

4 Resultados e Discussão

4.1. Caracterização dos minerais

Na tabela 7 é apresentado o resultado da análise de fluorescência de raios X das amostras minerais, pode-se observar que o teor de SiO_2 no quartzo encontra-se em torno de 99% , enquanto a cassiterita apresentou valores de 84,7% de SnO_2 .

Tabela 7 - Análise de fluorescência de raios X da cassiterita e quartzo.

	SnO_2 (%)	Ta_2O_5 (%)	NbO (%)	Fe_2O_3 (%)	SiO_2 (%)
Cassiterita	84,7	6.99	3.75	2.87	-
Quartzo	-	-	-	0.34	99,09

Os resultados da distribuição de tamanho de bolha obtidos pela técnica de difração laser são apresentados na tabela 8. Nota-se que o tamanho das partículas de cassiterita foi inferior de 21 μm . Já para as partículas de quartzo as partículas foram menores a 25 μm .

Tabela 8 - Tamanho médio de partículas minerais de quartzo e cassiterita.

Mineral	d(0.1) μm	d(3,2)	d(0.5) μm	d(0.9) μm
Cassiterita	1,03	3.09	8,6	20,9
Quartzo	4,40	8,63	11,6	24,4

4.2.

Caracterização do microrganismo *Rhodococcus opacus*.

4.2.1.

Curva de crescimento

As fases de crescimento de um microrganismo são: fase lag ou também conhecida como de adaptação, fase log ou exponencial (fase de pleno crescimento do microrganismo), fase estacionária e a fase de declínio ou de morte celular (Tortora *et al.*, 2000). Para a utilização do microrganismo *Rhodococcus opacus* nos diversos ensaios deste trabalho, foi necessário obter o microorganismo em condições controladas de cultivo e dentro da fase log (logarítmica) de crescimento.

Segundo Sharma (2001) tanto o tipo de substrato (meio de cultivo) quanto as condições de cultivo (pH, temperatura, luminosidade) produzem mudanças nas propriedades superficiais dos microrganismos e, conseqüentemente, na adesão bactéria-superfície mineral.

De acordo com dados obtidos por Mesquita (2000) que avaliou a possível variação nas propriedades eletrocinéticas das células *R. opacus* decorrentes do tempo, meio de cultivo e do estado fisiológico (células vivas e mortas), existem diferenças de valores do potencial zeta no caso de células crescidas em meio de cultura complexo e mineral. Estas diferenças podem ser justificadas pelo fato da composição da parede celular estar relacionada ao meio de cultura e ao tempo de cultivo (fase de crescimento). Porém, nos trabalhos de McEldowney & Fletcher (1986), Dufrêne & Rouxhet (1996) e Grasso *et al.* (1996) uma postura mais flexível foi estabelecida, pois afirmaram que os microrganismos podem ou não apresentar características diferenciadas.

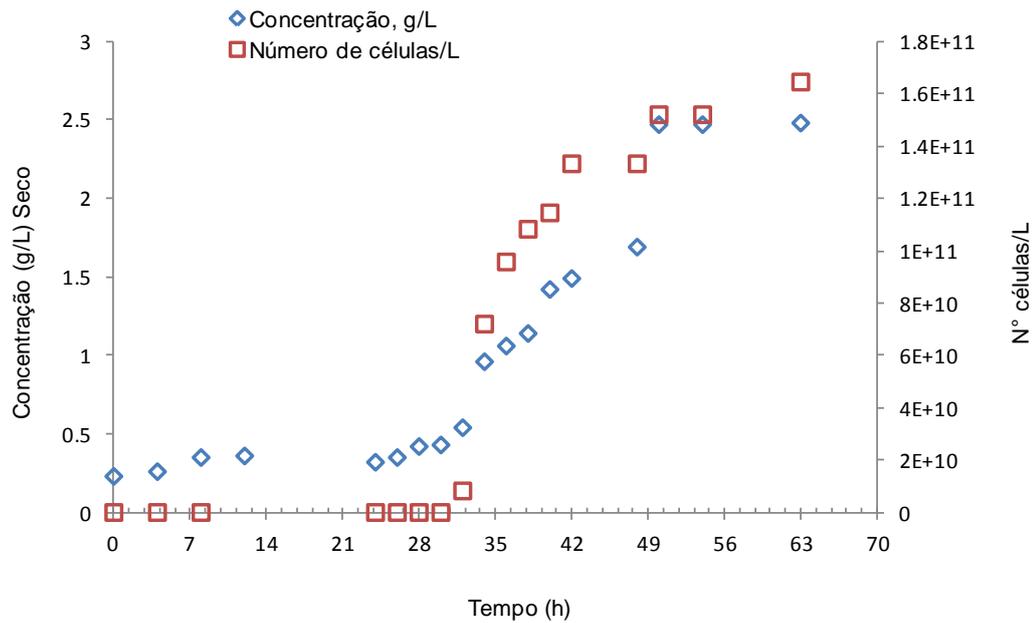


Figura 9 - Curva de crescimento da bactéria *R. opacus* em meio YMA a 28 °C e 250 rpm.

A curva de crescimento de *R. opacus* mostrada na Figura 9, em função do peso seco e do número de células, confirma que a fase exponencial de crescimento tem início após aproximadamente 33 h. Após 60 h, a bactéria *R. opacus* atinge a concentração máxima e se inicia a fase estacionária. O resultado encontrado está de acordo com literatura. Mesquita (2000) levantou a curva de crescimento para *R. opacus* em meio mineral, constando o início da fase de crescimento exponencial após 20 h. Embora, o meio utilizado por este autor seja diferente, a bactéria apresentou uma curva de crescimento similar.

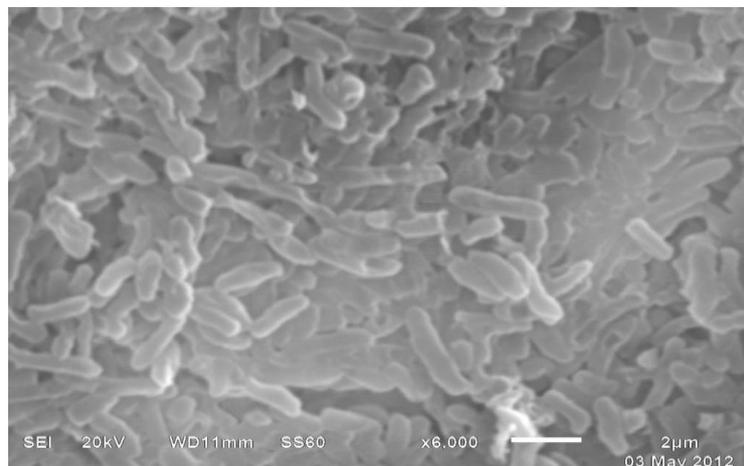


Figura 10- Micrografia da bactéria *R. opacus* após 48 h de crescimento.

A Figura 10 apresenta a micrografia do microrganismo obtida através da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), a bactéria apresentou formato de bastonete (alongada) na grande maioria das células apresentadas e um tamanho médio de 2 μm , resultados similares foram encontrados nos trabalhos de Mesquita (2000) e Botero (2007).

4.2.2.

Caracterização e identificação dos grupos funcionais do biorreagente

A caracterização da parede celular bacteriana desempenha um papel significativo na adesão microbiana sobre substratos minerais, pois é necessário conhecer os componentes da parede celular a fim de aproveitar eficientemente suas propriedades na interação microrganismo-superfície mineral (Sarvamangala & Natarajan 2011). Assim, a caracterização físico-química da célula microbiana é essencial para compreender e controlar o processo de beneficiamento biomineral.

Sendo o *R. opacus* um microrganismo pertencente ao grupo de bactérias Gram positivas, é de esperar que os principais constituintes presentes na parede celular sejam o peptidoglicano (40-90%) e polímeros aniônicos (Hancock, 1991).

Botero (2007), em seus estudos de bioadsorção, realizou um análise bioquímica da bactéria *R. opacus* com o intuito de determinar o material presente na parede celular. Os resultados desse trabalho são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Composição da parede celular do *R. opacus* (Botero, 2007).

Material	Concentração (g/L)	Composição (%)
Proteínas	0,16	2,85
Carboidratos	0,61	10,54
Lipídios	1,92	33,33
Suspensão celular	11,52	

Segundo Alves *et al.*, (2004), os lipídeos estariam associados com os ácidos micólicos da bactéria *R. opacus*. Estes ácidos sintetizados por bactérias do grupo *Corynebacterium-Mycobacterium-Nocardia* (CMN), ao qual pertence à espécie *R. opacus* constituem um importante componente da parede celular

(Sneath et al., 1986; Madigan *et al.*, 1997) e são os responsáveis pela hidrofobicidade apresentada por estes microrganismo (Bendinger *et al.*, 1993; Neu & Porolla, 1998).

A espectroscopia no infravermelho tem sido extensamente usada na caracterização de células bacterianas de relevância na área de biobeneficiamento mineral. Segundo Parker (1971) e Sharma (2001), o espectro de infravermelho da bactéria exibe as bandas atribuídas aos grupos funcionais presentes na célula, que por sua vez, interagem com a superfície mineral. A Tabela 10 apresenta as faixas de absorvância e os grupos funcionais correspondentes para cada banda.

Tabela 10- Faixas de absorvância e grupos funcionais características da bactéria, (Sharma, 2001).

Numero de onda (cm ⁻¹)	Grupos funcionais Correspondentes
3020-2800	Hidrocarbonetos, tipo alquila
2959, 2934 e 2875	Grupo CH ₃ , estiramento assimétrico, estiramento simétrico da ligação CH ₂
Faixa próxima a 3298 e faixa no 3072	estiramento assimétrico, estiramento simétrico do NH ₂
Faixa entre 1750 e 1620	C=O
Comportamento de faixa intensa a 1655	Grupo amina
Faixa próxima a 1700	Grupo C=O
1682	Grupos NH ₂ das amidas primárias ou – NH ₃ de ácidos das amidas
Faixas entre 1452 e 1390	CH ₃ e CH ₂
1236	CH ₃ modo vibracional
1080	Modo -CH ₃ rotação e CH ₂ modo vibracional

A Figura 11 apresenta os espectros de infravermelho da parede da bactéria *R. opacus* e os comprimentos de onda identificados como os mais intensas.

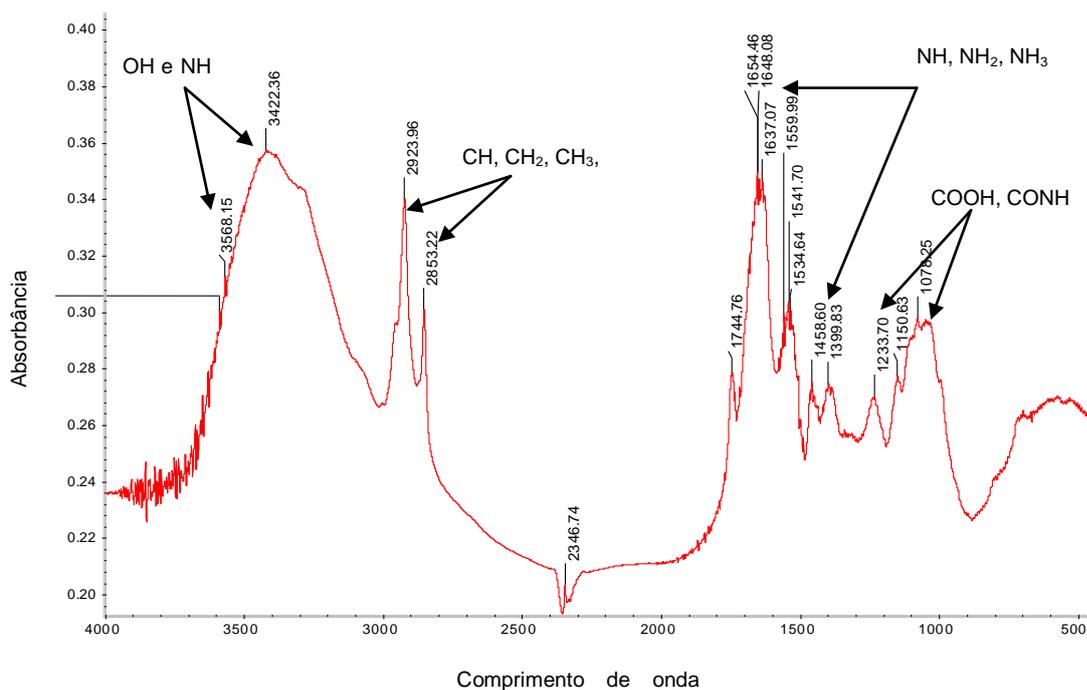


Figura 11- Espectro de infravermelho de *Rhodococcus opacus* e bandas de absorvância.

O espectro do Infravermelho da biomassa *R. opacus* mostrou diferentes bandas de absorção. Na Figura 11 pode-se observar uma banda característica de ácidos graxos entre 2924 e 2853 cm^{-1} designada para grupos de CH, CH₂, CH₃, uma faixa de proteínas entre 1650 e 1401 cm^{-1} assinada por grupos NH, NH₂, NH₃, e a região de polissacarídeos entre 1237 e 1074 caracterizadas por grupos funcionais COOH e CONH (Schmitt & Flemming, 1998). As bandas compreendidas entre 3400 e 3450 estão relacionadas às vibrações dos grupos hidroxila (combinação de OH e NH) (Deo & Natarajan, 1997).

Estes grupos funcionais são característicos desta bactéria (Parker, 1971) e, segundo o espectro de infravermelho mostrado estão presentes na composição da parede do biorreagente estudado.

4.2.3. Medidas de potencial zeta do microrganismo

Para uma maior seletividade na separação por flotação de minerais valiosos, é importante identificar a carga dos minerais e do microrganismo na solução aquosa. Assim foram realizadas medições de potencial zeta, usando NaCl como eletrólito indiferente (em três concentrações diferentes).

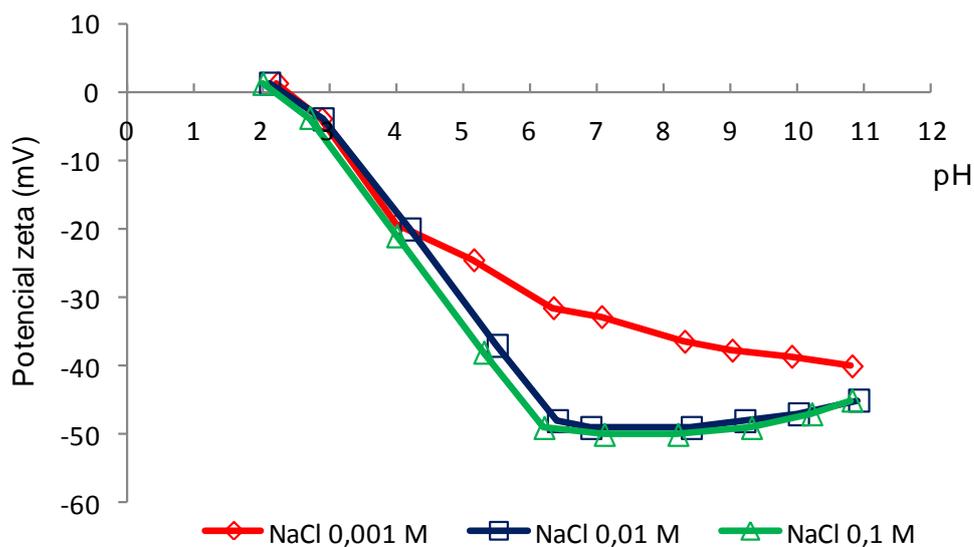


Figura 12 - Potencial zeta da bactéria *R. opacus* em função do pH.

A Figura 12 mostra a curva de potencial zeta da bactéria *R. opacus* para diferentes concentrações de NaCl em função do pH. O microrganismo apresenta uma carga negativa na faixa de pH de 3,0 e 11,0. O PIE (ponto isoelétrico) do microrganismo foi definido em pH 2,42 para todas as concentrações de eletrólito avaliadas, indicando que NaCl é um eletrólito indiferente. Estes valores são próximos aos encontrados por Bueno (2007).

Rijnaarts *et al.* (1995) usou o PIE como um indicador para identificar a presença de alguns polímeros ou outros grupos funcionais na superfície celular. Assim, células com PIE maior que 2,2 mas; menor u igual a 2,8 resultam da predominância dos ácidos glucônicos ou outros polissacarídeos associados ao grupo carboxílico (James, 1991).

Segundo, Van der Wal *et al.* (1997) e Mozes *et al.* (1989) os microrganismos com PIE abaixo do pH 4,0 poderiam estar relacionados ao balanço entre grupos ácido/base e cargas aniônicas e catiônicas além da adsorção específica de íons.

Então sugire-se, baseado no espectro de infravermelho e no potencial zeta, que é considerável a predominância de grupos aniônicos na parede celular do *R. opacus*, como também de polissacarídeos com grupos fosfato e carboxila associados com as proteínas, e também de carboidratos e lipídeos como

apresentado na Tabela 10 e estes conferem uma carga negativa em quase em toda a faixa de pH analisada.

Deve-se lembrar, que esta propriedade (valores de potencial zeta negativo deste microrganismo) vem sendo já aproveitada em muitos trabalhos de pesquisa relacionados à bioadsorção e flotação de íons metálicos, tais como, Straton *et al.* (2002); Medina (2007) e Basurco (2008).

4.3. Caracterização do sistema microrganismo-mineral

4.3.1. Estudos de potencial zeta

As determinações de potencial zeta das partículas minerais analisadas neste trabalho levaram a obter uma melhor compreensão na maioria dos aspectos fundamentais dos mecanismos de adsorção do bioreagente na superfície dos minerais.

As Figuras 13 e 14 comparam as curvas de potencial zeta da cassiterita e quartzo antes e após adição de *R. opacus* respectivamente.

Das figuras, pode-se observar que, os PIE da cassiterita e quartzo é 5,8 e 2,8 respectivamente. Estes resultados são próximos aos encontrados na literatura, como os obtidos por Kruusing (2008). Comparando a curvas de potencial zeta do microrganismo e dos minerais é possível identificar prováveis janelas de interação entre a bactéria-superfície mineral. Assim, no caso da cassiterita é possível uma interação de caráter eletrostática entre o PIE do *R. opacus* (2,4) e o PIE da cassiterita (5,9). Nesta faixa de pH, a bactéria apresenta carga negativa na superfície e o mineral tem carga positiva, favorecendo uma provável adesão à célula bacteriana.

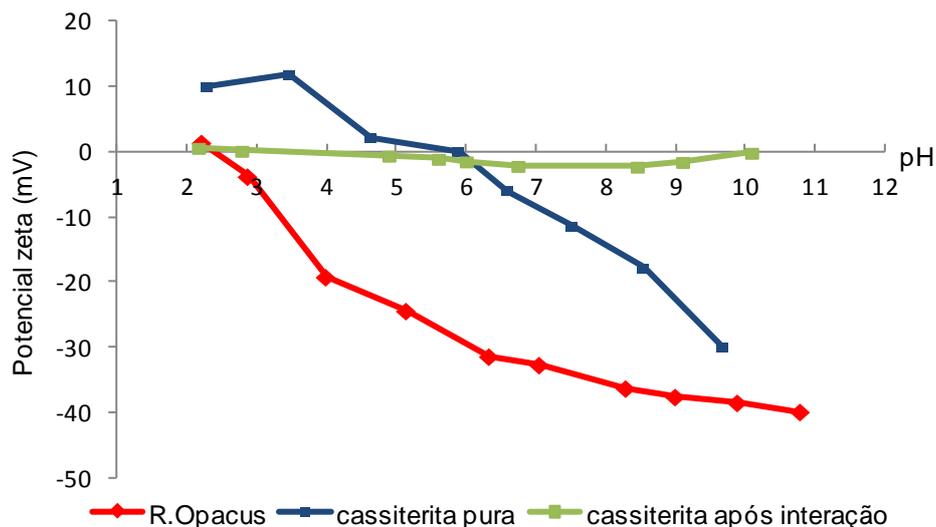


Figura 13 - Potencial zeta da cassiterita em comparação ao potencial medido após o acondicionamento com *R. opacus* em função do pH.

No caso do quartzo esta provável janela de interação não é identificada já que ambos apresentam valores semelhantes de PIE (2,8). Assim as possíveis interações de caráter eletrostático, neste caso, foram descartadas.

Após as interações com o microrganismo, observou-se mudanças nos perfis das curvas de potencial zeta de ambos os minerais. No caso da cassiterita, a mudança leva a valores de carga de superfície próximos à neutralidade como mostra a Figura 13, indicando um possível efeito coagulante do microrganismo nos finos de cassiterita.

O potencial zeta é um indicador útil, que pode ser usado para prever a estabilidade de suspensões (dispersão de partículas finas), potencial zeta elevados implica uma maior estabilidade da dispersão, contrariamente valores baixos podem indicar instabilidade que pode levar à agregação (Fuerstenaud & Pradip, 2005).

Assim, o possível efeito coagulante do microrganismo *R. Opacus* pode ser apropriadamente usado, na agregação de partículas minerais finas, facilitando a posterior separação pela técnica de flotação.

Fenômenos de biocoagulação foram já reportados na literatura. Kuyumcu *et al.* (2009) mostraram, através de ensaios experimentais a efetiva coagulação de

microrganismos tais como *Saccharomyces cerevisiae* e *Yarrowia lipolytica* com finos de esfalerita e galena ($< 10 \mu\text{m}$). Posteriormente estes minerais foram separados usando a técnica de flotação.

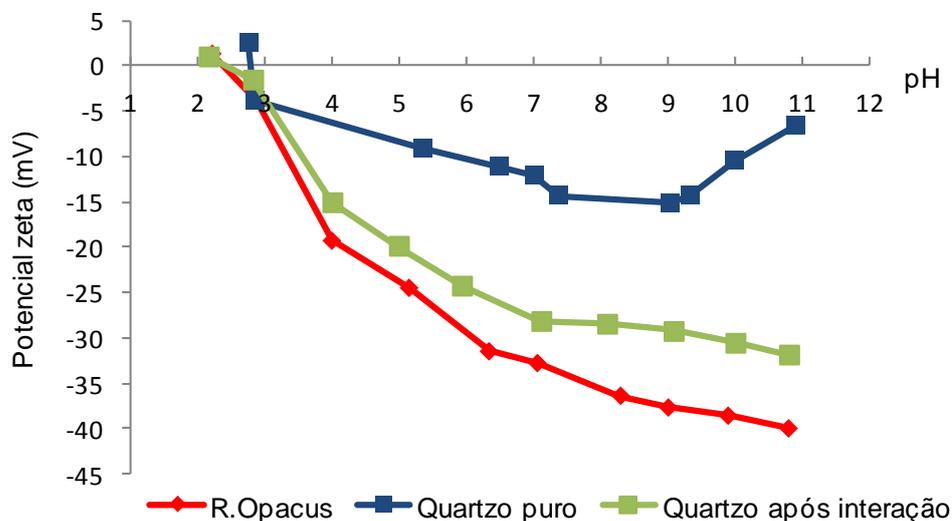


Figura 14- Potencial zeta do quartzo em comparação ao potencial medido após o acondicionamento com R. opacus em função do pH.

4.3.2.

Efeito Análises por espectroscopia no Infravermelho

Análises de infravermelho dos minerais antes e após a interação com o microrganismo são apresentadas nas Figuras 15 e 16. Todos os espectros mostram similares bandas de absorção. Porém, as intensidades são diferentes. No caso da cassiterita pura (Figura 15), de acordo com a literatura faixas de absorvância de 533 cm^{-1} e 648 cm^{-1} representam a ligação Sn-O, (Castro-Grijalba *et al.*, 2011). As faixas de absorvância próximas a 3400 cm^{-1} e 1640 cm^{-1} são associadas a moléculas de água.

Analisando o espectrograma do quartzo puro (Figura 16) encontramos bandas de adsorção característicos de silicatos, alumino-silicatos, e materiais do tipo argila centrada em torno das faixas de absorvâncias 1100 cm^{-1} e 500 cm^{-1} (Nicolet 6700 FTIR- Software).

Comparando os espectros para cassiterita, antes e após a interação com o microrganismo, observa-se algumas modificações. Assim, a Figura 15 mostra

bandas de 3460 cm^{-1} correlacionados com grupos hidroxila (OH) (Botero, 2007). Estes grupos poderiam estar associados a os compostos presentes na parede celular das bactérias e interagindo com a superfície do mineral, não deveria ser descartado o aporte de umidade do KBr durante o ensaio de FTIR. Na mesma figura nota-se variações nas bandas 1600 cm^{-1} e 1034 cm^{-1} correspondentes aos grupos amida e COOH, CONH respectivamente.

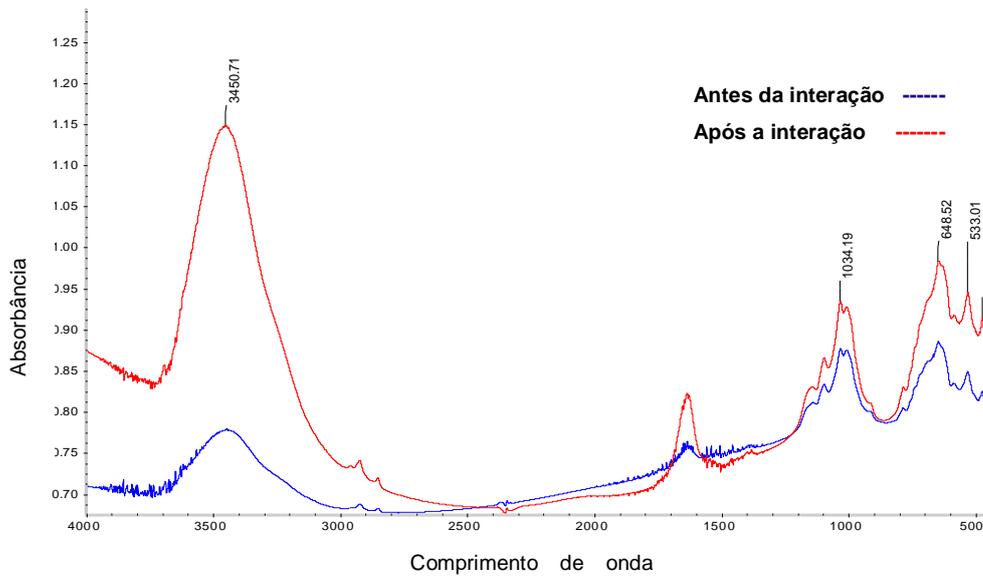


Figura 15- Espectrograma de infravermelho para a cassiterita.

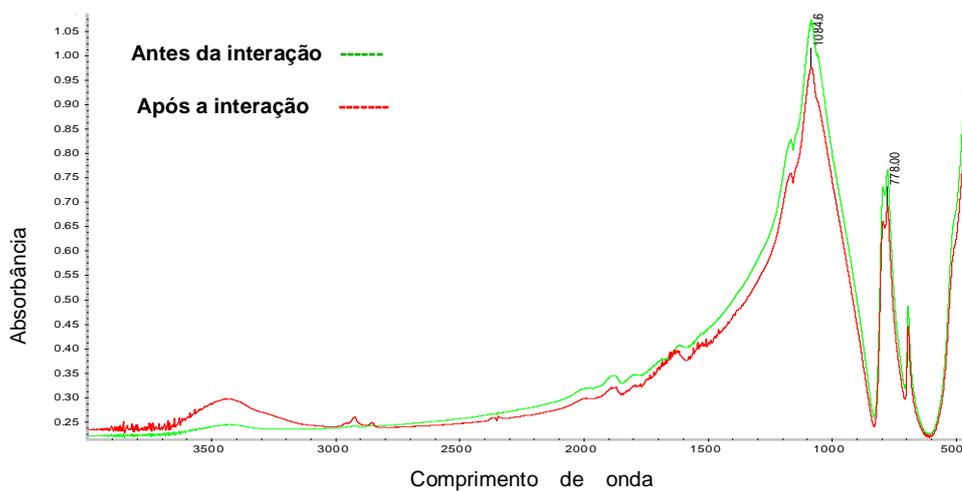


Figura 16- Espectrograma de infravermelho para o quartzo.

O espectro de infravermelho para o quartzo apresenta uma pequena modificação após interação com a bactéria. Sendo observadas as bandas de absorvância de 3422 cm^{-1} e 1034 cm^{-1} correspondente aos grupos hidroxila (OH) e amina (NH, NH₂ e NH₃), o que também foi observado por Botero (2007), na interação *R.opacus* -magnesita.

Finalmente, dos espectros de infravermelho obtidos para ambos os minerais (antes e após interação), os principais grupos funcionais interagindo, na cassiterita seriam os grupos hidroxila, COOH e CONH e amina. No quartzo, só grupo hidroxila foi identificado. Neste ponto deve-se aclarar que os ensaios foram qualitativos não sendo possível uma estimativa quantitativa da interação dos mencionados grupos funcionais.

4.3.3. Medições de ângulos de contato

O efeito da interação das células de *R. opacus* nos valores de ângulo de contato das superfícies de cassiterita e quartzo foram estudados em função do pH. Os resultados estão apresentados na Figura 17.

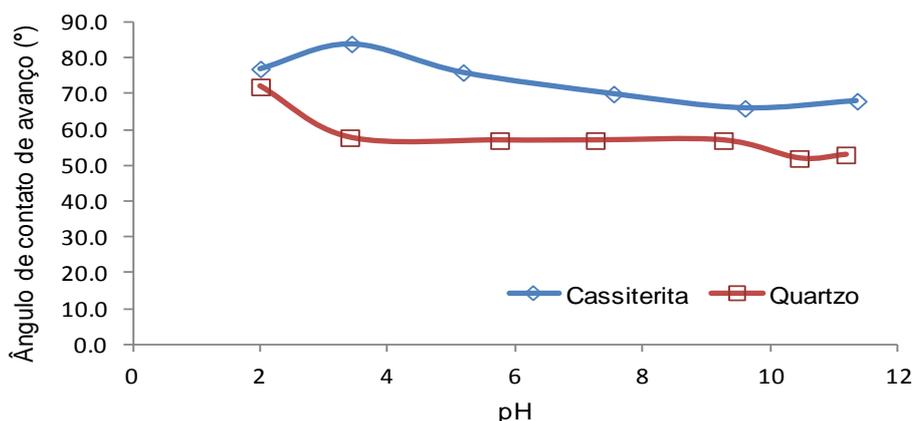


Figura 17- Medidas de ângulo de contato de avanço para cassiterita e quartzo, em função do pH, após interação com células de *R. opacus* na concentração de 600 mg/L. tempo de contato, 10 min.

Antes da interação com o microrganismo, as superfícies da cassiterita e do quartzo apresentaram-se totalmente hidrofílicas com valores de ângulo de contato iguais a zero. Após a interação, pode ser verificado um caráter hidrofóbico em ambos minerais sendo os valores máximos de 84,1° para cassiterita e 72° para quartzo em pH 3,43 e 2,26, demonstrando uma maior interação entre as células microbianas e a amostra mineral nesta faixa de pH.

Podemos notar também que, para as partículas de cassiterita, nos valores de pH superiores a 4,0 a medida do ângulos de contato diminuem. Já no caso do quartzo estes valores se mantiveram quase constantes. Assim nos ensaios posteriores, para a avaliação da concentração inicial de microrganismo, o pH foi fixado em 3.

As variações nos valores de ângulo de contato de minerais após a interação com microrganismos já foram reportadas na literatura, alguns resultados são apresentados na tabela 11.

Tabela 11 - Condições empregadas na determinação do tempo de equilíbrio

Sistema	Máximo valor	Método	Condições	Referência
<i>Y.Lipolytica</i> -quartzo	38°	Ascensão capilar	pH 2, 10 ⁸ cells/L	Kuyumcu <i>et al</i> , (2009)
<i>R.opacus</i> -quartzo	20°	Bolha cativa	pH 3, 600 mg/L	Mesquita, (2000)
<i>M.Phleii</i> -hematita	45°	Gota séssil	pH 7, 40 mg/L	Dubel <i>et al</i> . (1992)
<i>M.Phleii</i> -dolomita	70°	Bolha cativa	pH 5, 350 mg/L	Misra <i>et al</i> , (1993)

Na Figura 18 é apresentado o efeito da concentração de *R. opacus* nos valores do ângulo de contato dos minerais, em pH constante igual a 3,0. Observa-se uma dependência da hidrofobicidade com a concentração de células microbianas. Assim, para ambos os minerais, os maiores ângulos de contato foram obtidos quando concentrações de microrganismos foi de 400 mg/L, após esta concentração o valor de ângulo de contato é constante, indicando um

provável máximo de interação entre as células microbianas e as partículas minerais em estudo.

Os resultados obtidos indicam uma considerável interação entre as células de *R. opacus* e as amostras de ambos os minerais, sendo maior no caso da cassiterita. Esse resultado é concordante com valores observados nos experimentos de potencial zeta e espectros de infravermelho, que já foram discutidos anteriormente.

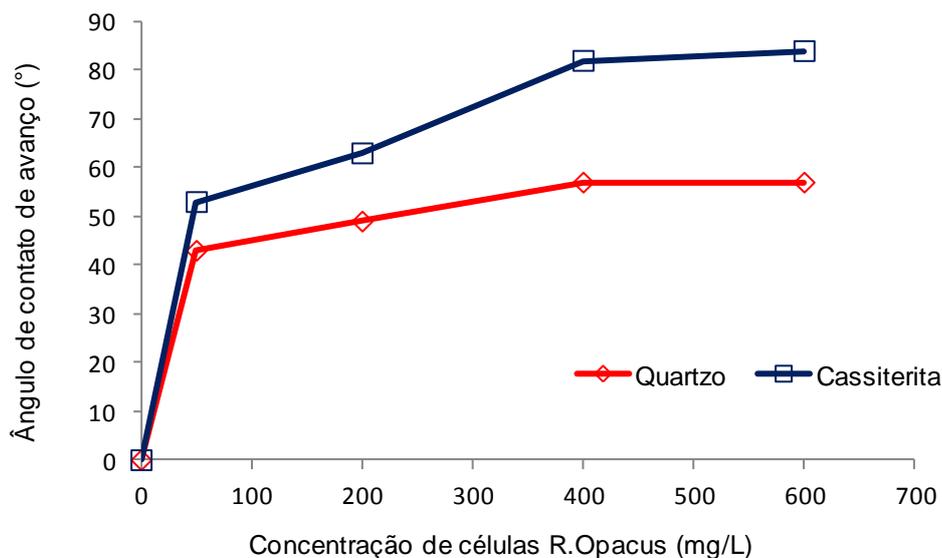


Figura 18- Medidas de ângulo de contato de avanço para cassiterita e quartzo em função da concentração de células *R. opacus*, pH 3,0; tempo de contato 10 min.

4.4. Determinação do tamanho de bolhas

O tamanho médio de bolha gerados na eletroflotação foi determinado empregando o método de difração laser. Os parâmetros avaliados foram: pH da solução, densidade de corrente e concentração inicial de bactéria. Neste trabalho, foi medido o tamanho médio de bolha de ambas as bolhas de oxigênio e hidrogênio sem distinção.

4.4.1. Influencia do pH da solução na produção e tamanho de bolha

O efeito do pH da solução sobre o diâmetro médio da bolha produzida na eletroflotação é apresentada na Figura 19 (a) e (b). Este diâmetro médio (47 μm) tem quase os mesmos valores em toda a faixa de pH analisada (2,5 a 10,5).

Segundo o apresentado na equação 14 (página 30), a presença de NaCl na solução e o meio alcalino favorecem a produção de H_2 e Cl_2 gasoso. Assim, é esperado que as condições mais alcalinas favorecessem a geração de bolhas hidrogênio e cloro, formado no cátodo (Jiménez *et al.* 2010).. Deve-se lembrar de que o numero total de bolhas por centímetro cúbico reportadas neste trabalho refere-se a bolhas de H_2 , O_2 e Cl_2 .

O real efeito do pH da solução sobre o tamanho médio da bolha poderia estar mascarado devido à presença de NaCl.

Segundo, Venkatachalam *et al* (1992); Bem Mansour *et al* (2007); Montes-Atenas *et al* (2010), pequenas bolhas de hidrogênio são obtidas em meio neutro ou fracamente alcalino, e bolhas de oxigênio de menor diâmetro são obtidas em meio pouco ácido e crescem com o aumento do valor do pH. Venkatachalam *et al* (1992) reportou que em meio alcalino as bolhas de hidrogênio são de aproximadamente 20 μm , enquanto que as bolhas de oxigênio podem ser de até 200 μm .

Deve-se lembrar de que neste trabalho, foram realizadas as medições de bolhas de oxigênio e hidrogênio misturadas num mesmo reator, pelo método de difração laser; sendo difícil comparar os resultados obtidos no presente texto com trabalhos anteriores.

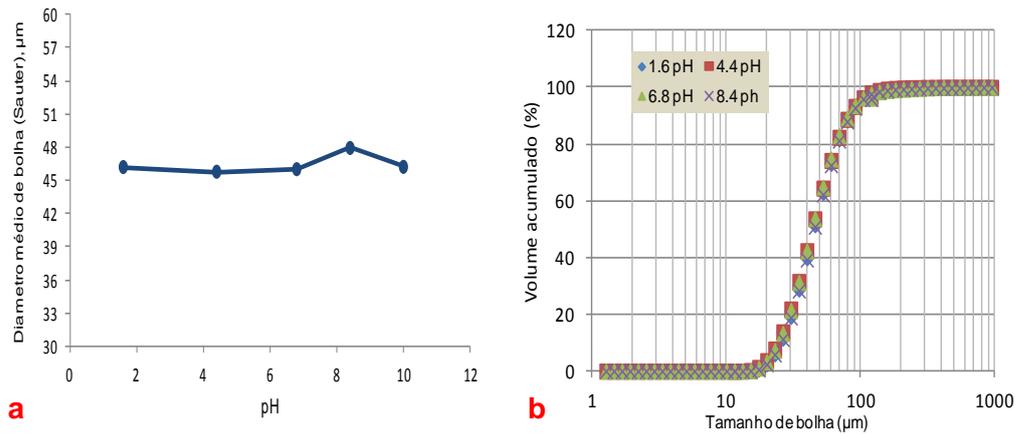


Figura 19- Efeito do pH da solução no diâmetro médio (Sauter) de bolha gerada eletroliticamente (a) e (b) distribuição de tamanho de bolhas. (Sem presença de microorganismo).

O efeito do pH da solução na produção de bolhas (quantidade de bolhas geradas) é apresentada na Figura 20. Esta figura mostra que um aumento no pH da solução provoca a geração de um maior número de bolhas. Após o pH 8,0, a taxa de geração é constante. Este incremento em número de bolhas produzidas deveria levar, conseqüentemente, um aumento na eficiência de flotação.

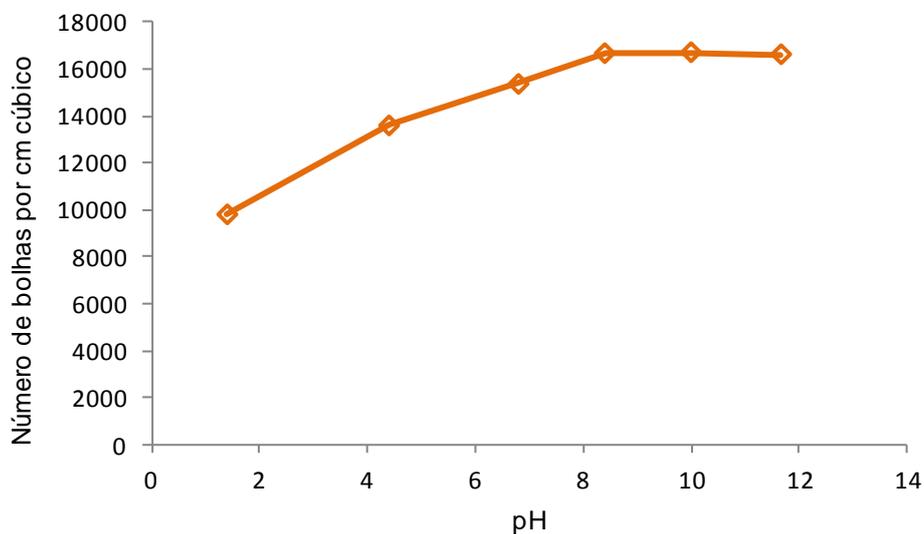


Figura 20- Efeito do pH da solução na produção de bolhas geradas eletroliticamente, $\rho = 61,7 \text{ mA/cm}^2$. $d(3,2)$.

4.4.2.

Influencia da densidade de corrente na produção e tamanho de bolha

Nas Figuras 21a; 21b e 22 são apresentadas as medições de tamanho médio; distribuição de tamanho e produção de bolhas em função da densidade de corrente (24.7- 93 mA/cm²). Estes ensaios foram realizados a pH natural (em torno de 7) devido, como já reportado no item anterior, a pouca influencia do pH na diâmetro médio de bolha e a facilidade na operação quando usado o pH natural. Na Figura 21 é possível identificar uma dinâmica muito variável na faixa de corrente analisada. Porém, é observado também que um incremento na densidade de corrente produz uma tendência a diminuir o tamanho médio da bolha.

Estudos realizados por Ketkar *et al.* (1991) mostraram que os diâmetros das bolhas de hidrogênio e oxigênio diminuíram com o aumento da densidade da corrente utilizando diferentes eletrodos, o que é concordante com a teoria da nucleação e crescimento de uma nova fase sobre um eletrodo (Walsh & Herron, 1991), pois a medida que a densidade de corrente aumenta é criado maiores pontos de nucleação e, conseqüentemente, bolhas mais finas são obtidas.

Jiménez *et al.*, (2010) justificaram o fato de obter bolhas finas (de hidrogênio) com o aumento da densidade de corrente, devido ao que em pH 2,0-3,0 as bolhas apresentarem carga negativa, já que estas bolhas são formadas no cátodo (também, carregado negativamente) logo, as forças de repulsão serão maiores, e com isto favorecem o desprendimento de bolhas geradas na superfície do eletrodo.

Para densidade de corrente inferiores a 100 mA/cm², segundo dados da literatura, a transferência de massa é a etapa controladora do crescimento de bolhas (uma porção do gás dissolvido é transferido para a bolha e resto é difundido para o seio da solução (Lumanauw, 2000).

É necessário mencionar que as medições só foram realizadas adequadamente para densidades de corrente na faixa de 24,7 - 93 mA/cm², devido à limitação desta técnica com respeito à concentração de bolhas (limite de obscuridão 10-20%).

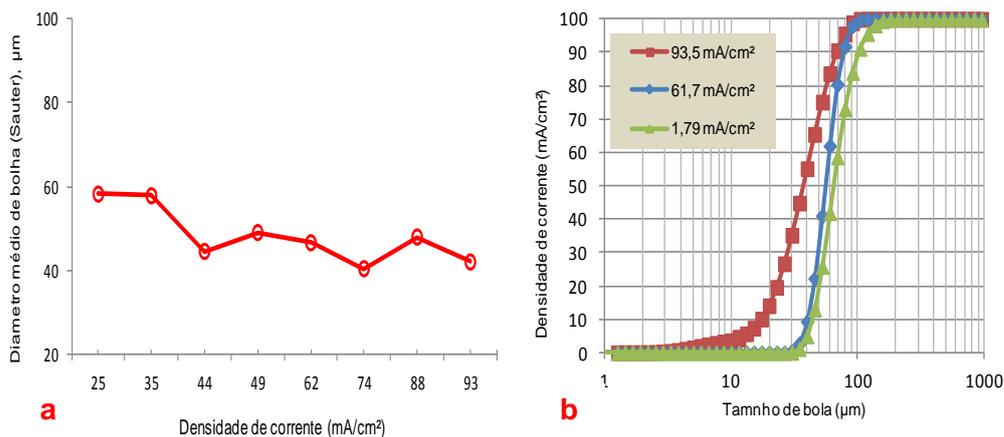


Figura 21- Efeito da densidade de corrente a) no diâmetro médio de bolha gerada pela técnica de eletroflotação. pH = 7; b) distribuição de tamanho de bolhas.

Observando a Figura 22, nota-se que, o aumento na densidade de corrente promoveu um incremento na produção de bolhas. Isso pode ser perfeitamente explicado segundo a equação 15 (página 36), a corrente aplicada é diretamente proporcional à taxa ideal de geração de gás.

O aumento na densidade de corrente encontra-se diretamente relacionado com a diminuição de tamanho médio das bolhas e aumento na produção das mesmas. Esta variável estaria diretamente relacionada à eficiência do processo. Porém, o consumo de corrente e os custos totais do processo podem ser diretamente afetados.

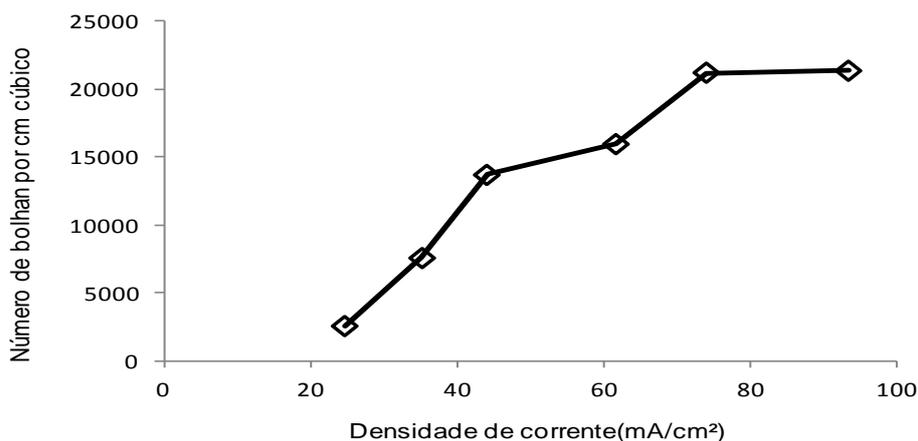


Figura 22- Efeito da densidade de corrente na produção de bolhas geradas (N° bolhas. cm-3 eletroliticamente, pH = 7.0 e diâmetro médio = d (3,2).

4.4.3. Influencia da concentração de *R. opacus* no tamanho de bolha

A Tabela 12 mostra o efeito da concentração de bactéria na tensão superficial da água. Nota-se que a tensão superficial da solução com bactéria diminuiu de modo gradual até chegar na concentração de 800 mg/L, após a qual, atinge-se um valor constante.

Tabela 12 Efeito da concentração de bactéria na tensão superficial de soluções aquosas

Concentração de bactéria (mg/L)	Tensão Superficial (10^{-3} N/m)
0	71,3
50	70,9
100	68,7
200	67,8
400	66,3
600	64,3
800	62,7
1000	62,7

Como mostrado na Figura 23 a adição da bactéria *R.opacus* em concentrações de 0 a 200 mg/L, ocasionou uma redução significativa no tamanho médio de bolha, não refletindo com a mesma intensidade na tensão interfacial ar-água. Na ausência de *R. opacus* foram formadas bolhas de 45 μ m, enquanto que para concentrações de 200 mg/L, o tamanho de bolha diminuiu substancialmente até 16 μ m.

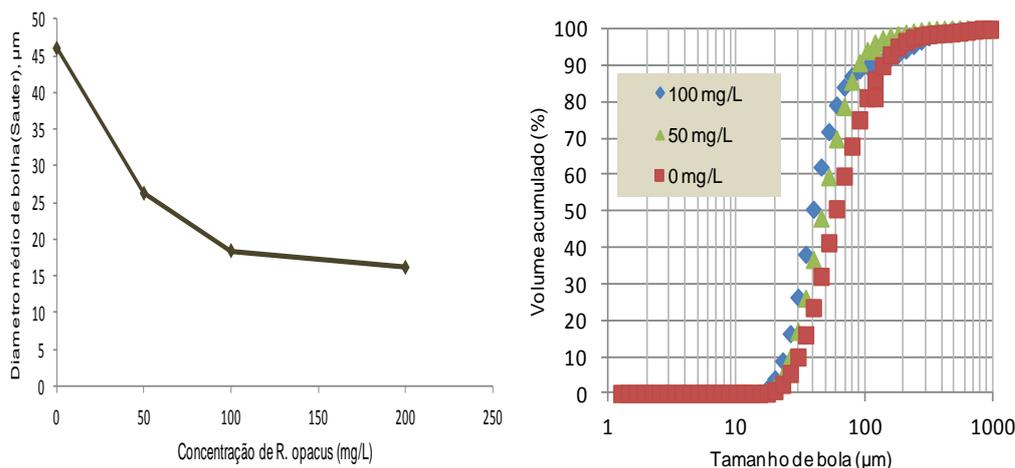


Figura 23- Efeito da concentração de bactéria: a) no diâmetro médio de bolha gerada pela técnica de eletroflotação, b) distribuição de tamanho de bolhas.

Estes resultados parecem estar em concordância com a convicção de que, a diminuição do tamanho de bolha, produzido pelo aumento da concentração de tensoativo, se deva a diminuição da tensão superficial (Aldrich & Feng, 2000).

Por outro lado Cho & Laskowski (2000) verificaram que, a coalescência das bolhas em um sistema dinâmico pode ser prevenida trabalhando uma concentração de espumante acima da concentração de coalescência crítica (CCC).

A capacidade de formação de uma espuma estável por parte do *R. opacus* foi verificada experimentalmente neste estudo (principalmente nos ensaios de eletroflotação), esta característica tem sido relacionada ao ácido micólico presente na parede celular.

Assim, segundo os resultados obtidos até agora, ficaram evidentes às propriedades tensoativas do microrganismo *R. opacus*, o qual poderia ser considerado como um potencial bioespumante.

4.5. Ensaio de adesão

Mediante os ensaios de adesão objetiva-se estabelecer, experimentalmente, a afinidade do microrganismo com os minerais testados. Assim, os parâmetros avaliados foram pH, concentração de células e tempo de adesão.

4.5.1. Estudos de efeito do pH

A Figura 24 apresenta o comportamento da adesão de *R. opacus* sobre a superfície da cassiterita em função do pH da solução. Pode-se observar a influência do pH, sendo que, os maiores valores de adesão são observados na faixa ácida de pH, entre 2,0 e 3,0.

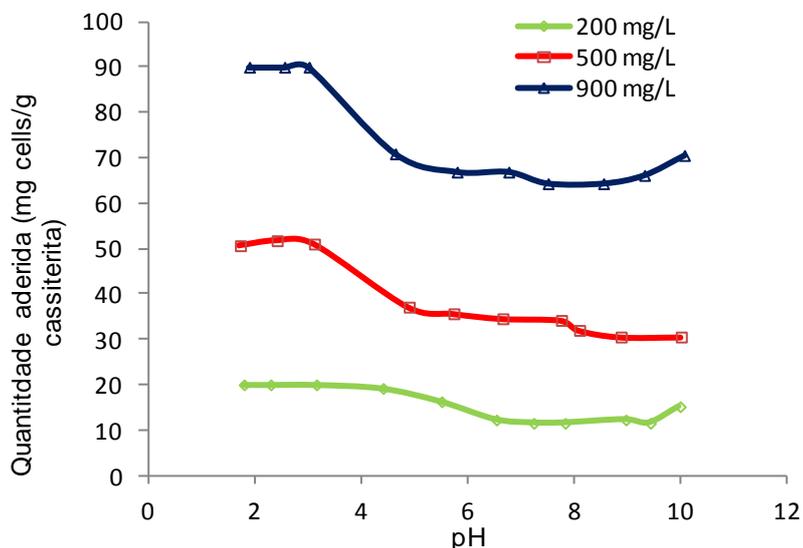


Figura 24 Curvas de adesão de *R. opacus* na cassiterita, em função do pH da solução. 0,1mM NaCl.

As quantidades máximas de adesão foram de 90 mg células secas/g de cassiterita para uma concentração celular inicial de 900 mg/L, 50 mg células/g de cassiterita para uma concentração inicial celular de 500 mg/L e 20 mg células secas/g de cassiterita para uma concentração inicial celular de 200 mg/L, correspondentes a um valor de pH próximo a 2,0. Nos valores de pH superiores a 4,0 a adesão mostrou-se independente do pH; porém, dependente da concentração celular inicial. Esta maior afinidade pela cassiterita nos valores de pH 2 e 3, é coerente com os resultados do potencial zeta pois nesta faixa a cassiterita apresenta a maior carga positiva, indicando adesão de caráter

eletrostático. Assim, no caso da cassiterita e na faixa de concentrações testadas, a saturação de microorganismo na superfície não foi observada.

Similar comportamento sob o efeito de pH e concentração inicial de células na adesão de *R. opacus* sobre partículas de hematita foi reportado por Mesquita, (2000).

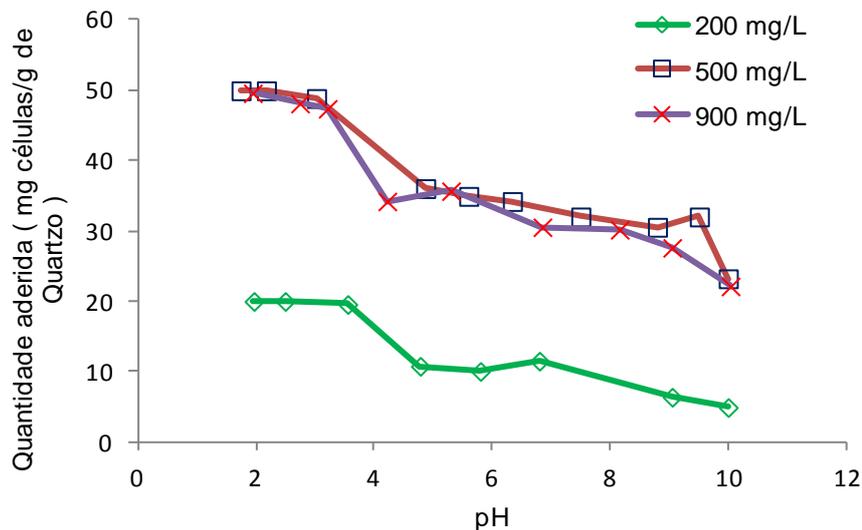


Figura 25- Curvas de adesão de *R. opacus* em quartzo, em função do pH da solução. 0,1mM NaCl.

Na Figura 25, é apresentada a adesão do microrganismo sobre a superfície do quartzo, observa-se que a adesão de células sobre a superfície de quartzo é dependente do valor de pH em toda a faixa testada. É observado comportamentos similares foi obtido para a cassiterita, já que as maiores adesões foram, também, entre pH 2,0 e 3,0 e com valores de potencial zeta perto a zero. A menor adesão foi observada, na concentração de 200 mg/L. Porém, comparando as concentrações de 500 e 900 mg/L, não foi detectado, em toda a faixa de pH, algum efeito da concentração celular. Isso poderia indicar a existência de um máximo de células capazes de se aderir na superfície do quartzo.

Fazendo uma breve comparação entre os dois minerais, encontram-se diferenças nas quantidades de células aderidas, observando-se valores superiores para as partículas de cassiterita. Porém, para ambos os minerais as maiores adesões ocorreram em meio ácido (pH entre 2,0 e 4,0).

Estes resultados mostraram interações em toda a faixa de pH analisada, podendo sugerir que tanto mecanismos físicos quanto químicos podem estar atuando na adesão das células de *R. opacus* em relação às partículas minerais analisadas.

4.5.2. Estudos do efeito do tempo de contato

Visando verificar a influência do tempo de interação na quantidade de células aderidas foram realizadas medições nos tempos 2 ; 5 ; 10; 15 ; 30 e 60 min. Os resultados desta análise são apresentados nas Figuras 26 e 27, respectivamente.

Podemos observar na Figura 26, no caso da cassiterita, que o equilíbrio é atingido quando a quantidade de células aderidas às partículas minerais tornou-se constante, isto foi constatado, após 5 minutos de interação.

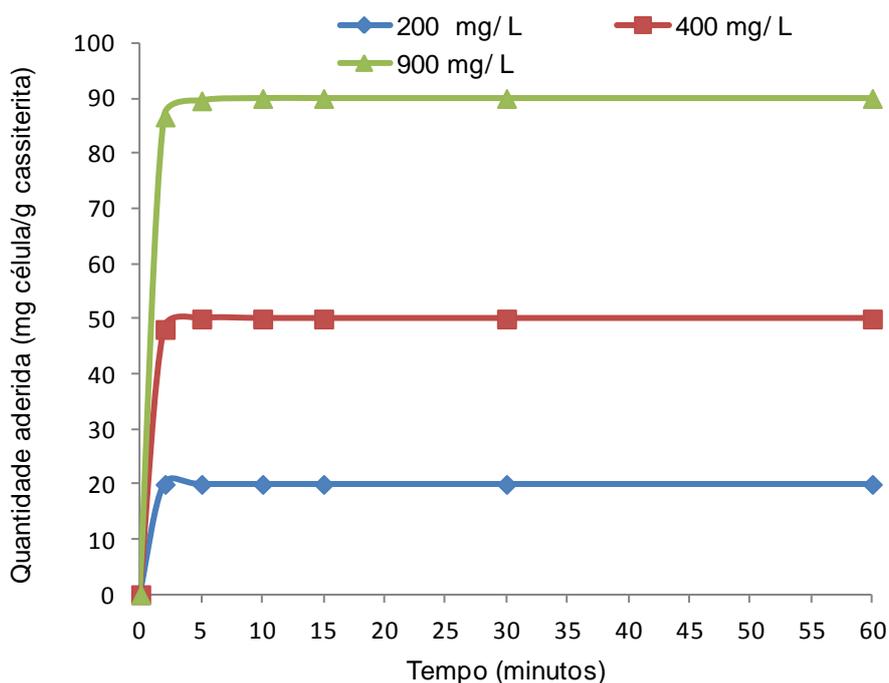


Figura 26 – Curvas de adesão de *R. opacus* em cassiterita, em função do tempo de interação. 0,1mM NaCl, pH 3,0.

Na Figura 27 observa-se um tempo similar ao da cassiterita para se atingir o equilíbrio na adesão entre a bactéria e o quartzo. Porém, quando a concentração

inicial foi de 200 mg/ L, o tempo de adesão aumentou para um valor de 10 min. Pode-se concluir que os tempos requeridos para atingir o equilíbrio são dependentes da concentração inicial, contudo, o tempo é relativamente curto, sendo que para concentrações superiores a 200 mg/ L o equilíbrio pode ser atingido nos primeiros 5 min.

Tempos relativamente curtos de adsorção para partículas finas (menores de 20 μm) já foram reportados no trabalho de Bhaskar & Khangaonkar (1984). Tal acontecimento poderia estar relacionado à maior energia superficial das partículas neste tamanho de partícula mineral.

Outros autores estudaram a cinética de adsorção de células sobre superfícies minerais. Farahat *et al.* (2010) encontraram afinidade de *Ferroplasma acidiphilum* pela superfície da pirita. Estes autores reportaram que a adsorção atingiu saturação após 10 min.

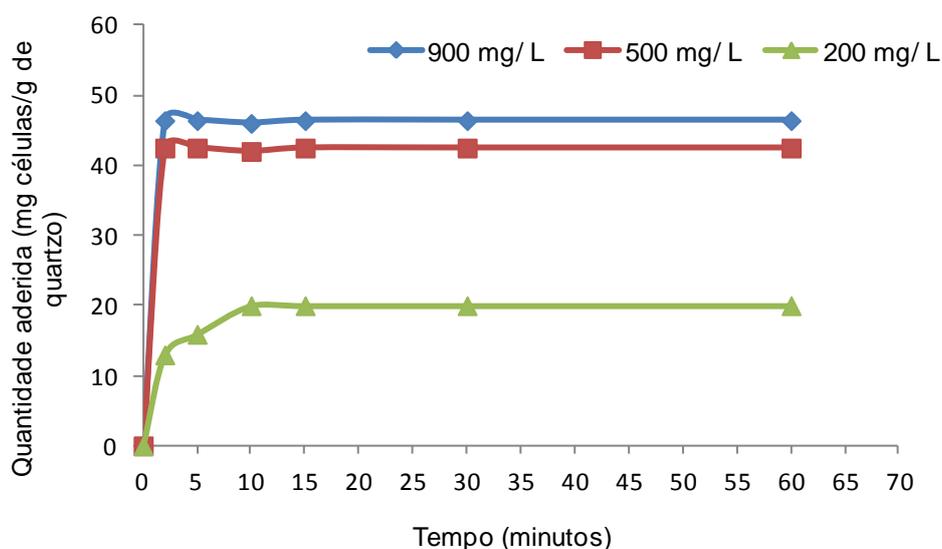


Figura 27 - Curvas de adesão de *R. opacus* em quartzo, em função do tempo de interação. 0,1mM NaCl, pH 3,0.

4.5.3. Microfotografias dos minerais através de MEV

São apresentadas nas Figuras 28 e 29 as microfotografias dos minerais, cassiterita e quartzo antes e após a interação com a bactéria *R. opacus*, obtidas através de microscopia eletrônica de varredura.

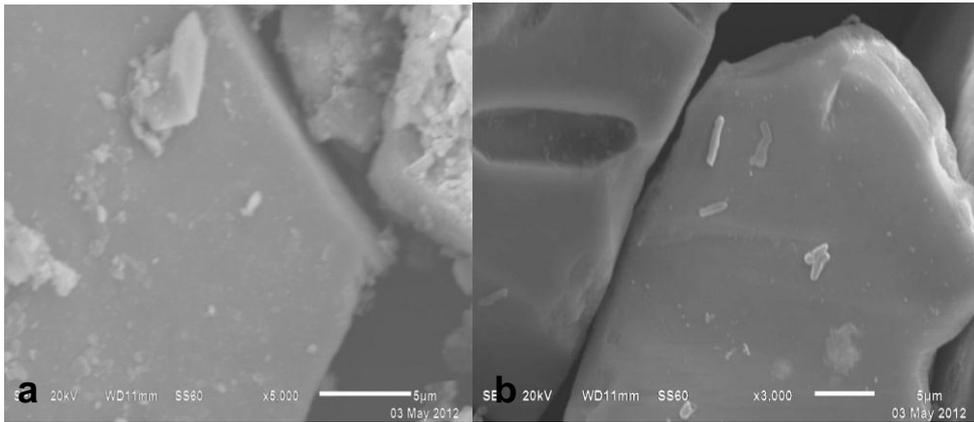


Figura 28 – Micrografias do microscópio eletrônico de varredura da cassiterita (a) Cassiterita antes interação e (b) após interação. Concentração inicial, 200 ppm, pH 7, tempo de contato 5 minutos.

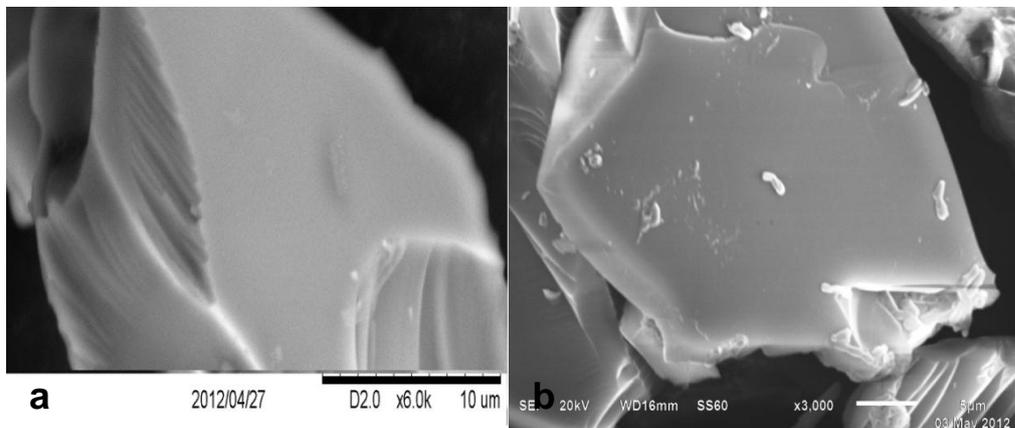


Figura 29 - Micrografias do microscópio eletrônico de varredura do quartzo (a) Quartzo antes interação e (b) após interação Concentração inicial, 200 mg/ L, pH 7, tempo de contato 5 min.

As micrografias indicam a adsorção das células de *R. opacus* sobre as superfícies minerais. A pouca adsorção observada nas duas imagens, é devido, possivelmente, ao tratamento prévio realizadas nas amostras (fixação, desidratação e metalização) (Mota, 2009) e aos parâmetros sob as quais foram realizadas estas micrografias Assim, não foi possível realizar comparações quantitativas.

4.6. Ensaio de eletroflotação

4.6.1. Efeito do pH

A determinação do efeito do pH da solução é de vital importância nos processos de flotação de minerais e particularmente na eletroflotação. Assim, foi apresentado o efeito do pH na adesão microorganismo-mineral, na geração, produção e tamanho de bolha, conseqüentemente tornou-se necessário a avaliação deste parâmetro na eletroflotação de cassiterita e quartzo.

Na Figura 30 observamos a influência do pH na flotabilidade do quartzo e da cassiterita. No caso da cassiterita, pode-se destacar uma maior flotabilidade em pH 5,0 com valores próximos a 60% . Para valores de pH em torno de 2,0 a flotabilidade foi cerca de 40% e cerca de 50% para valores de pH entre 8,0 e 11,0. A maior flotabilidade é próxima aos valores de PIE do mineral (5,8). Segundo Fuerstenau & Pradip (2005) a maior flotabilidade das partículas minerais (próxima a 100 %) é obtida, quando o PIE (ponto isoelétrico) é atingido.

Nota-se que a maior flotabilidade não é coincidente com o máximo valor de ângulo de contato, de 84° em pH 3,0; (sendo que a pH 5 o valor de ângulo foi em torno de 77°) indicando que a hidrofobicidade das partículas de cassiterita não é o único fator diretamente relacionado à flotabilidade. Assim, deve-se considerar, também, a influencia da carga superficial e número de bolhas como possíveis fatores afetando a eficiência da flotação.

Por outro lado, o quartzo não apresenta mudanças consideráveis quando o valor do pH da solução varia. Assim, a flotabilidade conseguida para este mineral foi aproximadamente 25 % em toda a faixa de pH analisada (2-12). Estes resultados diferem consideravelmente dos obtidos por Mesquita (2000), na qual é reportado flotabilidade em torno de 3% em quase toda a faixa de pH (6-11). Estas diferenças (maior flotabilidade na eletroflotação) poderiam se explicadas com relação à maior reatividade das bolhas de hidrogênio/oxigênio produzidas na eletroflotação. Monte-Atenas & Mermillod-Blondin (2006) reportaram que uma das maiores vantagens dos gases obtidos eletroliticamente é a maior reatividade, sendo que alguns minerais poderem flotar facilmente na ausência de coletores.

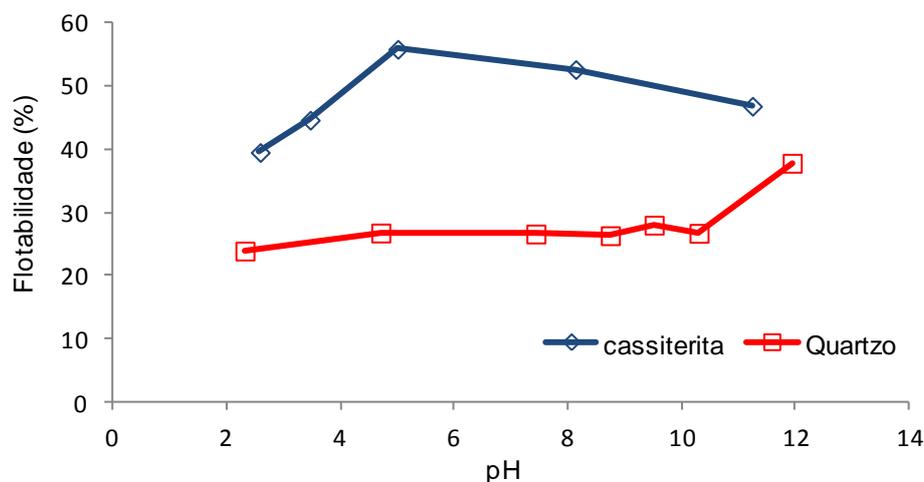


Figura 30 - Curvas de flotabilidade de cassiterita e quartzo, para diferentes valores de pH. $\rho = 57.1 \text{ mA/cm}^2$. [R. opacus] = 500 mg/ L, tempo de 5 min.

4.6.2. Efeito da densidade de corrente

A densidade de corrente é o parâmetro mais importante nos processos de eletrolises galvanoestáticas, conseqüentemente, é um parâmetro significativo na eletroflotação.

Na Figura 31 pode-se notar uma crescente flotabilidade das partículas minerais (cassiterita e quartzo) com o aumento da densidade de corrente.

Essa dependência da densidade de corrente pode ser explicada pela maior produção de bolhas finas (40 μm) geradas à medida que a densidade de corrente é incrementada. Este resultado apresentou concordância com os anteriormente analisados. Resultados similares foram obtidos na flotação de finos de sílica e calcopirita por Bhaskar & Khangaonkar (1984) e Shahjahan *et al.* (2010).

Bhaskar & Khangaonkar. (1984) sugeriram que o aumento da flotabilidade com densidades de corrente maiores é devido ao maior número de bolha no sistema, e, conseqüentemente, a probabilidade de colisão é maior. Assim, foi reportado aumentos na recuperação de finos de calcopirita de 67% para 78,81%, quando a densidade de corrente foi incrementada de 56 mA/cm^2 para 223 mA/cm^2 .

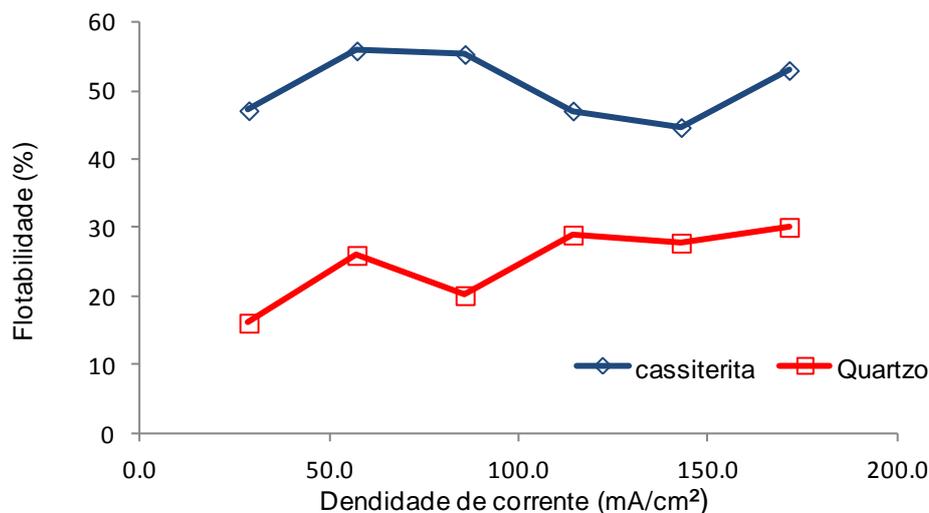


Figura 31 – Curvas de flotabilidade de cassiterita e quartzo, em função da densidade de corrente. pH = 5,0; [R. opacus] = 500 mg/L, tempo 5 min.

4.6.3. Efeito da concentração celular

A influência da concentração celular de *R. opacus* na flotabilidade dos minerais analisados esta relacionada na Figura 32. Conforme o resultado apresentado nesta figura, a flotabilidade depende da concentração celular empregada, especialmente para a cassiterita. Assim, foram observados valores de flotabilidade próximas a 65 % para cassiterita e 28 % para quartzo. No caso do quartzo, os valores mantiveram-se quase constantes. Além disso, nota-se a maior flotabilidade da cassiterita comparado com a flotabilidade do quartzo para todos os valores de concentração do microrganismo.

A melhor porcentagem da cassiterita foi atingida com uma concentração de bactéria de 50 mg/L, acima deste valor a porcentagem decresceu. Comportamentos similares na flotação de magnetita e hematita foram apresentado nos trabalhos de Botero (2007) e, Dubel *et al.* (1992) usando microrganismos. Para ambos os casos, foi sugerida a formação de flocos minerais de grande tamanho, os quais são dificilmente carregados pelas bolhas de gás. Neste trabalho, devido ao menor tamanho das bolhas geradas na eletroflotação, o mesmo fenômeno poderia estar acontecendo.

Os resultados sugerem uma concentração crítica, (< 100 mg/L) do *R. opacus* após a qual não foi observado um efeito na flotabilidade dos finos de cassiterita.

Uma crescente quantidade de espuma foi observada na medida em que foi usada uma maior concentração de microrganismo. Este comportamento característico do gênero *Rhodococcus* foi atribuído à presença de ácidos micólicos na parede celular. Porém, no trabalho de Stratton *et al.* (2002) sugeriu-se que os ácidos micólicos podem não ser o único fator que contribui na hidrofobicidade na superfície celular (CSH) ou na capacidade de formação de espuma.

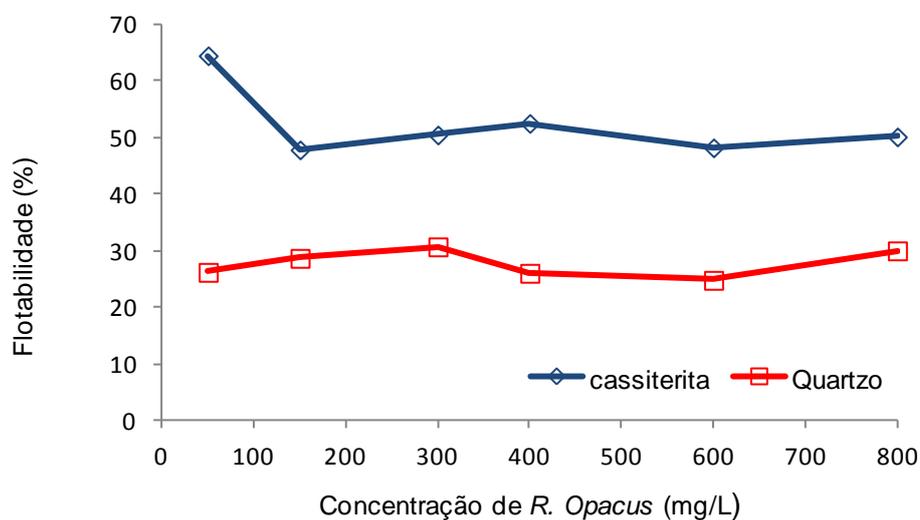


Figura 32- Curvas de flotabilidade de cassiterita e quartzo, em função da concentração de *R. opacus*. pH = 5,0 cassiterita pH = 7 para quartzo. $\rho = 57,1$ mA/cm², tempo de 5 min.

Fazendo uma comparação com recente trabalho de Quin Wen-Quing *et al.* (2012a) na eletroflotação de finos de cassiterita (< 10 μ m), usando bolhas de hidrogênio e oleato de sódio como coletor foram conseguidas recuperações de 80 % sob as melhores condições de operação (10 mg/L oleato de sódio e pH 8,0). Estas diferenças devem-se principalmente as diferentes condições e reagentes usados no processo. Já no trabalho de Quin Wen-Quing *et al.* (2012b) na eletroflotação de cassiterita utilizando uma mistura de coletores tributílicofosfato e ácido salicílico-hidroxâmico, recuperações próximas de 62 % foram alcançadas.

4.7.

Ensaio de separação do sistema cassiterita-quartzo

Ensaio de seletividade entre a cassiterita e o quartzo foram realizados em função do pH. Assim, foi preparada uma mistura sintética de 1:1 (massa) de cassiterita e quartzo (46,9 % SnO_2), com uma concentração celular de 50 mg/L e densidade de corrente de 57.1 mA/cm². Este valor de densidade de corrente foi selecionado devido ao menor arraste mecânico/ hidrodinâmico, quando operado com este valor (apêndice 5). Os resultados são apresentados na Figura 33. Nesta figura pode ser observado que a maior recuperação de cassiterita foi obtida a pH 5,0 sendo próximo de 68 % e o teor alcançado foi de 57,0 %. Segundo estes resultados a flotação direta de cassiterita é viável usando a bactéria *R.opacus* como biorreagente e a eletroflotação como processo de separação.

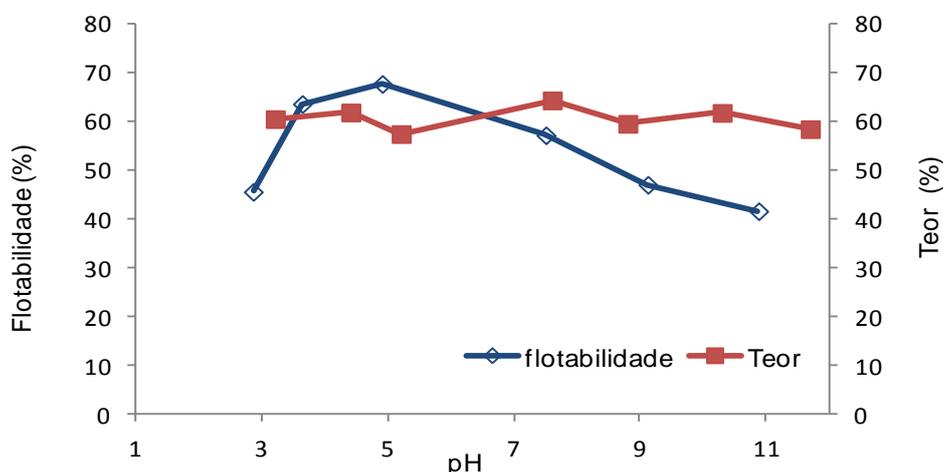


Figura 33- Curvas de flotabilidade e teor de concentrado, em uma mistura sintética 1:1 de cassiterita-quartzo, usando *R. opacus* como biorreagente, $\rho = 57,1$ mA/cm², tempo de 5 min. [*R. opacus*] = 50 mg/L.

Resultados similares são apresentadas no trabalho de Wu & Zhu (2006) usando ácido benzohidroxâmico como coletor na recuperação seletiva de cassiterita, a partir de uma mistura quartzo-cassiterita (1:1, contendo 48,9 % de SnO_2), por ensaios de microflotação. Estes autores reportaram recuperações de 85.5% com um teor de concentrado de 85% de SnO_2 .

Os resultados obtidos neste trabalho servem como indicativo da possibilidade de uso de *R. opacus* como um potencial bioreagente na flotação de cassiterita e outros minerais, pois soma-se este trabalho a outros, cujos resultados

foram igualmente alentadores, tais como na flotação de hematita (Mesquita, 2000), magnesita e calcita (Botero, 2007).