução, hidrólise entre outras. Nesta etapa do trabalho foram realizados ensaios de flotabilidade na faixa de pH entre 3 e 11, usando mineral com tamanho de partículas entre (75 – 106) µm, numa solução de NaCl, 1×10^{-3}, com temperatura de 23^{0}C e um tempo de flotação igual a 2 minutos.

Na Figura 52, podemos ver os resultados da flotabilidade da apatita *"B"* em função do pH, usando diferentes concentrações da biomassa. Para todos os casos, foi observado um incremento da flotabilidade com valores ácidos e neutros de pH,

quer dizer na faixa entre 3 e 7, a mesma faixa de pH na qual a bactéria consegue formar espuma, no entanto, a maior flotabilidade apresentou-se no pH 5. Com valores acima de pH 7 a flotabilidade do mineral foi reduzida rapidamente. O último também foi observado por Yang et al., [42] na flotação de hematita usando a bactéria *M. plhei*. Embora, no trabalho deles, a faixa ideal de pH para flotação do mineral foi entre 5 e 7. Os autores afirmaram que, nessa faixa de pH a bactéria tem uma carga superficial nula e dessa forma incrementa a sua hidrofobicidade, o que favorece a coagulação entre o mineral e as células da bactéria, melhorando assim a flotação. Entretanto, na faixa alcalina de pH as superfícies do mineral e da bactéria são negativas, causando assim uma repulsão eletrostática entre elas durante a flotação.

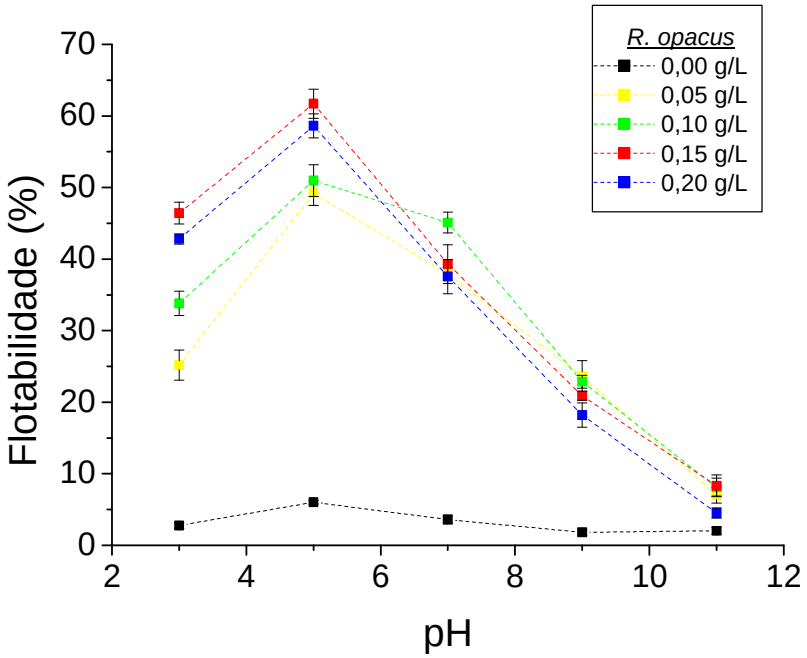

Figura 52- Flotabilidade da apatita *"B"* em função do pH; tamanho de partículas (75 – 106) µm, eletrólito, NaCl 10^{-3} M, tempo de flotação, 2 minutos.

Na mesma figura foi observado que a flotabilidade da apatita *"B"* incrementa em função da concentração da bactéria, até alcançar um máximo valor (em torno de 60%) com 0,15 $g.L^{-1}$ do concentrado bacteriano. Com maiores concentrações a flotabilidade sofre uma queda. Assim, quando concentrações da

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

biomassa acima de 0,15 g.L^{-1} foram usadas a capacidade coletora do microrganismo foi reduzida.

Na Figura 53 pode-se observar os resultados da flotabilidade da apatita *"A"* em função do pH usando diferentes concentrações da bactéria *R. opacus*. Do mesmo modo que na apatita *"B"*, foi observado uma maior flotabilidade num valor de pH igual a 5, alcançando um máximo valor em torno de 45%. No entanto, não foi possível determinar uma concentração limite de *R. opacus* na flotação da apatita *"A"*, encontrando a maior flotabilidade usando 0,20 g.L^{-1} de bactéria.

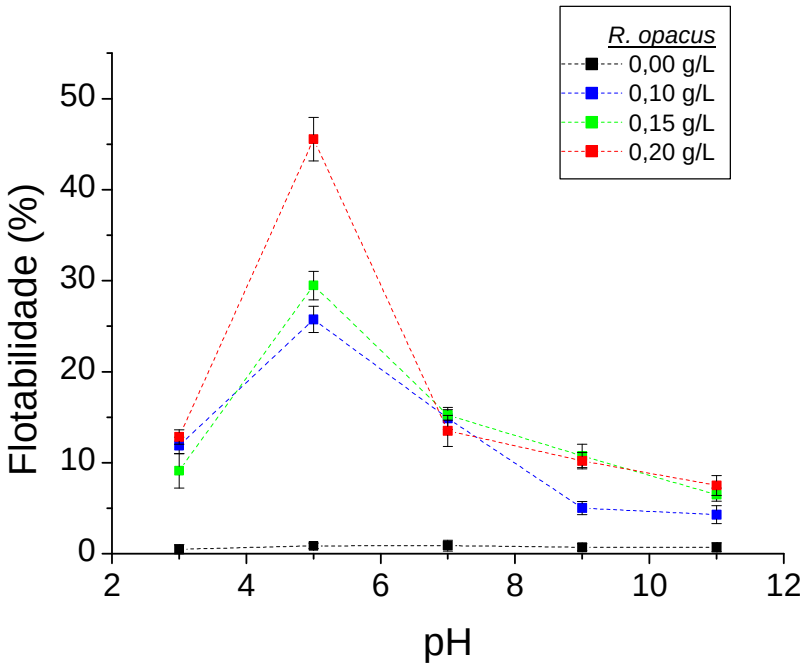

Figura 53- Flotabilidade da apatita *"A"* em função do pH; tamanho de partículas (75 – 106) µm, eletrólito, NaCl 10^{-3}M, tempo de flotação, 2 minutos.

Segundo Smith e Miettinen [47], o uso da bactéria *Staphylococcus carnosus* permitiu incrementar a flotabilidade da apatita até um valor em torno de 75% usando uma concentração celular de 100 mg.L^{-1} e um valor de pH igual a 9. Enquanto a flotabilidade do quartzo foi mínima.

Finalmente na Figura 54 encontram-se os resultados da flotabilidade do quartzo em função do pH, usando diferentes concentrações da bactéria *R. opacus*. Novamente a maior flotabilidade foi observada num valor de pH igual a 5, alcançando um máximo (em torno de 14%) com uma concentração igual a 0,15

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

g.L^{-1} de bactéria, valor que seria a concentração limite, pois com valores acima dessa observa-se uma queda nos valores de flotabilidade.

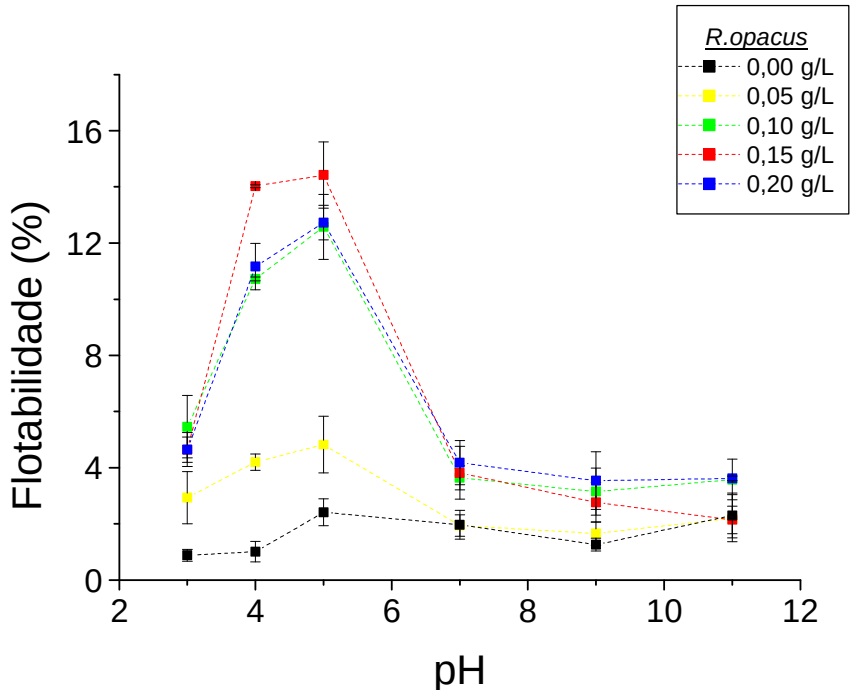

Figura 54- Flotabilidade do quartzo em função do pH; tamanho de partículas (75 – 106) µm, eletrólito, NaCl 10^{-3} M, tempo de flotação, 2 minutos.

Mesquita et al., [54] encontraram que o valor ideal de pH para a bioflotação do quartzo usando a mesma bactéria foi em torno de 3. Do mesmo modo, Faharat et al., [50] observaram que a maior flotabilidade do quartzo após interação com células da bactéria *E. coli* foi na faixa acida, obtendo 58% de flotabilidade em um pH de 2,5. Segundo os autores na faixa acida a bactéria apresentava uma carga positiva dando lugar a atração eletrostática com a superfície negativa do quartzo, e assim maior flotabilidade nessa faixa de pH. [50, 54].

Nos trabalhos de Pakrasan e Natarajan [51] e Pakudone e Natarajan [72] podemos encontrar resultados de flotação de quartzo usando a bactéria redutora de sulfato *Desulfovibrio desulfuricans* e células da levedura *Saccharomyces cerevisiae* respectivamente. No primeiro trabalho, foi observada uma flotação de quartzo em torno de 45% após interação com a bactéria, numa solução com pH neutro e com 3 minutos de flotação. Enquanto, no segundo trabalho os autores

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

encontraram uma flotação de quartzo em torno de 48% após interação com as células da levedura nas mesmas condições de trabalho.

5.5.4.
Influência da concentração da Bactéria

Como falado anteriormente, no caso da apatita *"B"* e o quartzo, foram encontrados valores limites da concentração da bactéria (0,15 $g.L^{-1}$), nos quais foi observado um máximo valor de flotabilidade, assim quando maiores concentrações de bactéria foram usadas, a flotabilidade da amostra mineral sofre uma queda. Esse comportamento não foi observado no caso da apatita *"A"*, nesse caso a flotabilidade do mineral incrementou juntamente com a concentração da bactéria.

Um resumo desses resultados pode ser observado na Figura 55, da figura podemos apreciar claramente que ambas as amostras de apatita apresentaram maior flotabilidade que o quartzo, quem alcançou um máximo de flotabilidade em torno de 13%. Da mesma forma a apatita *"B"* apresentou maior flotabilidade que a apatita *"A"* em todas as concentrações de bactéria usadas neste estudo.

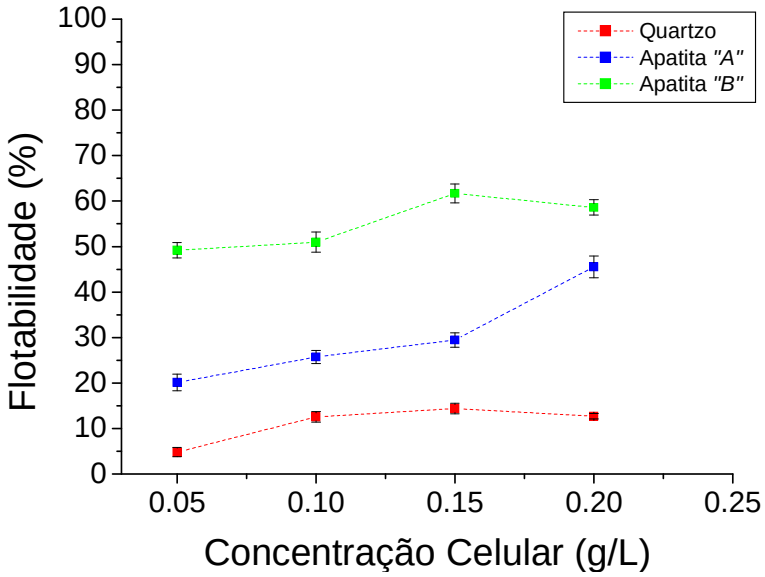

Figura 55- Flotabilidade dos minerais em função da concentração celular (pH 5, tamanho de partícula, (106 – 75) µm, eletrólito NaCl: 10^{-3}M, tempo de flotação: 2 minutos)

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

A concentração limite da biomassa foi observada em outros trabalhos. Para Yang et al., [42] na bioflotação de hematita usando *M. plhei*, esse valor foi em torno de 16mg.L^{-1}; para Botero et al., [52, 53] na flotação de magnesita, esse valor foi 0,10g.L^{-1} de bactéria. No mesmo trabalho, a flotabilidade da calcita e barita incrementaram junto com a concentração da bactéria, o que também foi afirmado por Faharat et al., [50] na bioflotação de quartzo usando bactérias *E.coli* e por Mesquita et al., [54] na flotabilidade do quartzo e hematita usando a bactéria *R. opacus*, no ultimo foi observado um incremento de 10% até 40% para o quartzo e de 40% até próximo de 90% para a hematita quando incrementaram a concentração de bactéria de 150 ppm para 600 ppm respectivamente.

Segundo Yang et al., [42] e Botero et al., [52, 53], a flotabilidade sofre uma queda acima do valor limite de concentração, devido ao tamanho dos flocos formados entre o mineral e as células da bactéria, já que com maiores concentrações de bactéria os flocos formados podem ficar muito grandes, e dessa forma não conseguirem ser carregados até a superfície.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

5.5.5.
Influência do tempo de flotação

Todos os resultados de flotabilidade dos minerais apresentados até agora foram obtidos usando um tempo de flotação igual a 2 minutos. Nessa etapa do trabalho foram realizados ensaios em função do tempo, usando as condições previamente estabelecidas como pH 5, tamanho de partícula (75 – 106) µm, solução de NaCl, 1×10^{-3} com temperatura de 23 ^{0}C e usando uma concentração da biomassa de 0,15 g.L^{-1} para apatita *"B"* e quartzo e de 0,20 g.L^{-1} para apatita *"A"*.

O quartzo alcançou uma flotabilidade de 8% com um minuto de flotação incrementando até um valor em torno de 17% após 7 minutos de flotação (Figura56). Apesar do largo tempo de flotação podemos observar que a bactéria não afeta significativamente a flotabilidade do quartzo.

Da Figura 56 pode-se observar que a bactéria consegue incrementar a flotabilidade da apatita *"B"* até um valor em torno de 65% nos dois primeiros minutos de flotação e próximo de 90% após 7 minutos. Já no caso da apatita *"A"*

a flotabilidade incrementou até 45% e 84% com os mesmos tempos de flotação. Assim, considerando a maior flotabilidade alcançada pela apatita *"B"* durante os ensaios de flotação, além da maior quantidade de bactéria utilizada na flotação de apatita *"A"*, podemos afirmar que as células da bactéria *R. opacus* tornaram a superfície da apatita *"B"* mais hidrofóbica que a superfície da apatita *"A"*.

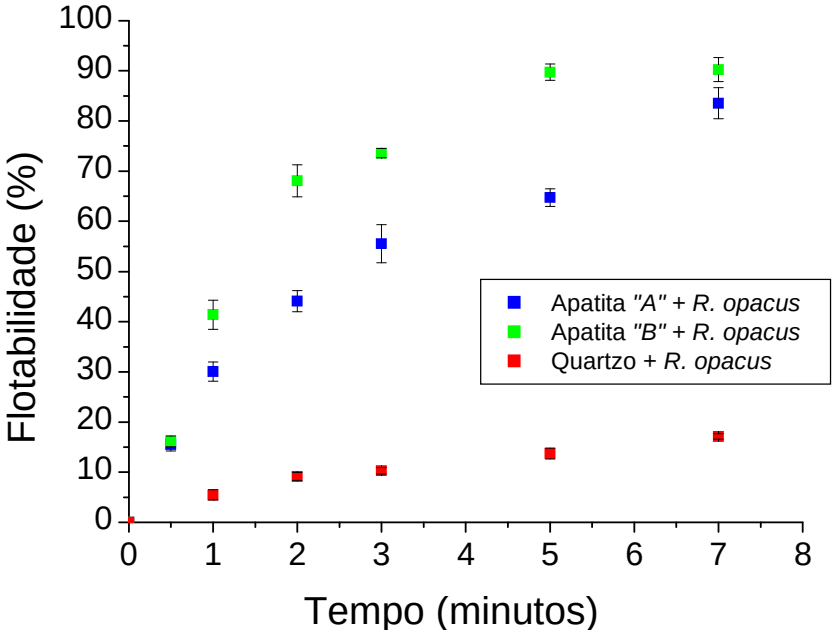

Figura 56- Flotabilidade dos minerais em função do tempo, pH 5, tamanho de partícula: 75µm – 106 µm, eletrólito NaCl: 10^{-3} M

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

5.5.6.
Micrografias de Microscópio Eletrônico de varredura

O microscópio eletrônico de varredura foi utilizado com o intuito de visualizar as células da bactéria *R. opacus* aderidas na superfície dos minerais em estudo e assim poder determinar uma possível adesão preferencial da bactéria.

Nas Figuras 57, 58 e 59 são apresentadas imagens das partículas de apatita *"B"*, apatita *"A"* e quartzo, respectivamente. Partículas recolhidas da espuma mineralizada dos ensaios de microflotação. Uma análise das micrografias mostra claramente a presença de células da bactéria aderidas às superfícies minerais. Observa-se uma maior aderência na superfície das apatitas (Figura 57 e 58) que no

caso do quartzo (Figura 59), onde se pode identificar uma mínima quantidade de células aderidas.

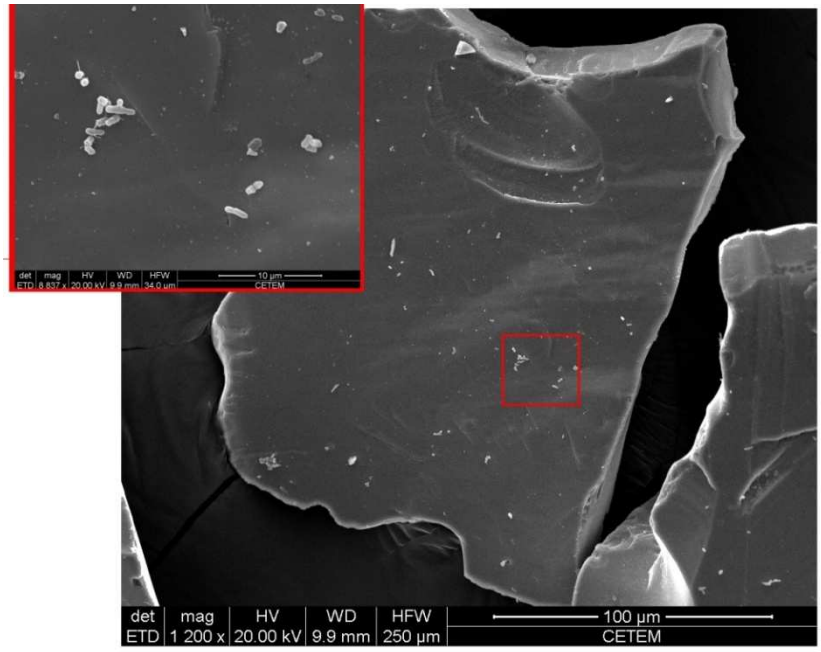

Figura 57- Imagem de MEV de células da bactéria *R. opacus* na superfície da apatita *"B"* após flotação.

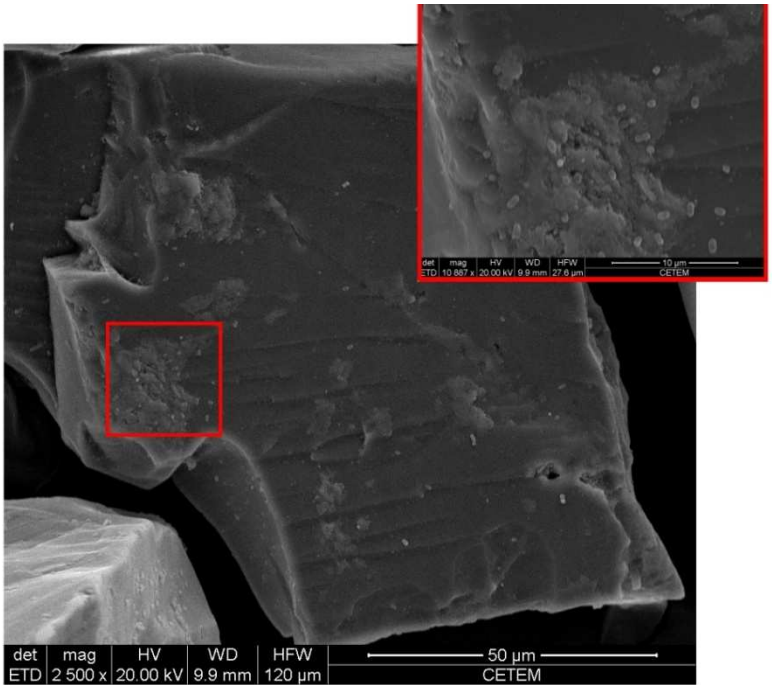

Figura 58- Imagen de MEV de células da bactéria *R. opacus* na superfície da apatita *"A"* após flotação.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

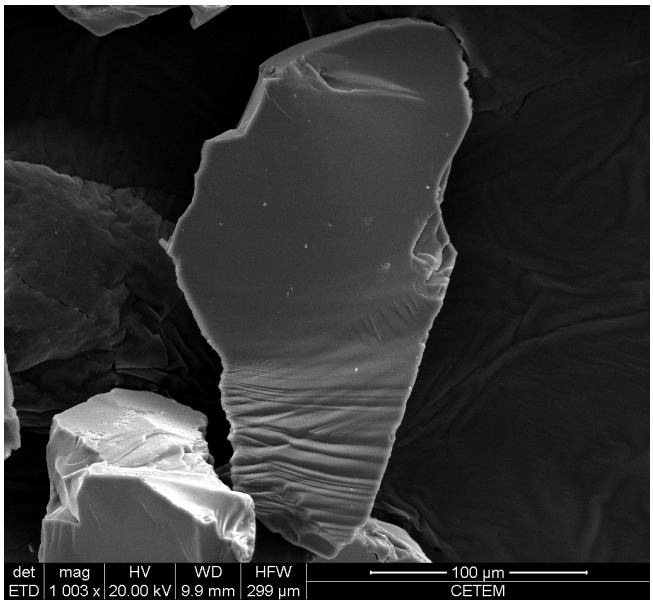

Figura 59- Imagem de MEV de células da bactéria *R. opacus* na superfície do quartzo após flotação.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

A partir desses resultados e junto com os valores de flotabilidade obtidos, pode-se dizer que as células da bactéria apresentaram uma adsorção preferencial na superfície das apatitas. Esses resultados sugerem que diferentes mecanismos estariam envolvidos no processo de adesão da bactéria à superfície da apatita e do quartzo, apesar destes minerais apresentarem caráter hidrofílico.

5.5.7.
Cinética de flotação mineral

Nesta etapa do trabalho foram realizados experimentos, com a finalidade de determinar o efeito do tamanho de partículas minerais na taxa da microflotação mineral usando *R. opacus* como biorreagente. Para os ensaios de cinética de flotação foram adotadas as melhores condições obtidas nos testes anteriores para cada amostra mineral, ou seja, pH da suspensão igual a 5, concentração celular igual a 0,20 $g.L^{-1}$ para apatita *"A"* e 0,15 $g.L^{-1}$ para apatita *"B"* e quartzo, valores previamente determinados em função da maior flotabilidade de cada mineral.

A cinética de bioflotação pode ser representada pelos modelos clássicos de primeira e segunda ordem. A determinação das constantes cinéticas da bioflotação

mineral com diferentes tamanhos de partículas foi realizada através da linearização dos modelos.

Modelo Primeira ordem:

$$\frac{dm}{dt} = -K_1 \cdot m \quad (29)$$

Integrando: $\ln(\frac{m}{m_0}) = -K_1 \cdot t$ (30)

Utilizando a equação: (28) podemos substituir na equação 30 e obter:

$$\ln(1-R) = -K_1 \cdot t \quad (31)$$

ou

$$R = 1 - e^{-K_1 \cdot t} \quad (32)$$

Modelo segunda ordem:

$$\frac{d(m)^2}{dt} = -K_2 \cdot m^2 \quad (33);$$

Integrando: $\frac{1}{m_f} = \frac{1}{m_0} + K_2 \cdot t$ (34)

Ou: $\frac{R}{(1-R)} = K_2 \cdot m_0 \cdot t$ (35)

Onde:

R: Recuperação do mineral no tempo t; m_0: Massa inicial, K_1: Constante de taxa do modelo de primeira ordem; K_2: Constante de taxa do modelo de segunda ordem.

Os resultados da flotabilidade da apatita *"A"* em função do tempo para diferentes tamanhos de partícula podem ser vistos na Figura 60. O maior valor de flotabilidade foi observado com tamanho de partícula entre (150 – 106) µm alcançando um valor próximo de 90% com 7 minutos de flotação, por outro lado, quando foram usados tamanhos de partículas entre (106 – 75) µm e (75 – 38) µm os valores de flotabilidade caíram para 80% e 70% respectivamente.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

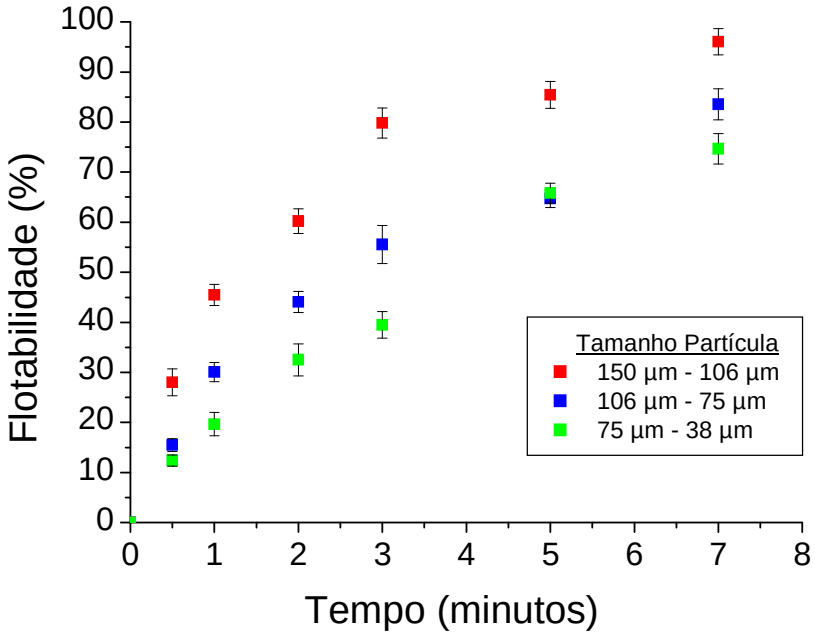

Figura 60- Flotabilidade da apatita *"A"* em função do tempo a diferentes tamanhos de partícula, pH 5, concentração celular: 0,2 g/L.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

Dos dois modelos cinéticos estudados, foi observado que o modelo de primeira ordem ajustou melhor os resultados experimentais, o ajuste linear desse modelo pode ser visto na Figura 61. Enquanto na Tabela 28 pode ser observada uma síntese dos resultados da aplicação de ambos os modelos cinéticos na bioflotação da apatita *"A"* usando a bactéria *R. opacus* como biorreagente. O melhor ajuste pode ser definido por médio do valor do R^2 encontrado. Assim, no modelo de primeira ordem foram observados valores de R^2 acima de 0,97 para todos os tamanhos de partículas, enquanto no modelo de segunda ordem, foram observados valores de R^2 em torno de 0,737 e 0,861 para tamanhos de partículas de (150 – 106) µm e (106 – 75) respectivamente. Como pode ser visto, as partículas mais finas tendem a apresentar uma cinética mais lenta no processo, o que é evidenciado pela diminuição dos valores das constantes K, diminuindo de 0,4499 min^{-1} para 0,199 min^{-1} quando foi variado o tamanho de partículas de (106 – 150) µm para (38 – 75) µm respectivamente.

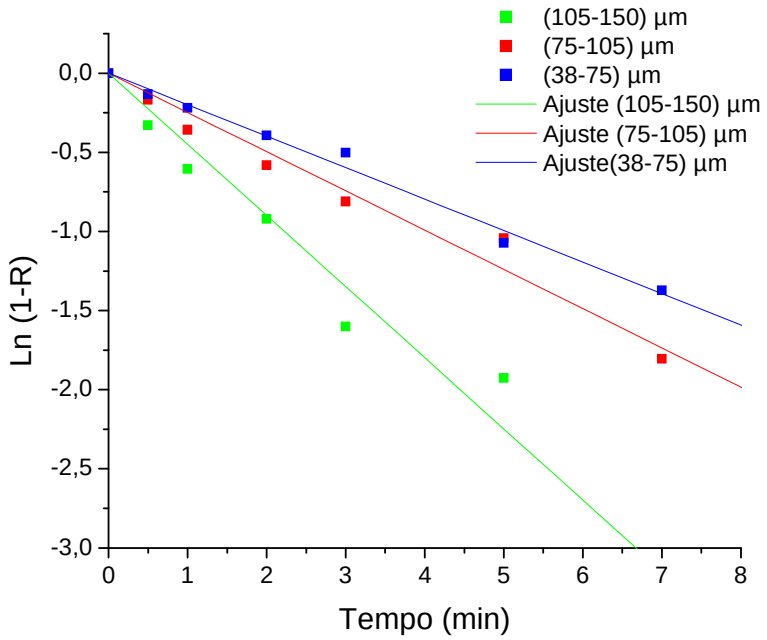

Figura 61- Modelo de primeira ordem - Flotabilidade da apatita *"A"*, pH 5, concentração celular: 0,2 $g.L^{-1}$.

Tabela 28- Constantes cinéticas da microflotação de apatita *"A"* usando a bactéria *R. opacus* em função do tamanho de partícula.

Tamanho partícula (µm)	1^0 ordem		2^0 Ordem	
	K_1 (min^{-1})	R^2	K_2 $(g.min)^{-1}$	R^2
106 – 150	0,449	0,972	2,442	0,737
75 – 106	0,248	0,969	0,573	0,861
38 – 75	0,199	0,989	0,379	0,943

Na Figura 62 podem ser observados os resultados experimentais de flotabilidade junto com o ajuste do modelo cinético de primeira ordem a flotação de apatita "*A*".

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

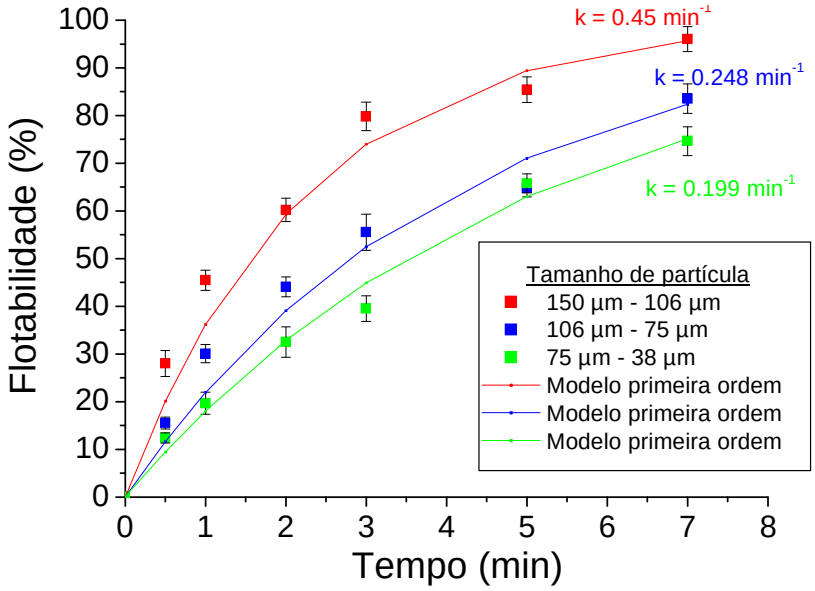

Figura 62- Cinética da Flotabilidade da apatita *"A"* usando a bactéria R. opacus, com diferentes tamanho de partículas.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

Os resultados da microflotação da apatita "*B*" em função do tempo a diferentes tamanhos de partícula podem ser vistos na Figura 63. Como no caso da apatita "A", foi observada uma maior flotabilidade do mineral com um tamanho de partícula entre (150 – 106) µm, alcançando um valor em torno de 90% com 7 minutos de flotação, enquanto com menores tamanhos de partículas (106 – 75) µm e (75 – 38) µm, a flotabilidade sofreu uma queda, apresentando valores próximos de 85% e 80% respectivamente.

Por outro lado, também foi observado que a flotabilidade da apatita "B" alcançou seu máximo valor com 5 minutos de flotação (~ 90%). Quando o tempo foi incrementado até 7 minutos, observou-se uma variação pouco significativa. Desta forma, confirma-se o anteriormente falado, a bactéria *R. opacus* consegue tornar mais hidrofóbica a apatita "B" em comparação com a apatita "A". Já que a apatita "A" precisou de 0,20 $g.L^{-1}$ de bactéria e 7 min para alcançar um valor próximo de 90% de flotabilidade, em quanto que, a apatita "B" precisou de 0,15 $g.L^{-1}$ e 5 minutos para alcançar o mesmo valor de flotabilidade.

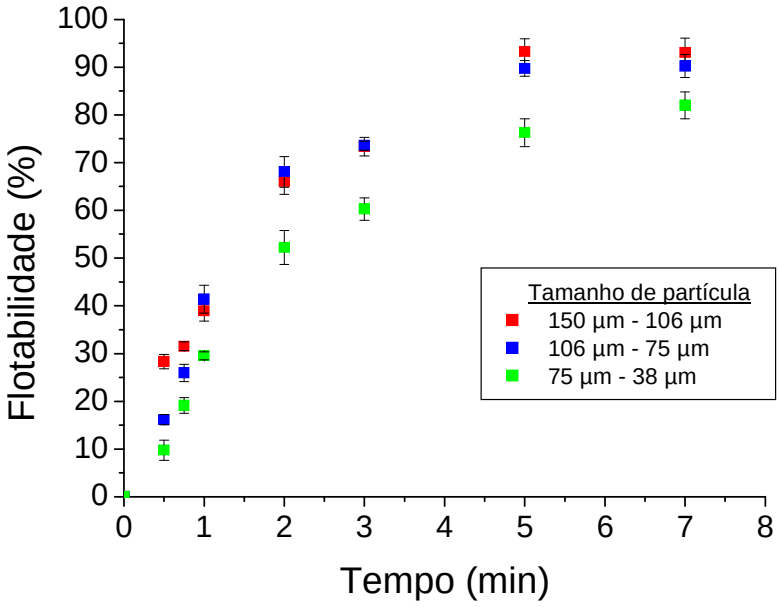

Figura 63- Flotabilidade da apatita *"B"* em função do tempo a diferentes tamanhos de partículas, pH 5, concentração celular: 0,15 g.L^{-1}.

Novamente, o modelo cinético que melhor ajustou os resultados experimentais de flotação foi o modelo de primeira ordem. O ajuste linear deste modelo pode ser visto na Figura 64.

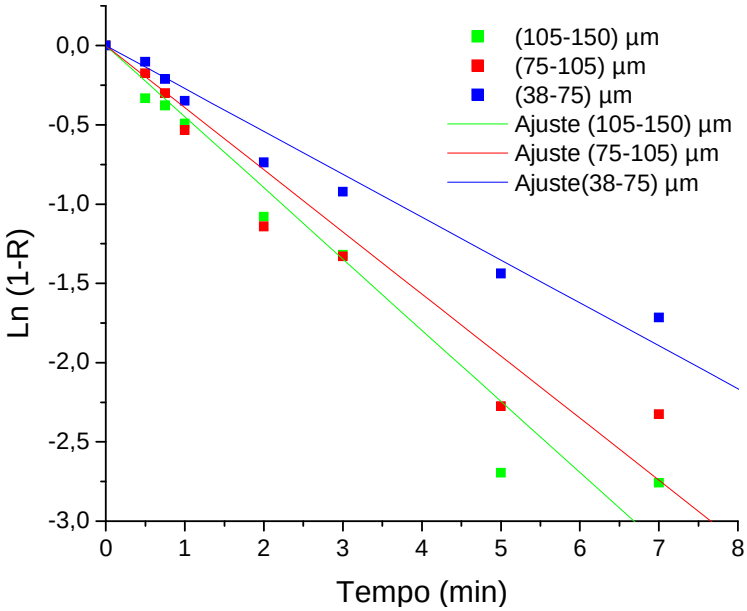

Figura 64- Modelo de primeira ordem – Flotabilidade de apatita *"B"*, pH 5, concentração celular: 0,15 g.L^{-1}.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

A Tabela 29 apresenta a síntese dos resultados da aplicação dos modelos cinéticos na microflotação da apatita *"B"* usando a bactéria *R. opacus* como biorreagente. O modelo de primeira ordem apresentou valores de R^2 acima de 0,92 para todos os tamanhos de partículas. Enquanto o modelo de segunda ordem apresentou valores de R^2 de 0,88, 0,93 e 0,98, para tamanhos de partículas de (150 – 106) µm, (106 – 75) µm, (75 – 38) µm, respectivamente. Da mesma forma que no caso da apatita *"A"*, as constantes de taxa de flotação da apatita *"B"* sofreram uma queda quando foram empregados menores tamanhos de partículas do mineral. Diminuindo de 0,449 min^{-1} para 0,271 min^{-1} quando foi variado o tamanho de partículas de (106 – 150) µm para (38 – 75) µm respectivamente.

Tabela 29- Constantes cinéticas da microflotação de apatita *"B"* usando a bactéria *R. opacus* em função do tamanho de partícula.

Tamanho partícula (µm)	**1^0 ordem**		**2^0 Ordem**	
	K_1 (min^{-1})	**R^2**	**K_2 $(g.min)^{-1}$**	**R^2**
106 – 150	0,449	0,95	2,094	0,88
75 – 106	0,392	0,924	1,375	0,932
38 – 75	0,271	0,967	0,624	0,983

Os resultados experimentais de flotabilidade da apatita *"B"* junto com o ajuste do modelo cinético de primeira ordem para todos os tamanhos de partículas podem ser vistos na Figura 65.

Fazendo uma comparação entre os valores das constantes de taxa de flotação da apatita *"A"* e da apatita *"B"*, podemos observar duas coisas importantes:

a) As constantes de taxa (K_1) de ambas as amostras de apatita diminuem com o tamanho de partícula mineral.

b) A velocidade de flotação da apatita *"B"* é mais rápida que a velocidade de flotação da apatita *"A"*, fato comprovado pelos valores das constantes de taxa (K_1) para todos os tamanhos de partículas, que no caso da apatita *"B"*, apresentam maiores valores que as constantes

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

de taxa da apatita *"A"*. Além de precisar menor quantidade de biomassa e tempo para alcançar o seu maior valor de flotabilidade.

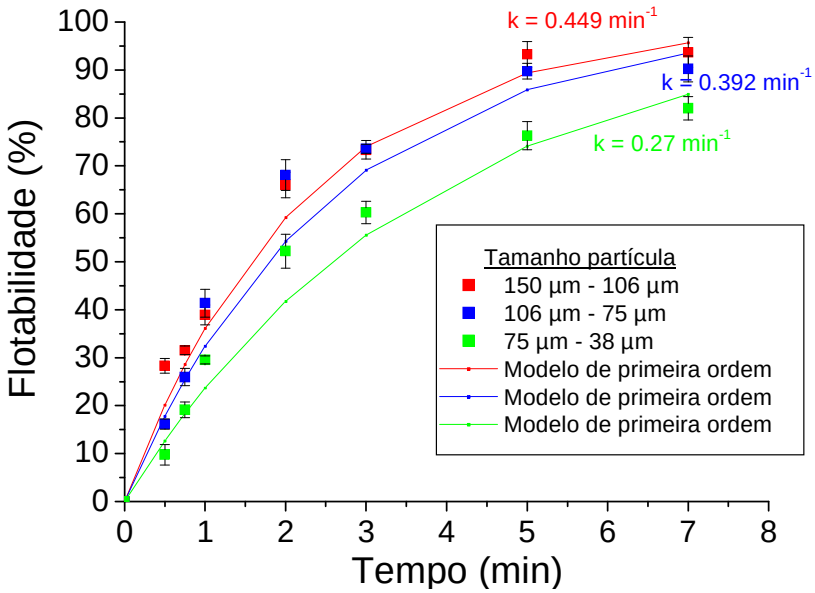

Figura 65- Cinética da Flotabilidade da apatita *"B"* usando a bactéria *R. opacus,* com diferentes tamanho de partículas.

Finalmente, os resultados da microflotação de quartzo em função do tempo a diferentes tamanhos de partículas podem ser vistos na Figura 66. Neste caso, contrariamente ao visto anteriormente, observou-se uma maior flotabilidade do mineral com menores tamanhos de partículas, alcançando um valor próximo de 11 % de flotabilidade com um tamanho de partículas entre (150 – 106) µm com 7 minutos de flotação. Enquanto com tamanhos de partículas entre (106 – 75) µm e (75 – 38)µm, a flotabilidade incrementou para valores de 15% e 53% respectivamente. Esse comportamento já tinha sido observado nos ensaios exploratórios sem presença do microrganismo (Tabela 27), assim, o motivo aparente do incremento da flotabilidade do quartzo para menores tamanhos de partícula, seria que o quartzo é mais leve que a apatita. Portanto, com menor tamanho de partícula pode existir maior arraste causado pela vazão de fluxo de ar.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

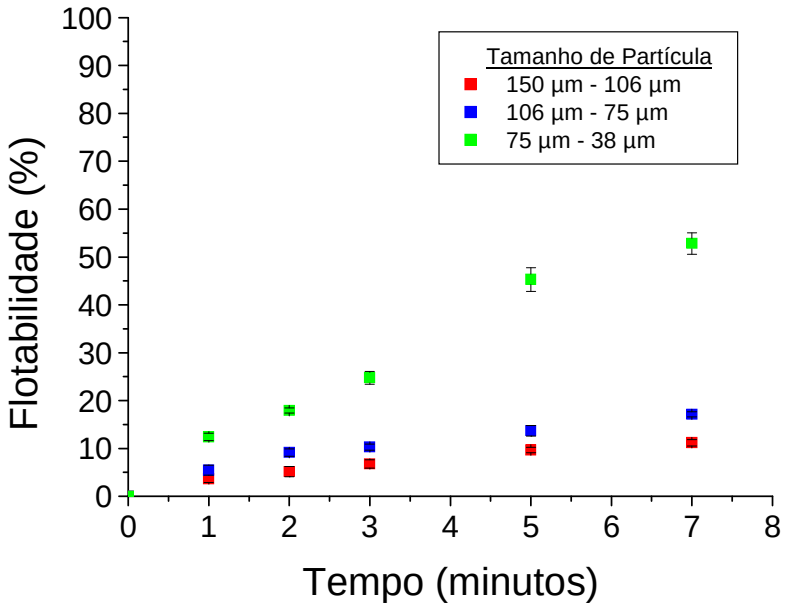

Figura 66- Flotabilidade de quartzo em função do tempo a diferentes tamanhos de partículas, pH 5, concentração celular: 0,15 $g.L^{-1}$.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

No caso da flotação de quartzo, aparentemente, ambos os modelos cinéticos ajustaram-se bem aos dados experimentais. O ajuste lineal de ambos os modelos pode ser visto na Figura 67 e 68, respectivamente.

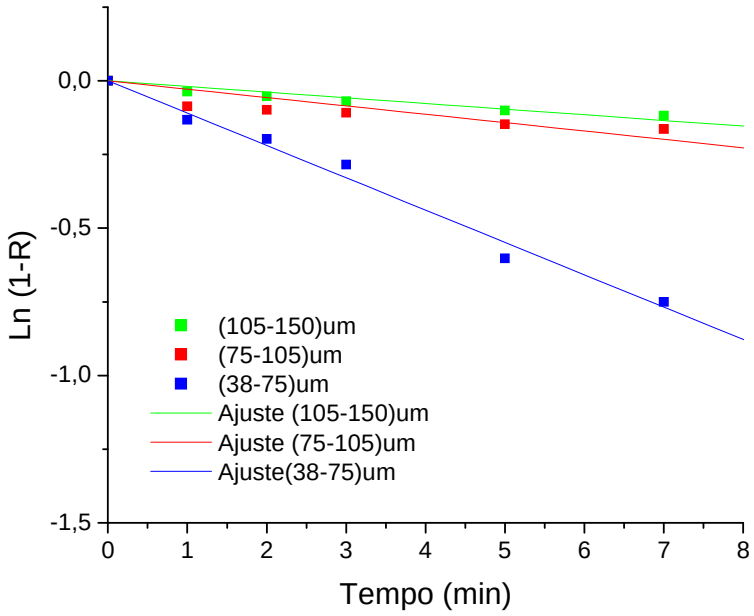

Figura 67- Modelo de Primeira ordem – Flotabilidade de quartzo, pH 5, concentração celular: 0,15 $g.L^{-1}$.

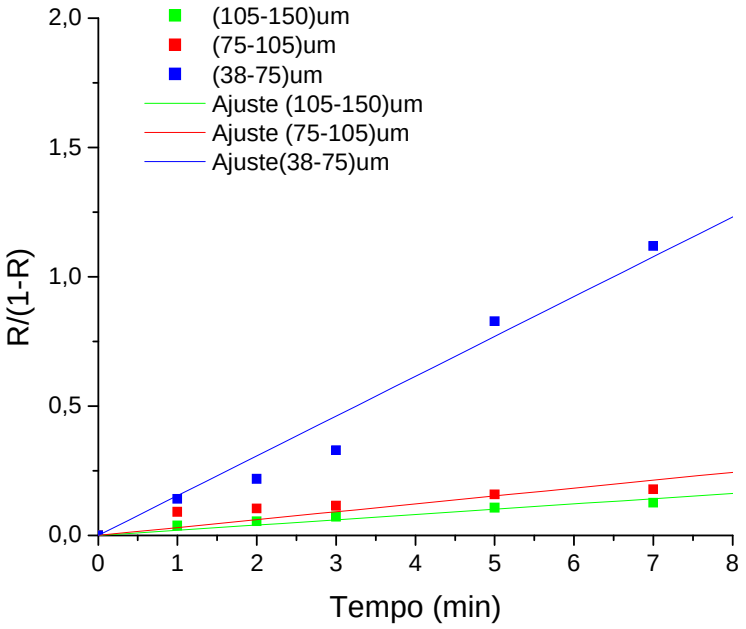

Figura 68- Modelo de segunda ordem – Flotabilidade de quartzo, pH 5, concentração celular: 0,15 $g.L^{-1}$

A Tabela 30 sintetiza o resumo dos resultados de ambos os modelos cinéticos da microflotação do quartzo usando a bactéria *R. opacus* como biorreagente. Ambos os modelos forneceram valores de R^2 muito próximos, para cada faixa de tamanho de partículas. O bom ajuste dos modelos cinéticos seria provavelmente devido aos baixos valores de flotabilidade alcançados, para todos os casos. Ao contrario do observado nas amostras de apatita, as constantes da taxa dos modelos cinéticos da flotação de quartzo incrementaram com menores tamanhos de partículas do mineral. Passando de um valor de 0,019 min^{-1} para 0,1097 min^{-1} quando foi variado o tamanho de partículas de (106 – 150) µm para (38 – 75) µm respectivamente.

Tabela 30- Constantes cinéticas da microflotação de quartzo usando a bactéria *R. opacus* em função do tamanho de partícula.

Tamanho partícula (µm)	1^0 ordem		2^0 Ordem	
	K_1 (min^{-1})	R^2	K_2 $(g.min)^{-1}$	R^2
106 – 150	0,0192	0,897	0,0203	0,913
75 – 106	0,0299	0,872	0,0323	0,900
38 – 75	0,1097	0,985	0,1539	0,968

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

Os resultados experimentais de flotabilidade do quartzo junto com os valores obtidos pelos modelos cinéticos podem ser vistos na Figura 69.

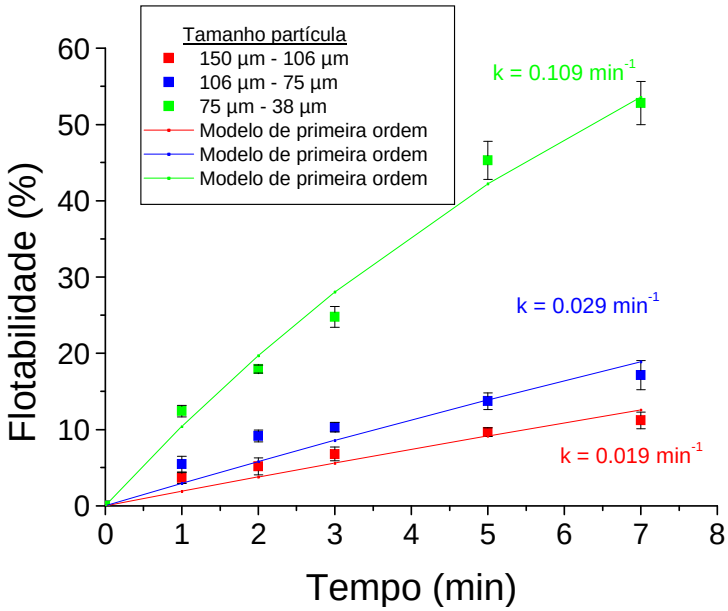

Figura 69- Cinética da Flotabilidade da quartzo usando a bactéria *R. opacus,* com diferentes tamanho de partículas.

Segundo Nguyen e Schulze apud Yalcin et al., [75] a cinética de flotação geralmente segue um modelo de primeira ou segunda ordem. Simplificando para primeira ordem no caso da flotação de minerais simples ou de polpas diluídas e de segunda ordem para flotação de minérios de baixo teor ou de polpas concentradas. Fato observado também no presente trabalho, de acordo aos resultados a cinética de bioflotação dos minerais estudados – apatita e quartzo – seguem modelos cinéticos de primeira ordem.

5.5.8.
Flotação com bactéria adaptada a substrato mineral

Como mencionado no capitulo 3, as características superficiais de uma cepa bacteriana podem ser modificadas por adaptação comum substrato mineral,

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

devido a uma maior produção de produtos metabólicos, tais como proteínas e polissacarídeos, os quais causam uma alteração no balanço de grupos funcionais presentes na parede celular e dessa forma uma mudança nas características superficiais da bactéria. Assim, a bactéria adaptada irá responder de uma forma diferente aos processos de adesão, mobilidade eletroforética e flotação.

Primeiramente foram realizados ensaios com a finalidade de ver se existiu alguma mudança na formação de espuma. Os ensaios foram realizados sob as mesmas condições previamente estabelecidas, solução de NaCl, 1×10^{-3}M, temperatura de 23^{0}C., com concentração celular de 0,15 $g.L^{-1}$ e 2 minutos de flotação.

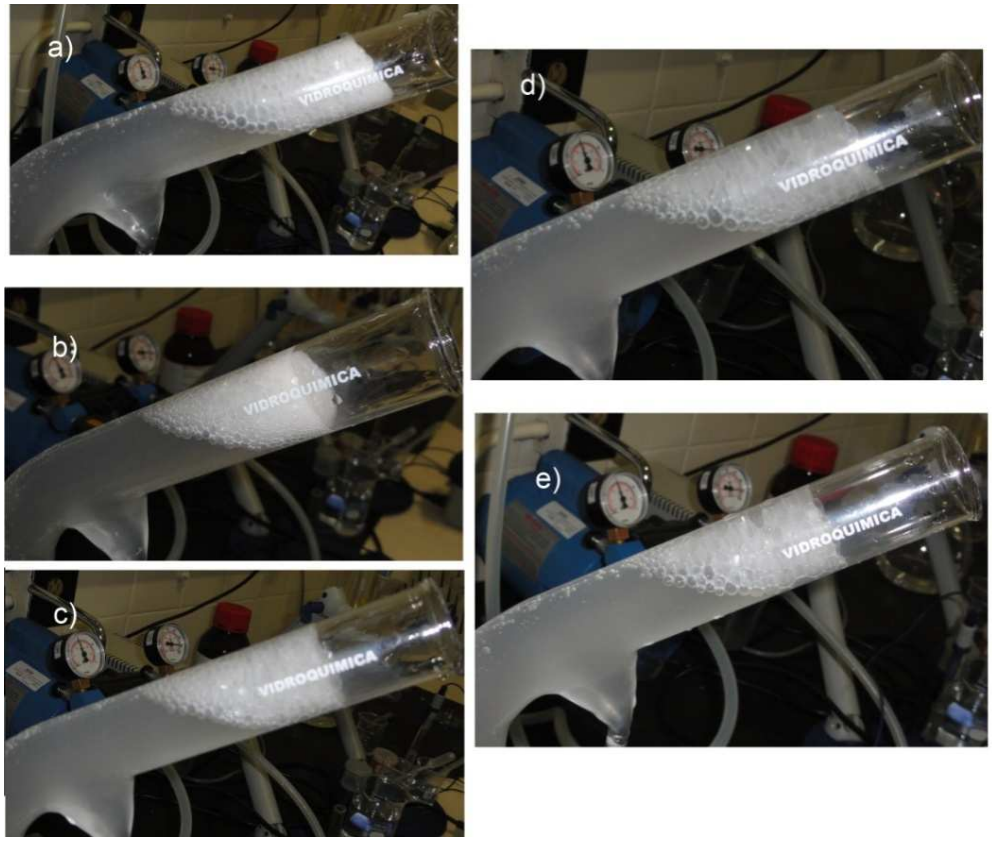

Figura 70- Espuma gerada pela bactéria *Rhodococcus opacus* adaptada a substrato mineral. A) pH 3, b) pH 5, c) pH 7, d) pH 9, e) pH 11, Concentração bactéria, 0,15 $g.^{-1}$.

A bactéria após adaptação à substrato mineral sofreu uma mudança na sua característica “espumante” (biofrother), mudança que pode ser identificada na

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

fotografia da Figura 70. Da qual pode ser ressaltado: a) Formação de espuma no meio alcalino; b) Diminuição da densidade de bolhas no meio ácido.

Novamente, a mudança no comportamento da espuma em função do pH, após adaptação da bactéria ao mineral, pode ser verificado com uma mudança na tensão superficial da suspensão bacteriana. O que poder ser observado na Figura 71, na qual é apresentada uma comparação dos valores de tensão superficial antes e após adaptação da bactéria. Da figura pode ser observado: a) Aumento da tensão superficial nos valores de pH 3, 5 e 7; b) Redução da tensão superficial nos valores de pH 9 e 11. Resultados coerentes com a formação de espuma. Essa mudança nos valores de tensão superficial e na densidade de espuma pode ser devido à presença de biosufactantes ou compostos excretados pela bactéria devido ao processo de adaptação mineral.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

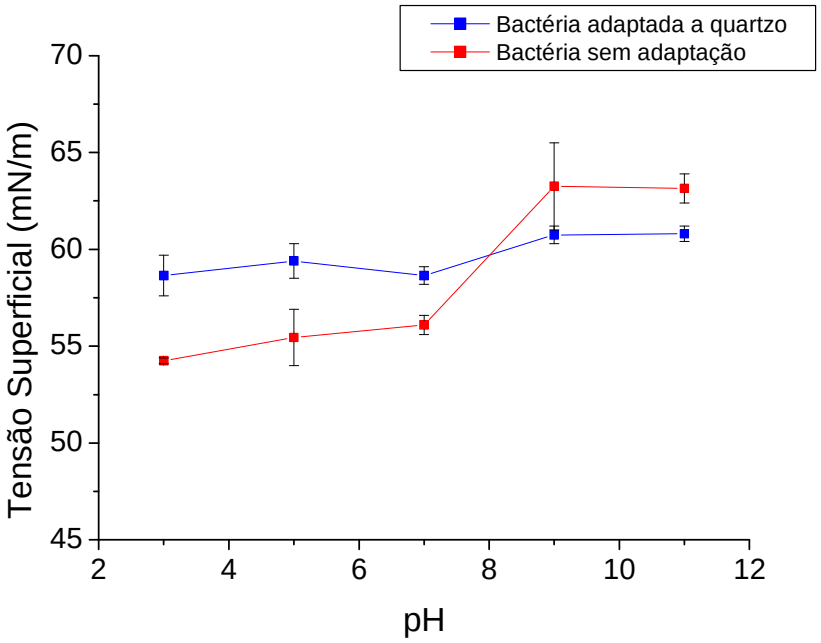

Figura 71- Tensão superficial de células da bactéria *R. opacus* sem e com adaptação a substrato mineral.

Os ensaios de flotabilidade mineral usando a bactéria adaptada foram realizados sob as mesmas condições previamente estabelecidas, solução de NaCl, 1×10^{-3}, temperatura de 23^{0}C., com concentração celular de 0,20 g.L $^{-1}$ para apatita

"A" e de 0,15 g.L^{-1} para apatita *"B"* e quartzo com um tempo de flotação igual a 2 minutos.

A Figura 72 mostra os resultados da flotabilidade da apatita *"A"* usando como biorreagente três tipos de células da bactéria *R. opacus*, primeiro usando bactéria sem adaptação, depois bactéria adaptada àapatita *"A"* e finalmente bactéria adaptada à quartzo.

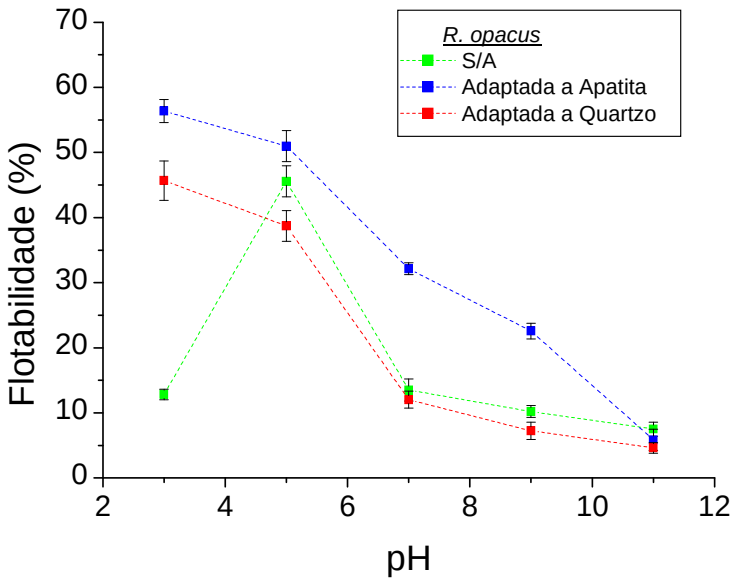

Figura 72- Microflotação da apatita *"A"* usando a bactéria *R. opacus* adaptada a substrato mineral; concentração celular: 0,20 g.L^{-1}

O uso da bactéria adaptada a quartzo causou um incremento na flotabilidade da apatita num valor de pH igual a 3, mudando de um valor próximo de 10% até um valor de 45%. Nos outros valores de pH, foi observada uma queda insignificante da flotabilidade de apatita. Por outro lado, o uso da bactéria adaptada a apatita *"A"*causou um incremento na flotabilidade de apatita em toda a faixa de pH trabalhada, excetuando o valor de pH 11, onde não foi observada nenhuma variação significante. Da mesma forma que no caso da bactéria adaptada a quartzo, o maior incremento da flotabilidade foi observado num valor de pH igual a 3, alcançando um valor de flotabilidade em torno de 55%.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

O efeito do uso da bactéria adaptada na flotabilidade do quartzo pode ser visto na Figura 73. Da figura pode ser observado que o uso da bactéria adaptada à apatita praticamente não causou nenhum efeito na flotabilidade do quartzo. O contrario foi observado no uso da bactéria adaptada à quartzo, o que causou um incremento na flotabilidade do quartzo em toda a faixa de pH estudada.

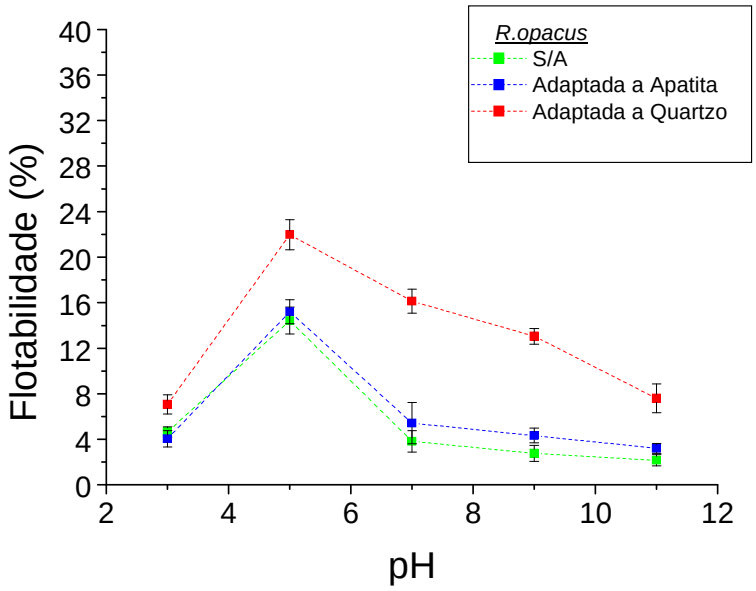

Figura 73- Microflotação de quartzo usando a bactéria *R. opacus* adaptada a substrato mineral; concentração celular: 0,15 $g.L^{-1}$.

Segundo Natarajan [35] a adaptação da cepa bacteriana a quartzo causa uma maior secreção de proteínas, o que incrementa a hidrofobicidade da cepa. O mesmo foi observado por Pakrasan e Natarajan [51] e Pakudone e Natarajan [72], que usaram microrganismos adaptados à presença de quartzo, em ambos os casos os autores observaram um incremento da flotabilidade do quartzo. Observando incrementos na flotabilidade do quartzo de 17% para 75% e de 18% para 95% respectivamente para cada autor, após ser feita a adaptação da bactéria a quartzo. Além de usar os microrganismos como biorreagente, os autores também usaram os metabolitos extraídos da bactéria, os resultados mostraram incrementos de 17% para 84% e de 18 para 94%, confirmando assim, que o processo de adaptação do microrganismo a substrato mineral causa: a) uma modificação nos produtos metabólicos, os que ao mesmo tempo modificam a superfície da bactéria

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA

tornando-a mais hidrofóbica e b) Uma seletividade dos microrganismos pelo mineral no qual o microrganismo foi adaptado. Esse mesmo efeito também foi encontrado neste trabalho, observando os resultados da Figura 72, podemos ver que a maior flotabilidade da apatita *"A"* foi alcançada quando foi usado o microrganismo adaptado à própria apatita. Da mesma forma da Figura 73, a maior flotabilidade do quartzo foi alcançada usando o microrganismo adaptado a quartzo.

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0813376/CA