



Maurício Côrtes

**Morfologia de espumas de flotação usando
biorreagentes e seus produtos metabólicos**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos do Departamento de Engenharia Química e de Materiais da PUC-Rio.

Orientador: Prof. Maurício Leonardo Torem
Co-orientador: Dr. Ronald Rojas Hacha

Rio de Janeiro
Agosto de 2018



Maurício Côrtes

Morfologia de espumas de flotação usando biorreagentes e seus produtos metabólicos

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos do Departamento de Engenharia Química e de Materiais da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof. Maurício Leonardo Torem

Orientador

Departamento de Engenharia Química e de Materiais – PUC-Rio

Dr. Ronald Rojas Hacha

Co-orientador

Departamento de Engenharia Química e de Materiais – PUC-Rio

Prof. Hudson Jean Bianquini Couto

Centro de Tecnologia Mineral

Prof. Rodrigo Fernandes Magalhães de Souza

Departamento de Engenharia Química e de Materiais – PUC-Rio

Prof. Marcio da Silveira Carvalho

Coordenador Setorial do Centro Técnico Científico – PUC-Rio

Rio de Janeiro, 14 de Agosto de 2018

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

Maurício Côrtes

Graduou-se em Engenharia de Minas na Escola Politécnica da Universidade de São Paulo em 1979.

Ficha Catalográfica

Côrtes, Maurício

Morfologia de espumas de flotação usando biorreagentes e seus produtos metabólicos / Maurício Côrtes ; orientador: Maurício Leonardo Torem ; co-orientador: Ronald Rojas Hacha. – 2018.
153 f. : il. color. ; 30 cm

Dissertação (mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Engenharia Química e de Materiais, 2018.
Inclui bibliografia

1. Engenharia de Materiais – Teses. 2. Engenharia Química – Teses. 3. Bolhas. 4. Espumas. 5. Flotação. 6. Biorreagentes. 7. Rhodococcus opacus. I. Torem, Maurício Leonardo. II. Rojas Hacha, Ronald. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Engenharia Química e de Materiais. IV. Título.

.

CDD: 620.11

Para meus pais, Oldemoreno e Maria Conceição
(ambos *in memoriam*), pela vida, amor e educação,
para minha esposa Marta e minha filha Patrícia Helena
pelo amor, carinho e incentivo.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades e mostrar o caminho nas horas incertas.

Ao Professor Doutor Maurício Leonardo Torem, meu orientador, pela confiança, paciência e compreensão oferecidos durante a orientação.

Ao Doutor Ronald Rojas Hacha, meu co-orientador, pelo acompanhamento do trabalho, pela permanente disponibilidade, reveladas ao longo do trabalho, assim como pelas críticas, correções, sugestões, auxiliando em encontrar informações e soluções que em muito contribuíram para a execução desta dissertação.

Ao Professor Doutor Hudson Jean Bianchini Couto, pelo apoio prestado na realização do estudo de caracterização de bolhas com o *Bubble Sizer* bem como o Tensiômetro nos laboratórios do Centro de Tecnologia Mineral – CETEM / MCTIC.

Ao CETEM / MCTIC pela oportunidade e apoio para a realização deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa concedida durante a realização deste mestrado, o que contribuiu para a concretização desta dissertação.

Ao técnico Fabio Novaes e outros colaboradores do CETEM / MCTIC, pela ajuda prestada na utilização dos equipamentos e dispositivos.

Ao Departamento de Engenharia Química e de Materiais (DEQM) da PUC - Rio, seus professores, pesquisadores e funcionários, pela oportunidade de realização do curso, experiências trocadas, conhecimento transmitido, colaboração e incentivo.

Aos meus colegas de Mestrado, pela excelente relação pessoal que criamos e que espero que não se perca, pela ajuda e intercâmbio de idéias e informação para a elaboração deste trabalho, pelas informações prestadas, por toda a colaboração, apoio e amizade.

Resumo

Côrtes, Maurício; Torem, Mauricio Leonardo. **Morfologia de Espumas de Flotação usando Biorreagentes e seus Produtos Metabólicos**. Rio de Janeiro, 2018, 153 p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Engenharia Química e de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

A agitação mecânica ou a injeção do ar geram bolhas na célula de flotação, que são estabilizadas pelo uso de espumantes. Partículas hidrofóbicas se aderem às bolhas e em movimento ascensional chegam a superfície da célula formando a espuma mineralizada que sai da célula por transbordamento e/ou remoção mecânica. Espumas na flotação são de grande importância, principalmente com respeito ao tamanho de bolhas e sua estabilidade, bem como a mobilidade; fatores estes cruciais na viabilidade cinética do processo, na recuperação global e no teor do concentrado. Os espumantes, suas ações e propriedades têm sido estudados, entretanto durante os últimos anos a tecnologia de reagentes de flotação tem sofrido inovações e evoluções consideráveis. Como outros reagentes, os espumantes também foram influenciados pela biotecnologia, levando à introdução de uma nova classe de espumantes denominada "bioespumantes". As paredes celulares das bactérias produzem uma gama de proteínas e polissacarídeos, donde por procedimentos específicos se pode extrair biorreagentes que apresentam características surfatantes similares aos reagentes sintéticos. Apesar de vários estudos sobre espumantes, ainda existe uma grande lacuna relativa aos bioespumantes. Neste trabalho foi estudado a morfologia de espumas de flotação usando os bioespumantes produzidos pelas bactérias *Rhodococcus opacus* e seus produtos metabólicos. Os trabalhos visaram estudos de análise de tamanho de bolhas, altura de espuma, estabilidade e persistência de espuma, tensão superficial, velocidade ascensional da bolha, utilizando diferentes técnicas e equipamentos como Bubble Sizer (Anglo Platinum), Tensiômetro K10T (Kruss), Método de Bikerman. As variáveis avaliadas foram pH, concentração de espumante, vazão de ar e tempo.

Palavras-chave

Espumas; Flotação; Bolhas; Biorreagente; *Rhodococcus opacus*.

Abstract

Côrtes, Maurício; Torem, Mauricio Leonardo (Advisor). **The Morphology of Flotation Froths using Biosurfactants and its Metabolic Byproducts.** Rio de Janeiro, 2018, 153p. MSc. Dissertation – Departamento de Engenharia Química e de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

The mechanical agitation or air injection generate bubbles in the flotation cell; they are stabilized by the use of frothers. Hydrophobic particles adhere to the bubbles and by ascending movement reaches the surface of the cell forming the mineralized froth that leaves the cell by overflow and/or mechanical removal. The flotation froths are of great importance, especially with respect to the size of the bubbles and their stability, as well as mobility; these factors are crucial in the kinetics viability of the process, in the global recovery and in the grade of the concentrate. The frothers, their actions and properties have been studied, however during the last years the technology of flotation reagents has had important innovations and developments. Like other reagents, the frothers were also influenced by biotechnology, leading to the introduction of a new class of frothers called “biofrothers”. The bacteria in their cellular walls produce a range of proteins and polysaccharides, whence by specific procedures it can be removed bioreagents which feature surfactants characteristics similar to synthetic reagents used in flotation. Despite of several investigations on frothers, there is still a large gap in regard to biofrothers. On this work was studied the morphology of flotation froths using biosurfactants produced by the bacteria *Rhodococcus opacus* and their metabolic byproducts and the investigations focused on studies of analysis of bubbles size, height of foam, stability and persistence of foam, surface tension, superficial velocity of gas; using different techniques and equipment such as Bubble Sizer (Anglo Platinum), Tensiometer K10T (Krüss), Bikerman’s Method. The evaluated variables were solution pH, frother concentration, air flowrate and time.

Keywords

Froth; Flotation; Bubble; Biosurfactant; *Rhodococcus opacus*.

Sumário

1 Introdução	17
2 Justificativa e relevância do trabalho	19
3 Objetivos	20
3.1. Objetivo geral	20
3.2. Objetivos específicos	20
4 Revisão bibliográfica	21
4.1. Processo de flotação	21
4.2. Bolhas	23
4.2.1. Medição do Tamanho de Bolha	28
4.2.2. Velocidade superficial do gás	31
4.3. Espumas	33
4.3.1. Drenagem	35
4.3.2. Estabilidade da espuma	36
4.3.3. Tensão Superficial	41
4.3.4. Elasticidade da Espuma	46
4.4. Reagentes de flotação	48
4.5. Espumantes	49
4.5.1. Classificação dos espumantes	50
4.5.2. Classificação baseada na sensibilidade de pH	50
4.6. Micro-organismos	62
4.6.1. Classificação	63
4.6.2. Micro-organismos no beneficiamento mineral	65
4.7. <i>Rhodococcus opacus</i>	68
4.8. Espectrofotometria no infravermelho	72
5 Materiais e métodos	77
5.1. Reagentes	77
5.2. Cultura Bacteriana	78
5.3. Medição do tamanho de bolha	82

5.4. Velocidade superficial	84
5.5. Medição da tensão superficial	85
5.6. Medição dos principais parâmetros da espuma	86
5.6.1. Medição do volume de espuma	86
5.6.2. Medição do tempo de meia vida da espuma	88
5.6.3. Medição da quantidade de líquido na espuma	89
5.6.4. Medição da estabilidade da espuma	90
5.7. Espectrofotometria no infravermelho	91
6 Resultados e discussões	92
6.1. Diâmetro de bolha	92
6.1.1. Medição do diâmetro de bolha	92
6.2. Medição da velocidade superficial	102
6.3. Medição da tensão superficial	105
6.4. Volume de espuma	106
6.5. Medição do tempo de meia vida da espuma	109
6.6. Medição da quantidade de líquido na espuma	112
6.7. Medição da estabilidade da espuma	115
6.8. Espectroscopia no Infravermelho - FTIR da biomassa da Rhodococcus opacus	117
7 Conclusões	119
8 Referências bibliográficas	120
9 Anexos	129
9.1. Anexo 1 – Cultura de micro-organismos	129
9.1.1. Preparação do meio de cultivo	129
9.1.2. Propagação e crescimento das células bacterianas	130
9.1.3. Obtenção da biomassa	134
9.1.4. Extração do biossurfatante	136
9.2. Anexo 2 – Medição do diâmetro de bolhas	138
9.2.1. Uso do <i>Bubble Sizer</i> para obtenção de fotos de bolhas	138
9.2.2. Processamento de Imagens	140
9.3. Anexo 3 – Medição da velocidade superficial	150
9.4. Anexo 4 – Medição da tensão superficial	151

Lista de Figuras

Figura 1 – Esquema ilustrativo do processo de flotação (Adaptado de Hu, 2014).	22
Figura 2 – Representação de uma bolha de gás num líquido (Adaptado de Pugh, 2016).	24
Figura 3 – Diagrama esquemático do Bubble Sizer montado em uma célula de flotação	29
Figura 4 – Fotos de enxame de bolhas. [A] Foto Bruta, tirada com <i>Bubble Sizer</i> , [B] Foto Processada no <i>software ImageJ</i> .	30
Figura 5 – Segmento da lista de bolhas analisadas pelo <i>software ImageJ</i> .	30
Figura 6 – Estrutura da espuma ocorrendo durante a formação e drenagem em uma coluna (adaptado de Pugh, 2002).	34
Figura 7 – Bordas de Plateau (adaptado de Pugh, 2016).	34
Figura 8 – Fração de líquido na espuma (adaptado de Langevin, 2016).	36
Figura 9 – Ilustração do Efeito Marangoni exercido entre as moléculas dos espumantes (Adaptado de Veras, 2010).	38
Figura 10 – Diferença nas resultantes das forças de atração entre as moléculas do meio do líquido e da superfície (Daltin, 2011).	41
Figura 11 – Estrutura das moléculas na interface das fases e a função densidade (adaptado de Weser, 1980).	42
Figura 12 – Função densidade na região da interface (adaptado de Weser, 1980).	43
Figura 13 – Força atuante no anel em função da altura da lamela (adaptado de Weser, 1980)	44
Figura 14 – Imagens do Anel de du Noüy. [A] Vista da seção transversal (Weser, 1980), [B] Foto do anel, [C] Anel com líquido-lamela quando atingindo a máxima força.	45
Figura 15 – Vista da seção transversal do anel com as fases da medição. (Adaptado de Weser, 1980).	46
Figura 16 – Estrutura química dos principais componentes de fenóis.	51
Figura 17 – Estrutura química dos isômeros de xilenol.	52
Figura 18 – Estrutura química dos alquil sulfonatos (adaptado de Khoshdast & Sam, 2011).	53

Figura 19 – Estrutura química de dois espumantes básicos usados comercialmente	54
Figura 20 – Estrutura química dos álcoóis alifáticos.	55
Figura 21 – Estrutura química de diferentes componentes de álcoóis cíclicos e óleos naturais (adaptados de Bulatovic, 2007 e de Crozier, 1992).	59
Figura 22 – Estruturas químicas das duas principais alcóxi parafinas (adaptado de Bulatovic, 2007).	60
Figura 23 – Diferentes estruturas de espumantes poliglicóis esterés (Bulatovic, 2007).	61
Figura 24 – Estrutura química do polipropileno glicol (Bulatovic, 2007),	62
Figura 25 – Estrutura química dos poliglicol glicerol éteres (Bulatovic, 2007)..	62
Figura 26 – Fotos e desenhos esquemáticos das paredes celulares das bactérias (adaptado de Hacha, 2016): 1) membrana plasmática; 2) peptidoglicano; 3) proteínas; 4) fibrilas; 5) espaço periplásmico; 6) membrana externa.	64
Figura 27 – Comparação do biossurfatante e MIBC na redução da tensão superficial de água destilada (Khoshdast & Sam, 2011).	67
Figura 28 – Modelo de organização da envoltura celular da <i>Rhodococcus</i> (Sutcliffe et al., 2010): A) lipoproteína; B) lipoarabinomannan (LAM); C) lipídeos; D) porina; E) glicolipídeos; F) ácidos micólicos; G) arabinogalactana; H) peptidoglicano; I) membrana de lipídeos.	70
Figura 29 – Potencial Zeta de uma suspensão de <i>R. opacus</i> ; 0,1 mM NaCl (adaptado de Mesquita et al., 2003).	72
Figura 30 – Regiões do espectro eletromagnético (adaptado de Stuart, 1997).	72
Figura 31 – Regiões do espectro de radiação eletromagnética, com expansão da região do IR (adaptado de Derrick et al., 1999).	73
Figura 32 – Autoclave vertical CS Primatec.	78
Figura 33 – Colônia de Bactérias <i>Rhodococcus opacus</i> em placa de Petri	79
Figura 34 – Incubadora <i>shaker</i> oscilatória termocontrolada Cientec CT-712	80
Figura 35 – Centrífuga Cientec CT-5000. [A] Vista da centrífuga aberta; [B] Rotor com tubos de Falcon em número para equilibrar a centrífuga.	80
Figura 36 – Vidro de 1 L contendo biomassa.	81
Figura 37 – Dispositivo filtro de membrana e bomba de vácuo.	81
Figura 38 – Diagrama esquemático do Bubble Sizer montado sobre uma coluna de flotação de laboratório	83

Figura 39 – Montagem do Bubble Sizer com a Coluna de Acrílico.	83
Figura 40 – Reservatório do <i>Bubble Sizer</i> com escala em litros	84
Figura 41 – Tensiômetro K10T (Krüss).	85
Figura 42 – Célula de Bickerman	87
Figura 43 – Coluna de flotação em vidro com rotâmetro.	88
Figura 44 – Espectrofotômetro FTIR Thermo Scientific Nicolet 6700 FT-IR.	91
Figura 45 – Efeito do pH e da concentração de biomassa no diâmetro das bolhas, com Vazão de ar: 5 L/h	98
Figura 46 – Efeito do pH e da concentração de biomassa no diâmetro das bolhas, com Vazão de ar: 10 L/h	99
Figura 47 – Efeito do pH e da concentração de biomassa no diâmetro das bolhas, com Vazão de ar: 20 L/h	99
Figura 48 – Diâmetro das bolhas para as vazões de ar de 5, 10 e 20 L/h . Concentração de biomassa: [A] 0 mg/L; [B] 100 mg/L; [C] 200 mg/L; [D] 300 mg/L.	100
Figura 49 – Efeito da vazão de ar no diâmetro das bolhas. [A] pH da solução: 3; [B] pH da solução: 5; [C] pH da solução: 7; [D] pH da solução: 9.	101
Figura 50 – Efeito da concentração de biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 5 L/h.	103
Figura 51 – Efeito da concentração de biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 10 L/h.	103
Figura 52 – Efeito da concentração de biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 20 L/h.	103
Figura 53 – Efeito da vazão de ar na velocidade superficial. Concentração de biomassa: [A] 0 mg/L; [B] 100 mg/L; [C] 200 mg/L; [D] 300 mg/L.	104
Figura 54 – Tensão superficial de solução de biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i> .	106
Figura 55 – Efeito da concentração de biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 5 L/h.	107
Figura 56 – Efeito da concentração de biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 10 L/h.	108

Figura 57 – Efeito da concentração de biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 20 L/h.	108
Figura 58 – Efeito da concentração de biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> e pH da solução na meia vida da espuma, após 1 minuto com vazão de ar constante em 5 L/h.	110
Figura 59 – Efeito da concentração de biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> e pH da solução na meia vida da espuma, após 1 minuto com vazão de ar constante em 10 L/h.	110
Figura 60 – Efeito da concentração de biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> e pH da solução na meia vida da espuma, após 1 minuto com vazão de ar constante em 20 L/h.	110
Figura 61 – Conteúdo de líquido na espuma gerada por biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> , após 1 minuto com vazão de ar constante em 5 L/h.	113
Figura 62 – Conteúdo de líquido na espuma gerada por biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> , após 1 minuto com vazão de ar constante em 10 L/h.	113
Figura 63 – Conteúdo de líquido na espuma gerada por biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> , após 1 minuto com vazão de ar constante em 20 L/h.	114
Figura 64 – Quantidade de líquido entre bolhas.	114
Figura 65 – Efeito da concentração de biomassa <i>Rhodococcus opacus</i> na estabilidade da espuma com solução: [A] pH 3 ; [B] pH 5 ; [C] pH 7 ; [D] pH 9 .	116
Figura 66 – Espectro FTIR de absorbância da biomassa da <i>Rhodococcus opacus</i> .	118
Figura A1-1 – Colonia de Bactérias <i>Rhodococcus opacus</i> em placa de Petri	131
Figura A1-2 – Autoclave vertical CS Prismatec	132
Figura A1-3 – Incubador <i>shaker</i> oscilatório termocontrolado Cientec CT-712	133
Figura A1-4 – Centrífuga Cientec CT-5000. [A] Vista da centrífuga aberta; [B] Rotor com tubos de Falcon em número para equilibrar a centrífuga.	134
Figura A1-5 – Vidro de 1 L contendo biomassa.	135
Figura A1-6 – Dispositivo filtro de membrana e bomba de vácuo.	136
Figura A2-1 – Bubble Sizer montado com coluna de flotação de laboratório	138
Figura A2-2 – Compartimento da Câmera Fotográfica	139

Figura A2-3 – Foto tirada no <i>Bubble Sizer</i>	140
Figura A2-4 – Ícone Lupinha	141
Figura A2-5 – Ícone Linha elinha sobre a escala	141
Figura A2-6 – Definição de escala (<i>Analyse >> Set Scale</i>).	141
Figura A2-7 – Definição de escala (<i>Set Scale</i>)	142
Figura A2-8 – Demarcação da área a ser processada.	142
Figura A2-9 – Corte da área a ser processada (<i>Crop</i>).	143
Figura A2-10 – Área a ser processada	143
Figura A2-11 – Conversão da imagem para 8 <i>bit</i>	143
Figura A2-12 – Definição do filtro para processar a imagem (<i>FFT Bandpas Filter</i>).	144
Figura A2-13 – Imagem processada FFT	145
Figura A2- 14 – Ajuste dos limites das bolhas (<i>Adjust >> Threshold</i>).	145
Figura A2-15 – Imagem com os limites definidos.	146
Figura A2-16 – Processamento da imagem (<i>Fillholes</i>).	146
Figura A2-17 – Processamento da imagem (preenchimento da área das bolhas).	146
Figura A2-18 – Processamento da imagem (separação das bolhas).	147
Figura A2-19 – Imagem processada com bolhas separadas.	147
Figura A2-20 – Definição de tamanho e circularidade.	148
Figura A2-21 – Salvando imagem final processada.	148
Figura A2-22 – Lista das áreas bolhas numeradas.	149
Figura A2-23 – Salvando a imagem processada	149
Figura A4-1 – Tensiômetro K10T	151
Figura A4-2 – Botão B1 (travando balança)	151
Figura A4-3 – Botão <i>Run/Zero</i>	152
Figura A4-4 – Botão B2 (Ajuste da altura da plataforma).	152
Figura A4-5 – Botão B3 e <i>Display</i> Digital	152
Figura A4-6 – Botão B4 e Ponteiro vermelho de <i>Zero Adjustment</i>	152

Lista de tabelas

Tabela 1 – Classificação de espumantes baseados na sensibilidade ao pH	51
Tabela 2 – Principais grupos funcionais presentes na parede celular das bactérias	65
Tabela 3 – Micro-organismos no beneficiamento mineral	66
Tabela 4 – Classificação científica da espécie <i>Rhodococcus opacus</i>	69
Tabela 5 – Composição dos meios de cultura	79
Tabela 6 – Variáveis testadas nos ensaios de tamanho de bolhas.	84
Tabela 7 – Variáveis testadas nos ensaios de velocidade superficial.	85
Tabela 9 – Variáveis testadas nos ensaios de medição de volume:	87
Tabela 10 – Variáveis testadas nos ensaios de meia vida.	89
Tabela 11 – Variáveis testadas nos ensaios de conteúdo de líquido na espuma.	90
Tabela 13 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 5 L/h, pH 3 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	92
Tabela 14 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 10 L/h, pH 3 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	93
Tabela 15 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 20 L/h, pH 3 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	93
Tabela 16 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 5 L/h, pH 5 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	94
Tabela 17 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 10 L/h, pH 5 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	94
Tabela 18 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 20 L/h, pH 5 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	95
Tabela 19 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 5 L/h, pH 7 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	95
Tabela 20 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 10 L/h, pH 7 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	96
Tabela 21 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 20 L/h, pH 7 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	96
Tabela 22 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 5 L/h, pH 9 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	97

Tabela 23 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 10 L/h, pH 9 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	97
Tabela 24 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 20 L/h, pH 9 com biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i>	98
Tabela 26 – Velocidade superficial (mm/s) para bolhas produzidas por biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i> .	102
Tabela 28 – Volume de espuma (L) gerada por biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i> após 1 min. de aeração.	107
Tabela 29 – Meia vida da espuma (s) gerada por biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i> após 1 min. de aeração.	109
Tabela 30 – Quantidade de líquido na espuma (%) gerada por biomassa de <i>Rhodococcus opacus</i> após 1 min de aeração.	112
Tabela A1-1 – Composição dos meios de cultura	129
Tabela A4-1 – Tensão superficial da água pura em várias temperaturas	153

1 Introdução

A extração de um metal ou de um mineral é viabilizada pelo seu preço, podendo ter que passar por diversas etapas de processos de beneficiamento, para isto é necessário a cominuição do minério até um grau de liberação em que se possa efetuar a concentração desejada (Torem & Cerqueira, 2003). Existem diferentes métodos de processamento mineral, cada um aplicado a diferentes situações. Com a escassez de alguns minerais, as jazidas tem sido exploradas procurando-se minérios cada vez com menor teor do mineral de interesse, e minérios de maior dificuldade de concentração, sempre se procurando obter o mineral de interesse a um menor custo. Dentre os processos de concentração a flotação tem sido cada vez mais utilizada (Wills & Finch, 2016).

Flotação é um processo de natureza físico-química que utiliza as propriedades de superfície dos diferentes minerais que constituem o minério. Basicamente consiste em se alimentar uma polpa do minério em um tanque chamado célula de flotação, a esta polpa são adicionados produtos, coletores com a finalidade de promover a adsorção a minerais específicos, tornando-os hidrofóbicos, outros são tornados hidrofílicos com o uso de depressores, com pH controlado; a esta polpa também são adicionados produtos espumantes com a finalidade de promover a estabilidade das bolhas que são geradas pela introdução de ar na célula (Kelly & Spottiswood, 1982). Os minerais hidrofobizados irão aderir às bolhas de ar. Em movimento ascensional as bolhas irão formando as espumas mineralizadas que atingirão a superfície da célula de onde saem num fluxo superior por transbordamento ou remoção mecânica, os minerais hidrofílicos, saem da célula em um fluxo inferior (Chaves, 2006).

O papel dos espumantes no processo de flotação é de vital importância, pois eles irão determinar a estabilidade das espumas e o tamanho das bolhas geradas, controlando sua coalescência (Pugh, 2016).. Dentro do fluxo ascendente com as bolhas mineralizadas com partículas hidrofobizadas, permitindo uma drenagem de líquido tal que permita o fluxo descendente das partículas não hidrofobizadas aprisionadas entre as bolhas e uma espuma úmida suficiente com mobilidade tal que possa fluir para fora da célula e que também se quebre após a saída da célula.

Geralmente tem-se utilizado espumantes sintéticos, e muitas vezes é utilizado uma combinação de espumantes para se otimizar o processo (Khoshdast & Sam, 2011).

Com a mote de processos ambientalmente amigáveis, há interesse industrial em se dispor de biorreagentes. Nos últimos 20 anos, foram realizados vários estudos sobre espumantes e suas ações, mas existe uma lacuna no que tange aos bioespumantes.

Nos estudos desenvolvidos no Grupo de Tecnologia Mineral e Ambiental – GTMA do Departamento de Engenharia Química e de Materiais da PUC-Rio para obtenção de biorreagentes com a bactéria *Rhodococcus opacus* verificou-se que a bactéria e seus produtos metabólicos produzem grande quantidade de espuma.

Nesta dissertação foram realizados estudos da ação espumante das biomassas e biorreagentes oriundos de bactérias *Rhodococcus opacus* em flotação de minerais, foi investigado a morfologia das espumas visando:

- Análise de tamanho de bolhas;
- Altura de espuma;
- Estabilidade e elasticidade de espuma;
- Tensão superficial;
- Velocidade superficial da bolha;

2 Justificativa e relevância do trabalho

Pouco se tem estudado os bioespumantes e na busca de processos ambientalmente mais amigáveis há interesse industrial em se dispor de bioespumantes, pois as normas ambientais estão cada vez mais restritivas.

As bactérias *Rhodococcus opacus* são adequadas para bioespumantes pois a obtenção de biomassa e de biorreagentes são relativamente fáceis devido as suas características:

- Hidrofobicidade;
- Não patogênica;
- Produzem grande quantidade de espuma;
- Fácil aquisição nacional;
- Facilidade de manipulação, multiplicação e manutenção.

Apresentam potencial uso como espumante em substituição ou sinergia aos produtos químicos sintéticos de origem petroquímica atualmente utilizados.

As principais vantagens dos biossurfatantes sobre os seus concorrentes químicos são a baixa toxicidade, maior compatibilidade ao meio-ambiente, efetividade em ampla faixa de pH e temperatura.

3 Objetivos

Nos últimos 20 anos, foram realizados vários estudos sobre espumantes e suas ações, mas existe uma lacuna no que tange aos bioespumantes. Devido as normas ambientais cada vez mais restritivas e na busca de processos ambientalmente amigáveis, há interesse industrial em se dispor de biorreagentes e no caso de espumantes geralmente tem-se utilizado produtos sintéticos, e muitas vezes é utilizado uma combinação de espumantes para se otimizar o processo.

Nos estudos anteriores desenvolvidos no Grupo de Tecnologia Mineral e Ambiental – GTMA do Departamento de Engenharia Química e de Materiais da PUC-Rio para obtenção de biorreagentes com a bactéria *Rhodococcus opacus* verificou-se que a bactéria e seus produtos metabólicos produzem grande quantidade de espuma.

3.1. Objetivo geral

O presente trabalho tem o objetivo de investigar a ação espumante das biomassas e biorreagentes oriundos de bactérias *Rhodococcus opacus* em flotação de minerais,

3.2. Objetivos específicos

- ✓ Investigar a morfologia das espumas visando:
 - Análise de tamanho de bolhas;
 - Volume de espuma;
 - Estabilidade e elasticidade de espuma;
 - Tensão superficial;
 - Velocidade superficial da bolha;
 - Quantidade de líquido na espuma.

4 Revisão bibliográfica

4.1. Processo de flotação

Flotação em espuma, ou simplesmente flotação, é um processo de separação aplicado a partículas sólidas que explora as diferenças das características de superfície entre as várias espécies presentes (Peres & Araujo, 2006).

A flotação em espuma tem sido usada há mais de 100 anos, seu desenvolvimento ocasionou um profundo efeito na indústria mineral (Fuerstenau et al., 2007). Além disso a flotação tem sido aplicada em outras áreas como descoloração na reciclagem de papéis e no tratamento de águas efluentes.

Um processo descrevendo uma mistura de minério de metal sulfetado britado com óleo que flutuou após ser agitado em água foi patenteado por William Haynes em 1860, é considerado como sendo o primeiro registro de uso potencial das propriedades de superfície para separação de minerais (Ives, 1984)

O processo de flotação não foi comercializado até 1877, quando os irmãos Bessel usaram para beneficiar minério de grafite. Posteriormente desenvolvimentos do processo foram feitos na Austrália entre 1900 e 1910, e a flotação em espuma foi primeiramente introduzida nos Estados Unidos para recuperar cobre de seu minério sulfetado em 1911. Melhorias foram constantemente feitas ao processo e a produção de cobre por flotação cresceu rapidamente a partir de 1950. Logo em seguida, a aplicação de flotação em espuma foi estendida para tratamento de fosfatos e minério de ferro (Fuerstenau et al., 2007). Pelo final do século vinte, perto de 2 bilhões de toneladas de minério estavam sendo tratadas por técnicas de flotação (Fuerstenau, 1999). Somente na produção mundial de cobre, a flotação é responsável por aproximadamente 80% do cobre produzido (Davenport et al., 2002), que totalizou 19.5 milhões de toneladas em 2016 (US Geological Survey, 2017).

A seletividade do processo de flotação é baseada no fato de que as superfícies de diferentes espécies de materiais sólidos podem apresentar distintos graus de hidrofobicidade. O conceito de hidrofobicidade de uma

partícula está associado à sua umectabilidade ou “molhabilidade” pela água. Partículas mais hidrofóbicas são menos ávidas por água. O conceito oposto à hidrofobicidade é designado como hidrofilicidade (Peres & Araujo, 2006).

Hoje, a flotação em espuma é amplamente usada para concentrar óxidos, fosfato, e especialmente minerais sulfetados (Lynch et al., 1981). O minério é moído em partículas finas de tipicamente 10 a 100 μm de diâmetro antes de ser intrtroduzido no processo de flotação. Os sulfetos podem ser hidrofobizados pelo recobrimento das partículas com compostos químicos apropriados e deixando as partículas de ganga hidrofílicas (Crozier, 1992). Diferentes processos de separação são projetados para explorar estas diferenças de propriedades superficiais (Bulatovic, 2007).

Na flotação, a mistura de partículas é transferida para um tanque de água aerada onde as bolhas de ar colidem com as partículas. As partículas do mineral de interesse hidrofobizadas aderem às bolhas e ascendem para a superfície para formar uma camada de espuma, a qual é coletada como um concentrado. A polpa remanescente sai do tanque como rejeito. Um diagrama do processo de flotação é visto na Figura 1.

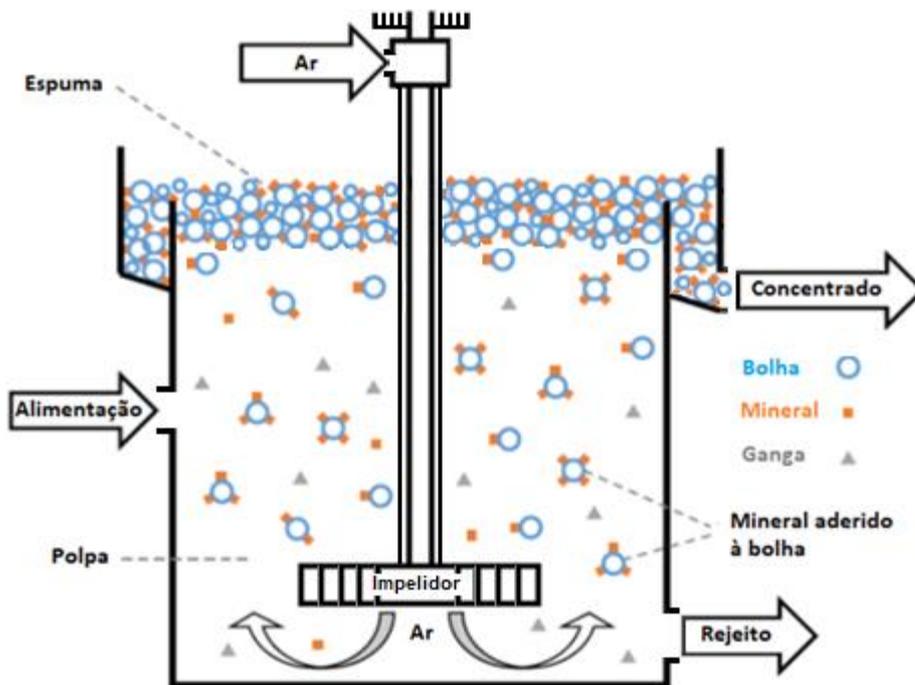


Figura 1 – Esquema ilustrativo do processo de flotação (Adaptado de Hu, 2014).

O desempenho da separação por flotação é medido pela qualidade e quantidade do concentrado, isto é. o teor e a recuperação (Taggart, 1921). Os materiais no concentrado não incluem somente minerais hidrofóbicos que são coletados por adesão às bolhas, mas também algumas partículas da ganga

hidrofílica que são carregadas no fluxo ascendente, e são subsequentemente aprisionadas entre os canais de água entre as bolhas, chamados bordas de Plateau, e são entrapadas na espuma, incrementando a quantia de minerais reportados no concentrado, e assim pode aumentar a recuperação, se decrescer a quantia de ganga pode aumentar o teor.

4.2. Bolhas

Dentre as várias definições de bolha, bolha é, segundo o dicionário Aurélio (Ferreira, 2014), um glóbulo formado pelo ar que se eleva à superfície dos líquidos. As bolhas podem ser geradas nos líquidos por diversas maneiras (Rao, 2004), por exemplo:

- Um aumento de temperatura pode causar ebulição, inicialmente os gases dissolvidos são liberados e em seguida são geradas bolhas preenchidas de vapor;
- Um decréscimo na pressão causa precipitação de bolhas (somente gases dissolvidos são liberados);
- Agitação mecânica pode causar aprisionamento de gás;
- A injeção de gás pressurizado através de um orifício ou uma membrana de poros.

Dependendo dos seus diâmetros as bolhas podem ser classificadas como macrobolhas (de diâmetro maior do que 0,1 mm (subgrupos pequenas ou grandes), microbolhas (de diâmetro de 1-100 μm), ou submicrobolhas ($< 1 \mu\text{m}$) (Rao, 2004).

Se formarem em estreita proximidade dentro de um líquido puro, as bolhas tendem a coalescer (para reduzir a extensão da área superficial total e, assim, a energia livre total do sistema) e, se livres, ascenderem no líquido sob o efeito da flutuabilidade. (Rao, 2004).

A coalescência pode ser prevenida por agentes ativos na superfície (sufactantes) (deliberadamente adicionados ou presentes como contaminantes) e a ascensão das bolhas pode ser prevenida pela adesão a uma superfície sólida hidrofóbica. (Rao, 2004).

Ainda, segundo Rao (2004), em líquidos puros, as bolhas tendem a coalescer independente do caráter do líquido, polar ou apolar. Quando o líquido contém um surfatante dissolvido, a coalescência das bolhas pode ser fortemente

retardada ou mesmo evitada. Isto pode se tornar evidente pela formação de uma espuma. Uma simples bolha em um líquido, sob condições de equilíbrio, assume a forma correspondente a mínima energia livre do sistema, i.e. a menor área superficial da interface gás/líquido (quase esférica).

Para uma bolha de gás de raio r submersa em um líquido (em estado de equilíbrio e na ausência de forças gravitacionais), a forma deve ser esférica a fim de balancear a mínima área superficial requerida, e deve ter uma diferença de pressão através dela (Pugh, 2016).

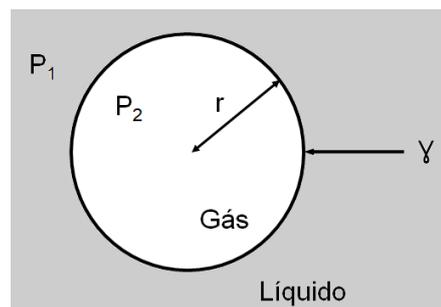


Figura 2 – Representação de uma bolha de gás num líquido (Adaptado de Pugh, 2016).

De acordo com Pugh (2016), se γ é a tensão superficial da interface, então a energia livre superficial total da bolha é $4\pi r^2\gamma$, e se o raio reduzir de dr então a mudança na energia livre superficial será $8\pi r\gamma dr$. Desde que a contração do tamanho causa um decréscimo na energia superficial, então a tendência deve ser balanceada por uma diferença de pressão Δp através do filme (entre o lado de dentro e o lado de fora). O trabalho feito para atingir isto contra esta diferença de pressão é $\Delta p 4\pi r^2 dr$ que é igual ao decréscimo na energia livre de superfície. Portanto, a relação entre a pressão e a tensão de superfície é descrita na Equação (1) :

$$\Delta p 4\pi r^2 dr = 8\pi r\gamma dr \quad \text{ou seja: } \Delta p = \frac{2\gamma}{r} \quad (1)$$

onde, Δp representa a diferença de pressão entre o lado de dentro e de fora da bolha ou a pressão sobre a superfície curvada. Esta pressão é definida como pressão capilar P_c , e é inversamente proporcional ao raio de curvatura e diretamente proporcional à tensão superficial (Pugh, 2016). Da equação acima se deduz que para bolhas pequenas a pressão dentro da bolha é maior do que do lado de fora. No caso de filmes de sabões, é necessário usar os dois principais raios de curvatura para descrever a superfície curvada, de tal forma que para

bolhas com superfície de curvatura r_1 e r_2 , a diferença de pressão será conforme equação de Young e Laplace (Pugh,2016).

A equação fundamental de capilaridade, conhecida como equação de Young e Laplace, relaciona a diferença na pressão, p_1 , p_2 , entre a pressão no lado côncavo, i.e. dentro da bolha, p_1 , e aquela do lado convexo, p_2 , com a tensão interfacial $\gamma_{a/l}$ e os dois raios de curvatura principais R_1 e R_2 , de acordo com a Equação (2):

$$p_1 - p_2 = \gamma_{a/l} \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (2)$$

para um sistema no qual a força gravitacional e outras forças estão ausentes. Na presença de forças gravitacionais, a forma da superfície do líquido pode ser calculada por uma equação mais genérica, conforme Equação (3):

$$p_1 - p_2 = \gamma_{a/l} \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) g(\rho_1 - \rho_2)Z \quad (3)$$

onde, g é a aceleração da gravidade, ρ_1 , ρ_2 são as densidades das duas fases, e Z é o nível do menisco do nível de referência (no lado côncavo do menisco). Desde que o raio de curvatura não pode ser prontamente medido, soluções aproximadas foram feitas por Bashforth & Adams (1883 apud Rao 2004) para figuras de revolução sobre um eixo vertical.

As bolhas de gás livres ascendem no líquido para sua superfície sob o efeito da flutuabilidade, a qual é determinada pela Lei de Arquimedes (Rao, 2004), conforme a Equação (4):

$$F = \frac{\pi d^3}{6} (\rho_1 - \rho_2)g \quad (4)$$

onde, d é o diâmetro das bolhas, ρ_1 é a densidade do líquido e ρ_2 é a densidade do gás. Bolhas pequenas, menores do que 0,2 mm de diâmetro, se comportam em água pura, essencialmente, como uma esfera sólida rígida, e é aplicável a relação devido a Stokes (1880 apud Rao 2004) entre as velocidade terminal v e o raio r , onde η é a viscosidade do líquido, conforme a Equação (5):

$$v = \frac{2}{9} \frac{gr^2(\rho_1 - \rho_2)}{\eta} \quad (5)$$

Bolhas acidentadas maiores do que ~0,2 mm começam a mudar a sua forma, em primeiro para esferoidal, e então para várias formas complicadas e distorcidas (como resultado do escorregamento e flexibilidade de suas interfaces) (Rao, 2004). A fórmula teórica, devido a Rybczynski (1911 apud Rao 2004), para a velocidade terminal de tais bolhas flexíveis modificou por um fator a velocidade dada pela precedente relação de Stokes, onde, η_1 é a viscosidade do ar e η_2 é a viscosidade da água, conforme Equação (6).

$$\frac{3\eta_1 + 3\eta_2}{3\eta_1 + 2\eta_2} \cong 1,5 \quad (6)$$

Levich (1949 apud Rao, 2004) desenvolveu uma fórmula aproximada para velocidade de bolhas simples na ausência de deformações, conforme a Equação (7):

$$v = \frac{2}{36} \frac{d^2 g (\rho_1 - \rho_2)}{\eta} \quad (7)$$

Esta equação é aplicável a bolhas de aproximadamente $d = 1$ mm, i.e. número de Reynolds $R_e \sim 200$ (Rao, 2004).

Sendo que o número de Reynolds R_e é definido como a relação entre forças de inércia e forças de viscosidade, também pode ser visto como a relação entre as forças de cisalhamento turbulentas e forças de cisalhamento viscosas e é calculado pela Equação (8):

$$R_e = \frac{\rho V d}{\mu} \quad (8)$$

onde, V é a característica velocidade de movimento do fluido, d é a característica dimensão (como o raio do tubo em que o fluido escoar, ou o diâmetro do orifício, ou o diâmetro da bolha, etc.), ρ é a densidade do fluido e μ é viscosidade do fluido. O número de Reynolds é adimensional (Streeter et al., 2010).

Bolhas de gás em um líquido são instáveis, se o líquido é subsaturado com gás, as bolhas diminuem em tamanho com a difusão de gás no líquido, se o líquido é supersaturado, as bolhas aumentam de tamanho. Propriedades térmicas, viscosas e elásticas de um líquido podem ser consideravelmente

influenciadas pela existência de bolhas no líquido. Líquidos insaturados com bolhas livremente ascendentes exibem uma taxa de dissolução duas vezes maior do que aquela com bolhas estacionárias (entrapadas ou aderidas). Para um sistema ar-água, o coeficiente de difusibilidade foi encontrado por Liebermann (1957) como sendo $1,7 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a 8°C e $2,9 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a 29°C para bolhas aderidas; para bolhas livremente ascendentes, foi determinado como $6,3 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a 27°C . A taxa de transferência de gás observada para bolhas livremente ascendentes é aparentemente independente da velocidade. (Rao, 2004)

Na formação, as bolhas tendem a coalescer a medida que elas crescem, duas ou mais bolhas podem interagir e formar uma única bolha. A coalescência é favorecida por três principais fatores: a presença de bolhas com diâmetros não uniformes, que leva as bolhas maiores capturarem por colisão as bolhas menores; agitação violenta; e a presença de uma grande área superficial em contacto com a interface bolha-líquido, as superfícies maiores servem como pontos de deposição de microbolhas. Assim que as bolhas se movem em direção à interface líquido-gás, elas colidem entre si causando a ocorrência de coalescência. Isto resulta no seu decréscimo de área superficial por unidade de volume. As bolhas tendem a ascender mais rápido como um resultado do aumento de fluabilidade. (Rao, 2004)

Surfatantes dissolvidos na água decrescem o tamanho médio das bolhas formadas na célula de flotação como foi observado por Bogdanov, Kizevalter e Maslova (1950 apud Rao, 2004) e Miagkova (1955 apud Rao, 2004).

O tamanho das bolhas afeta significativamente a performance do processo de flotação (Ahmed & Jameson, 1985; Chen et al., 2001; Cho & Laskowski, 2002). As bolhas produzidas na célula de flotação com espumantes comuns são consideradas como sendo geralmente pequenas, e tendo um tamanho ao redor de 0,5-2,5 mm. Mesmo bolhas menores requeridas para flotação de partículas ultrafinas podem ser geradas por flotação em ar dissolvido ou por eletroflotação (Rubio et al., 2002 apud Hacha, 2016).

Sendo que o diâmetro de bolha é considerado um parâmetro importante no processo de flotação, num enxame de bolhas define-se um parâmetro capaz de descrever o tamanho médio das bolhas. O diâmetro médio de Sauter $d_{3,2}$ é a forma normalmente utilizada para representar o diâmetro médio de bolhas e é calculado pela Equação (8):

$$d_{3,2} = \frac{\sum_{i=1} d_i^3}{\sum_{i=1} d_i^2} \quad (8)$$

onde, d_i representa o diâmetro de uma esfera de igual volume que ao da bolha. Ou seja, diâmetro equivalente a seis vezes o somatório dos volumes hipotéticos de cada bolha dividido pelo somatório das áreas superficiais de cada bolha (Gordiychuk et al., 2015).

Quando duas bolhas entram em contato entre si, o filme líquido (lamela) entre elas se adelga e se rompe causando a coalescência das bolhas, a menos que suficiente surfatante esteja presente na sua interface ou o tempo de contacto seja demasiadamente pequeno (Rao, 2004).

4.2.1. Medição do Tamanho de Bolha

Existem diversas técnicas de se medir o tamanho de bolhas, e sua distribuição: (1) técnica fotográfica, (2) técnica de retirada de bolha dinâmica, (3) cálculos usando correlações empíricas ou semi-empíricas, (4) estimativa do diâmetro das bolhas por análise de desvio de fluxo, (5) estimativa de tamanho de bolhas usando um modelo balanço da população de bolhas, (6) medidor de tamanho de bolhas tipo UCT, também conhecida por Hidromess (Cho, 1993) e (7) por difração laser (Couto et al., 2009). Algumas delas são através de métodos óticos; e com o desenvolvimento do processamento e análise de imagens ficou mais fácil a interpretação e obtenção de resultados (Pugh, 2016). Normalmente, o processo envolve usualmente três etapas: aquisição das imagens, processamento das imagens e extração de dados.

Esta aquisição de imagem é realizada por câmera fotográfica digital por intermédio de um equipamento como o *Anglo Platinum Bubble Sizer* produzido pela empresa *Stone Three*, onde bolhas são capturadas de dentro de uma célula de flotação por um tubo amostrador e em movimento ascendente passam entre duas placas inclinadas (15°) de vidro bem próximas, onde ocorre o espalhamento das bolhas, conforme Figura 3. Fotos digitais são tiradas deste enxame de bolhas, e estas fotos são processadas por um *software* como o de domínio público *ImageJ*, criado no *National Institutes of Health (NIH) - USA*, desenvolvido por Ferreira e Rasband (2012) em linguagem Java, baixado gratuitamente no site <https://imagej.nih.gov/ij/index.html>, que analisa e interpreta as fotos e produz

uma tabela com uma lista de cada bolha da foto, com as respectivas áreas das seções transversais das bolhas.

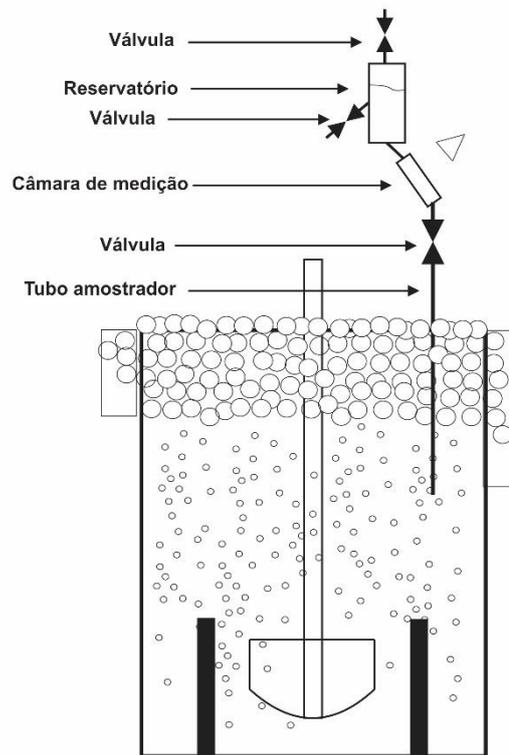


Figura 3 – Diagrama esquemático do Bubble Sizer montado em uma célula de flotação (adaptado de Stone Three, 2017).

Este software faz o cálculo de áreas das bolhas pela contagem de *pixels* das regiões selecionadas pelo usuário, de acordo com as seguintes etapas de processamento de imagem:

- Importação da imagem;
- Pré-processamento: análise, introdução de referencial e escalonamento da imagem;
- Segmentação: seleção da área, conversão para 8 bits, e ajuste de contraste, correção de ruído, definição de esfericidade, preenchimento de bolhas, separação entre bolhas,
- Processamento: Contagem e medição dos elementos desejados
- Gravação: salvando imagens processadas e exportação da planilha de números de elementos e medidas.

A planilha exportada contendo as bolhas e suas respectivas áreas das seções transversais é processada em uma outra planilha eletrônica, que determina o diâmetro médio de Sauter das bolhas daquela foto, bem como o seu desvio padrão.

A Figura 4 mostra uma foto tirada do enxame de bolhas no aparelho *Anglo American Bubble Sizer* e a uma foto processada deste mesmo enxame de bolhas no *software ImageJ*, contendo as bolhas numeradas.

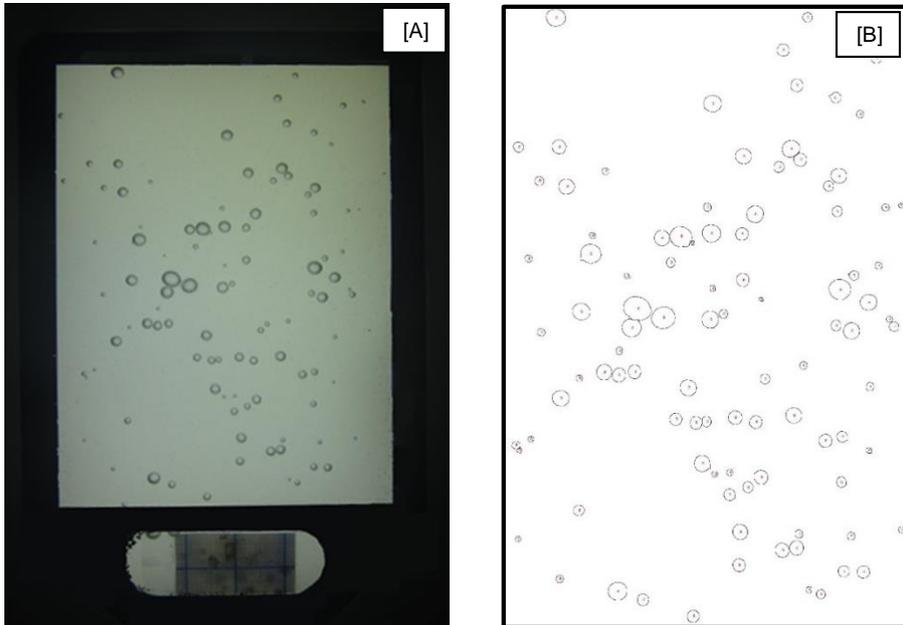


Figura 4 – Fotos de enxame de bolhas. [A] Foto Bruta, tirada com *Bubble Sizer*, [B] Foto Processada no *software ImageJ*.

A Figura 5 apresenta um segmento da lista de bolhas analisadas pelo *software ImageJ* correspondente à Figura 4[B], onde mostra o número da bolha e a área da seção transversal da bolha.

Bolha	Área
1	0,624
2	0,354
3	1,523
4	0,609
5	0,854
6	0,832
7	1,562
8	4,325
9	1,056
10	0,538
11	2,521
12	0,894
13	4,325
14	
15	
16	

Figura 5 – Segmento da lista de bolhas analisadas pelo *software ImageJ*.

4.2.2. Velocidade superficial do gás

No mesmo equipamento *Anglo American Bubble Sizer* é possível medir a velocidade superficial, onde por definição Jg é a vazão volumétrica pela área, em outras palavras: $Jg = \text{Volume}/\text{tempo}/\text{superfície} = \text{Comprimento}/\text{tempo} = L/t$ [m/s]. Sendo Q a vazão volumétrica, ou seja, $Q = \text{Volume}/\text{tempo} = V/t$ [m³/s] (Stone Three, 2017).

As medidas de Jg são feitas em vazão volumétrica, mas as unidades são [L/s] ou [dm³/s]. Para converter Q_{BS} para Jg é necessário saber a A_c que é a área da seção interna do tubo amostrador em m², de fato aquela medida é feita em L e não em m³. Então Jg é calculado conforme a Equação (9) (Stone Three, 2017):

$$Jg = \frac{Q_{BS}}{A_c \times 1000} \quad [\text{m/s}] \quad (9)$$

Este valor calculado precisa ser corrigido para as mudanças de pressão. Com a calibração para pressão, é definido neste caso Jp no ponto de medida (na extremidade do tubo amostrador) na polpa, e desconsiderando a fase de espuma, é calculada pela seguinte Equação (10) (Stone Three, 2017):

$$J_p = J_g^0 \frac{P_{atm} + \rho_p \cdot g \cdot H_p \cdot (1 - \varepsilon_g) - \rho_w \cdot g \cdot H_w \cdot (1 - \varepsilon_g)}{P_{atm} + \rho_p \cdot g \cdot H_p \cdot (1 - \varepsilon_g)} \quad (10)$$

onde, P_{atm} é a pressão atmosférica, ρ_p é a densidade da polpa excluindo as bolhas, ρ_w é a densidade da água, H_p é a distância da superfície da polpa a extremidade do tubo amostrador, H_w é a distância da posição de medição até a extremidade do tubo amostrador, g é a aceleração da gravidade e ε_p é o conteúdo de gás (fração volumétrica de ar contida) (*gas holdup*) que é assumido como sendo o mesmo dentro do tubo como na polpa.

Os espumantes controlam a área superficial da bolha ao fluxo e a cinética da flotação por afetar o tamanho das bolhas. A constante de velocidade de flotação k_c é rigorosamente utilizada para os processos que ocorrem apenas em polpas (zona de coleta) (Jameson, Nam e Young, 1977 apud Cho, 1993). A constante é calculada pela Equação (11):

$$k_c = \frac{1.5J_g P}{d_b} \quad (11)$$

onde, J_g é a velocidade superficial do gás, P é a probabilidade de coleta e d_b é o diâmetro da bolha. Gorain et al. (1977 apud Cho 1993) mostrou que a taxa de flotação correlaciona melhor com a velocidade superficial do gás. Entretanto, a velocidade superficial do gás sozinha não pode descrever os efeitos na flotação, Gorain (1977 apud Cho 1993) relacionou a área superficial da bolha ao fluxo, S_b , a constante de velocidade da flotação e encontrou uma relação linear com respeito aos tipos de rotores. Ao aumentar a área superficial da bolha ao fluxo a constante de velocidade da flotação proporcionalmente aumenta também. Isto implica que existe um forte efeito do tamanho de bolhas na constante de velocidade da flotação conforme as Equações 12 e 13 (Cho, 1993).

A área superficial da bolha ao fluxo, S_b é definida (Finch & Dobby, 1990 apud Cho, 1993) como na Equação (12):

$$S_b = \frac{6J_g}{d_{3,2}} \quad (12)$$

onde, S_b é área superficial da bolha ao fluxo (m^3/m^2s), J_g é a velocidade superficial do gás (m/s) e $d_{3,2}$ é o diâmetro médio de Sauter das bolhas.

Esta equação mostra claramente que a área superficial da bolha ao fluxo depende da velocidade superficial do gás e do diâmetro médio de Sauter da bolha. Combinando as Equações 11 e 12 dá a dependência linear da área superficial da bolha ao fluxo na constante de velocidade da flotação, conforme a Equação 13 (Cho, 1993):

$$k_c = \frac{1}{4}PS_b \quad (13)$$

O tamanho da bolha controla a probabilidade de colisões partícula-bolha e então a eficiência de coleta. Este efeito é manifestado na zona de coleta (polpa). (Cho, 1993). Bolhas menores aumentam a colisão e a eficiência de adesão e portanto aumentam a eficiência de coleta (Dolby & Finch, 1986). Yoon & Luttrell (1989) notaram que a probabilidade de colisão de bolhas pequenas em partículas de carvão aumentaram como um resultado de sua menor velocidade ascensional, aumentaram o tempo de retenção das bolhas na polpa e favoreceram a hidrodinâmica das colisões. Entretanto, com um grande decréscimo no tamanho das bolhas, a força de flutuação (empuxo) pode se tornar insuficiente para carrear as partículas aderidas. Como discutido, o tamanho de bolhas tem um significativo efeito na performance da flotação (Cho,1993).

4.3. Espumas

Inicialmente é importante salientar que uma espuma não pode ser produzida em um líquido puro, a menos que um material ativo em superfície esteja presente. Numa análise dos materiais agentes em superfície, espumantes, em ambiente aquosos, devemos incluir partículas, polímeros, cátions ou ânions de sais inorgânicos adsorvidos especificamente, etc., e muitas destas substâncias podem, muitas vezes, causar espumação em concentrações extremamente baixas. (Pugh, 2002)

Kitchener (1964) distinguiu três tipos de espumas:

1. Uma dispersão temporária de bolhas quase esféricas em um líquido viscoso (Kugelshaum);
2. Uma espuma transiente obtida com soluções diluídas de cadeias curtas, principalmente não iônicas, surfatantes de fraca ação superficial;
3. Uma espuma persistente com bolhas poliédricas bem drenadas, com filmes finos (lamelas) produzidas por surfatantes não iônicos e iônicos altamente ativos (sabões, espumantes, detergentes, proteínas). (Rao, 2004).

As propriedades da espuma dependem da fração de gás, em casos onde elas contém pequenos volumes de gás, e as bolhas que são esféricas, são normalmente referidas como líquidos efervescentes ou espumas efervescentes. Com alto conteúdo de gás, elas não são mais esféricas e assim se comportam como sólidos com um alto módulo de elasticidade ao cisalhamento. Nestas circunstâncias, energia elástica é requerida para cisalhar a rede (Pugh, 2016). No seu clássico texto, Bikerman (1973) definiu espumas molhadas como sistemas onde o volume de gás é muito pequeno tal que elas possam ser chamadas como uma aglomeração de bolhas de gás, e este estado ocorre onde as bolhas estão separadas umas das outras por finos filmes de líquido.

As espumas vão se formando pela ascensão das bolhas, estas vão perdendo seu movimento lateral, restando somente o movimento ascensional. Algumas bolhas iram coalescer em bolhas maiores. A medida que as bolhas perdem seu movimento e vão se empacotando elas vão mudando sua forma de esféricas ou quase esféricas para poliédricas; formando entre duas bolhas um filme delgado, de líquido, conhecido como lamela; entre três bolhas o que seria a interseção de três lamelas, um canal nominado borda de Plateau e entre quatro

bolhas é a interseção de quatro bordas de Plateau, formando um nó conhecido como vértice, conforme as Figuras 6 e 7. Não é possível ter interseção de mais de quatro bordas de Plateau, num único vértice (Pugh, 2016).

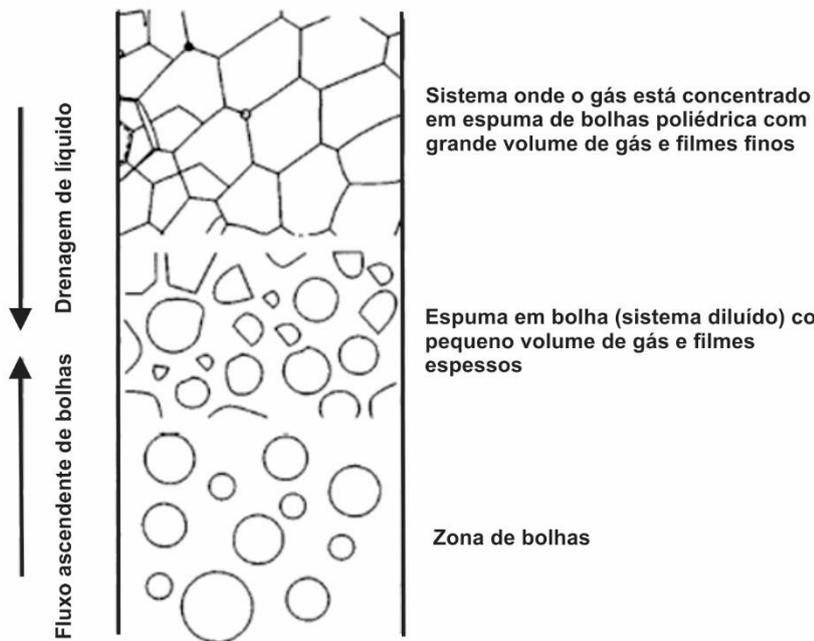


Figura 6 – Estrutura da espuma ocorrendo durante a formação e drenagem em uma coluna (adaptado de Pugh, 2002).

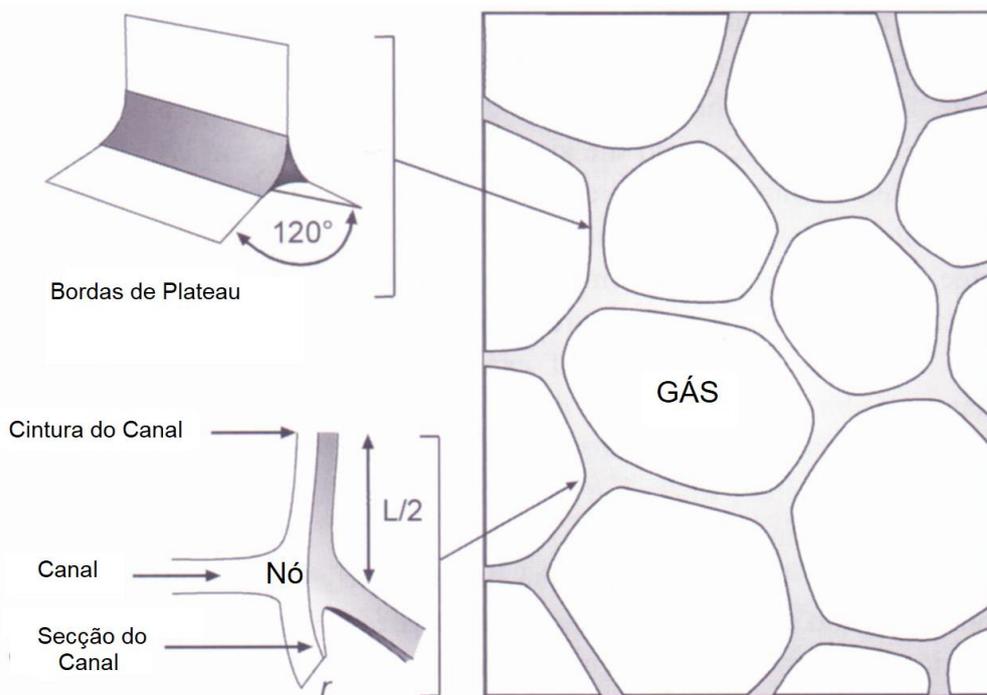


Figura 7 – Bordas de Plateau (adaptado de Pugh, 2016).

4.3.1. Drenagem

Em uma coluna de espuma, diferentes estruturas transicionais podem ocorrer, com estruturas tendo grande fração de gás próximo ao topo da coluna, decrescendo para estruturas de pequeno conteúdo de gás, próximo à base da coluna. A drenagem do excesso de líquido de uma coluna de espuma em solução fundamental é inicialmente regida pela hidrostática, o que causa às bolhas se tornarem distorcidas. A diferença de pressão entre nichos vizinhos ΔP é relacionada ao raio de curvatura r da borda de Plateau por $\Delta P = 2\gamma/r$ como discutido anteriormente. O modelo generalizado para drenagem envolvem bordas de Plateau subsequentemente formando uma rede, através da qual o líquido flui devido a ação da gravidade. Usualmente ocorre o colapso de bolhas de cima para baixo da coluna, e os filmes finos na região de espuma esférica são suscetíveis a ruptura por choque, gradiente de temperatura ou vibração. Na coluna, duas estruturas bem conhecidas e facilmente reconhecíveis podem ser observadas que possuem diferentes graus de umidade (Rao, 2004)

Além do mais, a espuma pode ser considerada como uma dispersão de bolhas temporariamente diluída em um líquido, mas quando o volume parcial cai abaixo de 30%, ela se transforma de sua forma esférica e distorce em células poliédricas de gás com finas paredes planas. Os poliédros são quase dodecaedros regulares, e os pontos de junção dos canais de interconexão são as bordas de Plateau. Em qualquer altura na coluna de espuma, a pressão negativa de Laplace nas bordas de Plateau é γ/r , e esta pressão é balanceada pela gravidade $\rho g H_f$, então que o tamanho da bolha está relacionado a altura da espuma pela Equação (9):

$$r = \frac{2\gamma}{\rho g H_f} \quad (9)$$

onde, H_f é a altura da espuma acima do líquido (Rao, 2004).

Na Figura 8 pode-se observar a transição da característica da espuma: > 36% líquido → bolhas esféricas; < 36% líquido → bolhas poliédricas aprisionadas em espuma, em trabalho realizado por Langevin (2016) com estudos sobre bolhas sem efeito da gravidade.

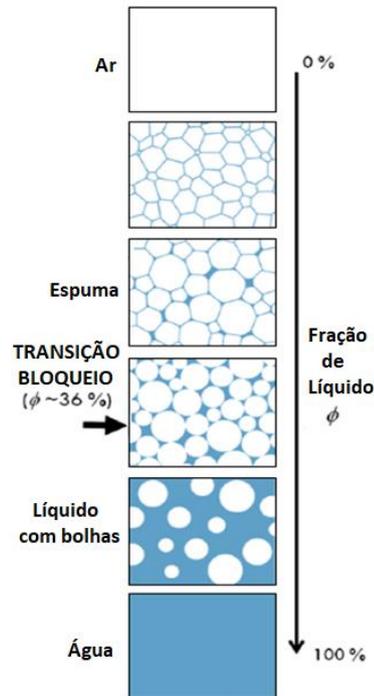


Figura 8 – Fração de líquido na espuma (adaptado de Langevin, 2016).

A tensão superficial e a força da gravidade corroboram para a drenagem da água; quanto menor a tensão superficial, mais espessa se tornam as lamelas e maior e melhor será a drenagem de água pela espuma. No entanto, as bolhas que chegarem ao corpo da espuma devem conter suficiente quantidade de água, para manter a espuma hidratada, para evitar que caso a drenagem fosse maior do que a hidratação, as lamelas se tornariam tão delgadas e desidratadas que levariam as bolhas a coalescência e por fim ao colapso (Grau et al., 2005).

4.3.2. Estabilidade da espuma

Uma vez que as espumas secas se originam de bolhas as quais foram produzidas inicialmente de espumas borbulhantes bem úmidas, é importante enfatizar que a formação de bolhas e a espumação não são processos triviais. Essencialmente a espumação pode ser definida como um processo sinérgico onde é necessário adicionar um produto surfatante (um terceiro componente a mistura ar/água). A presença de um surfatante entrando na interface gás/líquido reduz a tensão superficial (diminui a energia interfacial) relativa àquela do líquido puro. Por exemplo, a água tem tensão superficial de aproximadamente 72 mN/m a temperatura ambiente (25 °C), e ela é reduzida para cerca de 35 mN/m pela adição de um surfatante forte. (Pugh, 2016)

Gibbs (1878 apud Rao, 2004) sugeriu que durante o alongamento das lamelas da espuma, um aumento local na tensão superficial ocorre em finas camadas como resultado da depleção do surfatante pela adsorção na porção adelgada, produzindo uma mudança na elasticidade superficial. Gibbs definiu o coeficiente de elasticidade estática superficial E como o *stress* dividido pela tensão para uma unidade de área. Para uma área A de uma lamela de duas faces, quando a tensão superficial aumenta de $+d$, a espessura da lamela decresce de $h - dh$, e a elasticidade é dada por (Rao, 2004), segundo a Equação (10) :

$$E = \frac{2 dy}{dA/A} = \frac{2dy}{d \ln A} = \frac{2 dy}{\ln h} \quad (10)$$

Embora uma baixa tensão superficial dinâmica normalmente corresponda a uma alta espumabilidade, a estabilidade da espuma é geralmente mais dependente da viscoelasticidade e interações repulsivas entre as lamelas de filmes finos. No entanto, a situação é complexa desde que com soluções de surfatantes de baixa espumação, é difícil obter um valor absoluto do volume inicial ou altura de espuma por que o decaimento da espuma pode ocorrer em paralelo com o processo de geração de espuma. Alguns surfatantes com baixa espumabilidade produzem espumas de alta estabilidade (Pugh, 2016).

Karakashev et al. (2012) propoz um interessante conceito, baseado num novo parâmetro que foi designado “produção de espuma” que combina a espumabilidade e o decaimento da espuma. Primeiramente o teste de espumação de Bikerman (descrito no capítulo Materiais e Métodos desta dissertação) é expresso em unidade de segundos, é sensível a sistemas de baixa-média espumação e é definido pela Equação (11):

$$\Sigma = \frac{H_e}{U_g} \quad (11)$$

onde, H_e é a altura de equilíbrio da espuma e U_g é a vazão superficial de gás. Neste teste o decaimento da espuma é normalmente estimado de uma média de valores de tempo de quebra.

Entretanto, métodos alternativos de geração de espuma podem ser usados, como agitação que pode dar espuma de vida curta (transiente) mas não para espumas tenazes mais estáveis. Para espumas transientes, o módulo de elasticidade da interface ar/água foi considerado ter um papel maior na espumação e decaimento. No caso de espumas tenazes mais estáveis (as quais

tem estrutura internas específicas com lamelas poliédricas, bordas de Plateau, etc.), o processo de quebra foi dominado pela drenagem e engrossamento em vez da elasticidade, o parâmetro produção de espuma foi definido como na Equação (12):

$$F_p = \frac{\Sigma}{U_d} \quad (12)$$

onde, Σ é a unidade de espumação de Bikerman, enquanto U_d é a taxa de decaimento da espuma. Entretanto, uma vez que esta definição é somente válida para o teste de espumação de Bikerman (Bikerman, 1973) envolvendo gases aspergindo e é necessário ter uma segunda definição de produção de espuma F_p^* que poderia ser aplicada a outros métodos genéricos como agitação, ela foi expressa como na Equação (13):

$$F_p^* = \frac{V_i}{U_s} \quad (13)$$

onde, V_i é o volume inicial de espuma e U_s é a taxa média de decaimento da espuma (Pugh, 2016).

Com respeito a geração inicial de bolhas úmidas, o mecanismo mais comum de estabilização ocorre em nível molecular e envolve o efeito Gibbs-Marangoni que atua para estabilizar as bolhas.

Nas bolhas, o efeito Gibbs-Marangoni, também chamado efeito Marangoni ocorre quando a gravidade exerce um gradiente que empurra as moléculas de água para a região inferior da bolha. O deslocamento destas moléculas arrasta as moléculas de surfatante para a região inferior da bolha (Xu et al. 2003). Esta movimentação das moléculas bem como o efeito Marangoni gerado no agrupamento das moléculas de espumante estão ilustrado na Figura 9 (Veras, 2010).

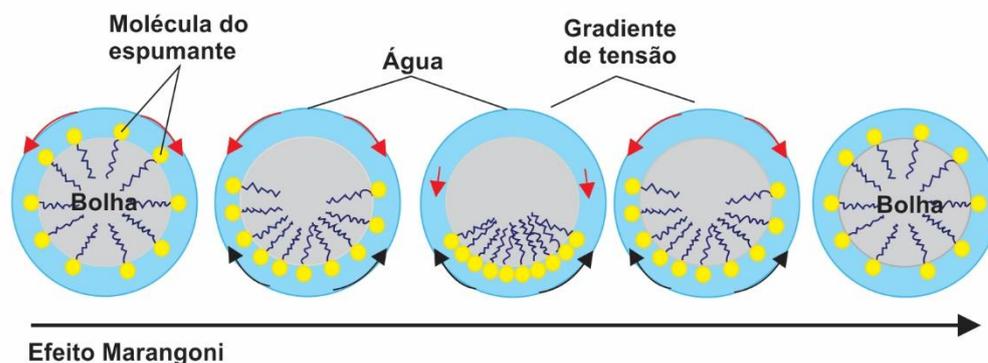


Figura 9 – Ilustração do Efeito Marangoni exercido entre as moléculas dos espumantes (Adaptado de Veras, 2010).

Ainda segundo Veras (2010) a concentração dessas moléculas na região inferior da bolha faz o gradiente de tensão provocar a difusão das moléculas surfatantes. O processo de difusão na região de concentração dessas moléculas faz com que o líquido na camada seja contraído quando o gradiente de tensão for baixo e expandido quando for maior em relação ao gradiente de contração. Este movimento oscilante promove uma constante circulação de moléculas do filme de água na espuma (Tan et al., 2005)

Considerando as interações entre as moléculas dos surfatantes dentro de um agregado auto-organizado, quer na solução bruta ou na interface gás-líquido, é importante examinar o arranjo do empacotamento das moléculas com respeito a sua estrutura mais preferencial. De fato, é a simples geometria de uma molécula (expressa em termos do comprimento, área e raio) que tem sido utilizada para definir seu parâmetro de empacotamento e isto controla a forma do agregado. O parâmetro de empacotamento crítico adimensional CPP (do inglês “*Critical Packing Parameter*”), ou fator de forma molecular é expresso na Equação 14:

$$CPP = \frac{V_h}{a_h l_c} \quad (14)$$

onde, V_h é o volume da cadeia ou forma do surfatante hidrocarbônico, l_c é o comprimento da cadeia hidrocarbônica, e a_h é a área do grupo funcional de cabeça (Pugh, 2016).

A espumação é muito sensível ao CPP e geralmente tem sido aceito que aumentando o CPP leva a um aumento das interações de adesão entre as bem empacotadas moléculas de cadeia longa adsorvidas na interface ar/água, resultando em um aumento da capacidade de resiliência da película interfacial e um efeito positivo para a formação da espuma. Entretanto outros fatores precisam ser levados em consideração, como a carga sobre o grupo funcional do surfatante que pode levar a um decréscimo na densidade de empacotamento e a uma pobre resiliência do filme. Em adição, distúrbios podem ocorrer de flutuações térmicas externas, e estas podem ser de suficiente magnitude para causar furos que podem levar a ruptura do filme lamelar da espuma. De fato, surfatantes com alto valores de CPP são mais vulneráveis a ruptura do filme causado pela formação de cavidades. O processo destrutivo do filme tende a contar o efeito positivo da força coesiva (o que é positivo para espumação) de tal forma que pode haver um CPP crítico que corresponde ao máximo desempenho da espuma (Pugh, 2016).

De acordo com a teoria de adsorção de Gibbs, foi bem estabelecido que o desempenho da espumação dos surfatantes em soluções diluídas (abaixo da CMC – Concentração Micelar Crítica) aumenta com a concentração; isto correlaciona com o decréscimo na tensão superficial e o aumento na atividade superficial. De fato, normalmente, tem sido reportada uma relação linear entre a concentração do surfatante na solução e a altura inicial da espuma. Entretanto em concentrações próximas da CMC é atingido um máximo na espumação e então permanece constante em concentrações maiores. Geralmente surfatantes com baixos valores de CMC são conhecidos por serem espumantes mais efetivos em concentrações menores. A espumação depende do transporte rápido do monômero surfatante à interface da bolha. Em concentrações abaixo da CMC, é a concentração e o tamanho do monômero na solução que tem o papel principal na cinética da difusão, adsorção e espumação. Nesta faixa de concentração baixa, o transporte do surfatante é relativamente lento, mas quando a concentração aumenta, a difusão se torna rápida, permitindo suficiente surfatante adsorver na interface para estabilizar a espuma (Pugh, 2016).

As ciências básicas envolvidas no controle da cinética da estabilidade da espuma têm sido estudadas extensivamente por muitos pesquisadores (Exerowa & Kruglyakov, 1998; Bikerman, 1973; Prud'homme & Khan, 1996; Johansson & Pugh, 1992). A maioria dos estudos foram realizados com surfatantes iônicos fortes em concentrações relativamente elevadas, muitas vezes perto da concentração micelar crítica (CMC), onde as espumas são cineticamente estáveis. Nas flotações, no entanto, apenas pequenas quantidades de surfatantes (espumantes) não iônicos relativamente fracos são utilizadas para produzir bolhas de ar e espumas (Wang & Yoon, 2008).

As espumas (*foams*) produzidas em flotação ficam ainda mais complicadas pois elas contêm grandes quantidades da terceira fase, isto é, partículas sólidas e são referidas como espuma de flotação (*froths*). Em geral as partículas finas agem como um surfatante sólido e estabilizam as espumas de flotação. Assim, os fatores que afetam a estabilidade das espumas de flotação podem ser muito diferentes daqueles que afetam a estabilidade das espumas produzidas usando altas doses de surfatantes iônicos para outras aplicações (Wang & Yoon, 2008).

A estabilidade das espumas é afetada por vários fatores como tensão superficial, propriedades reológicas de superfície, elasticidade do filme, e forças de superfície (Langevin, 2000; Stubenrauch & Miller, 2004; Prins, 1999; Walthermo et al., 1996; Wang & Yoon, 2006; Monteux et al., 2004).

4.3.3. Tensão Superficial

Devido às forças de atração de van der Waals, responsáveis pela existência do estado líquido, as moléculas situadas no interior do líquido são em média sujeitas a forças de atração iguais em todas as direções, ao passo que as moléculas situadas na superfície de separação líquido-ar estão submetidas a forças de atração não balanceadas ou não equilibradas, do que resulta uma força em direção ao interior do líquido; a superfície tende por isso a contrair-se espontaneamente, conforme Figura 10. Isto explica porque gotículas de um líquido ou bolhas de um gás tendem a adquirir uma forma esférica (Shaw, 2000).

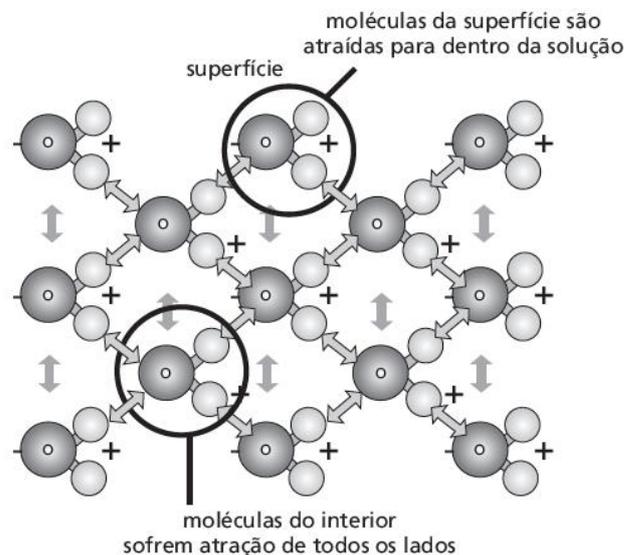


Figura 10 – Diferença nas resultantes das forças de atração entre as moléculas do meio do líquido e da superfície (Daltin, 2011).

A tensão superficial γ_0 de um líquido é definida muitas vezes como a força que atua ortogonalmente a qualquer segmento unitário imaginado na superfície do líquido. É mais conveniente definir a tensão superficial e energia livre superficial como o trabalho necessário para aumentar a superfície em uma unidade de área, por um processo isotérmico e reversível (Shaw, 1975).

A tensão interfacial é de fato uma força de tração agindo sobre todas as moléculas localizadas na área ultraperiférica da fase condensada. Além das formas comuns de consideração esta tensão é mensurável pelos métodos físicos e podem ser derivadas diretamente como tensão mecânica (Weser, 1980).

Observando a região desta borda em uma escala molecular, com o conhecimento de que a transição de densidades da fase líquida para fase gasosa

é linear, temos um modelo esquemático da interface como o mostrado na Figura 11:

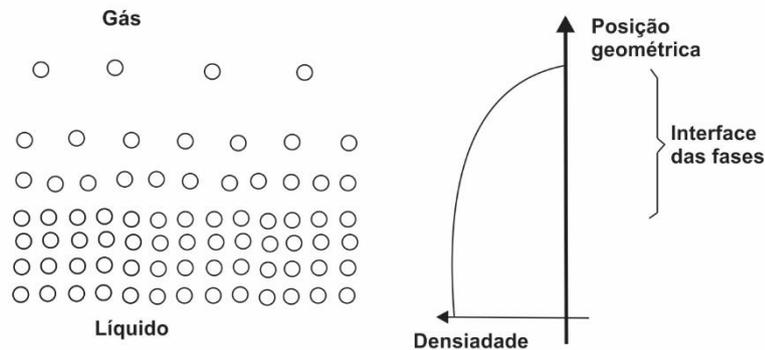


Figura 11 – Estrutura das moléculas na interface das fases e a função densidade (adaptado de Weser, 1980).

A Figura 11, também, mostra a função densidade, onde a densidade do gás é ignorada comparada à densidade do líquido. Se o sistema está balanceado, a relação de pressão será isotrópica, Pressão Total = constante.

A pressão total é a soma da pressão interna P_i e da pressão externa P_a :

$$P = P_a + P_i$$

A pressão interna P_i é a medida das forças de atração intermoleculares, enquanto estas forças, além de outros fatores, são dependentes, por exemplo das distâncias entre as moléculas. Outro importante fato é que a pressão interna de líquidos $1000 - 2000 \text{ kgf/cm}^2$ é surpreendentemente maior do que a pressão externa (Weser, 1980).

Como a pressão total P pode ser separada em duas diferentes componentes, P_t sendo a componente tangencial à interface e P_n a componente normal à interface, assim pode ser reescrito (Weser 1980):

$$P_t = P_{at} + P_{it}$$

$$P_n = P_{an} + P_{in}$$

De acordo com o modelo usado, pode ser observado que as moléculas ultraperiféricas da região da borda não são influenciadas por parceiros interativos de fora. Portanto a pressão P_{in} deve decrescer mais rápido do que a pressão P_{it} , e sob as condições consideradas aplica-se àquela região (Weser, 1980):

$$P_{it} > P_{in}$$

Uma vez que $P_t = P_n$ (equilíbrio), assim:

$$P_t = P_{at} + P_{it} = P_n = P_{an} + P_{in}$$

então:

$$P_{at} < P_{an}$$

Portanto, a pressão externa tangencial P_{at} é calculada pela Equação (15):

$$P_{at} = P_{an} + P_{in} - P_{it} \quad (15)$$

No diagrama de transições de pressão, visto na Figura 12, de acordo com a Equação (15), é mostrado uma área de pressão negativa comumente interpretada como tensão. A integral da função pressão P_{at} , para a região mais ultraperiférica representa a tensão superficial. Por causa da espessura finita daquela região a tensão superficial será sempre maior do que a máxima tensão observada; infelizmente não é possível determinar a função de pressão por meio de medições como um resultado das dimensões moleculares (Weser, 1980).

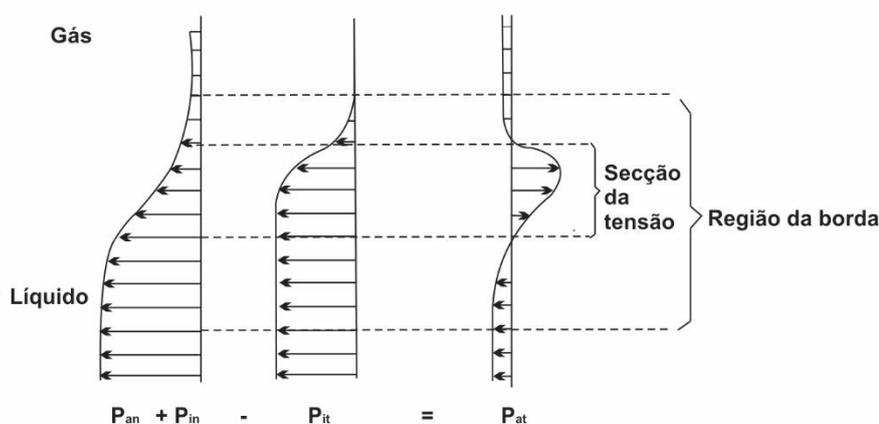


Figura 12 – Função densidade na região da interface (adaptado de Weser, 1980).

Embora a tensão como discutida não pode ser diretamente determinada, a tensão interfacial resultante pode ser precisamente medida. Deve-se ressaltar, neste ponto, principalmente, para maior clareza, que a observação foi feita na interface das fases líquido-gás.

Existem diversas formas de se medir a tensão interfacial ou tensão superficial: Processos de medição da força (Método de anel, Método de placa, Método do *loop*), Método de pressão (Elevação em tubos capilares, Máxima pressão em bolhas de gás), Métodos geométricos (Método da gota pendente, Método da gota séssil, Método do volume da gota, Método da gota girando, Medição do ângulo de contato), Métodos de medição dinâmica (Ondas de superfície, Jatos líquidos oscilantes) (Weser,1980).

Os processos de medição da força ganharam importância excepcional por causa de sua universalidade, precisão e simplicidade, seu princípio se baseia em um corpo sólido introduzido numa interface, e a tensão interfacial agindo sobre a sua linha molhada L . Relembrando a sua natureza vetorial e resolvendo a

integral sobre todo o comprimento molhado do sólido dá uma força resultante R conforme a Equação (16) (Weser, 1980):

$$R = \int_0^L \gamma dL \quad (16)$$

O método mais usual é o Método de Anel também conhecido como do Anel de du Noüy, criado por Lecomte du Noüy no ano de 1919, onde um anel, horizontal, suspenso, é mergulhado em um líquido e imediatamente removido.

Será medida a força K_{max} necessária para puxar a circunferência molhada L_b do anel no líquido, e a tensão γ será calculada pela Equação (17):

$$\gamma = \frac{K_{max}}{L_b} \quad (17)$$

Na Figura 13, pode ser visto a força K atuante em função da altura da lamela formada sob o anel de du Noüy.

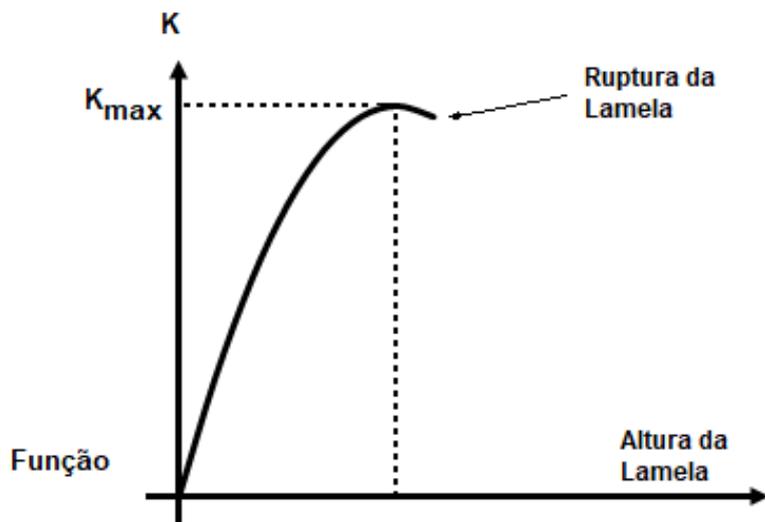


Figura 13 – Força atuante no anel em função da altura da lamela (adaptado de Weser, 1980)

Este método utiliza um Tensiômetro de Anel e apresenta as seguintes vantagens (Weser, 1980):

- Fácil manuseio;
- Medição rápida;
- Medição de alta precisão;
- Influência desprezível do ângulo de molhar;

- Informação adicional da propriedade característica da curva de ruptura.

A geometria do anel, caracterizado pelo anel de diâmetro médio $2R$ e o diâmetro da seção transversal $2r$, especifica o comprimento molhado L , que é calculado pelas Equações (18) e (19):

$$L = 2\pi(R + r) + 2\pi(R - r) \quad (18)$$

Ou seja:

$$L = 4\pi R \quad (19)$$

A seguintes dimensões são geralmente adotadas segundo Weser (1980):

$R = 9,545 \text{ mm}$, $r = 0,185 \text{ mm}$ e $L = 119,95 \text{ mm}$.

Na Figura 14 são mostrados o anel de du Noüy em seção, foto do anel e foto do anel com líquido-lamela quando atingindo o máximo de força.

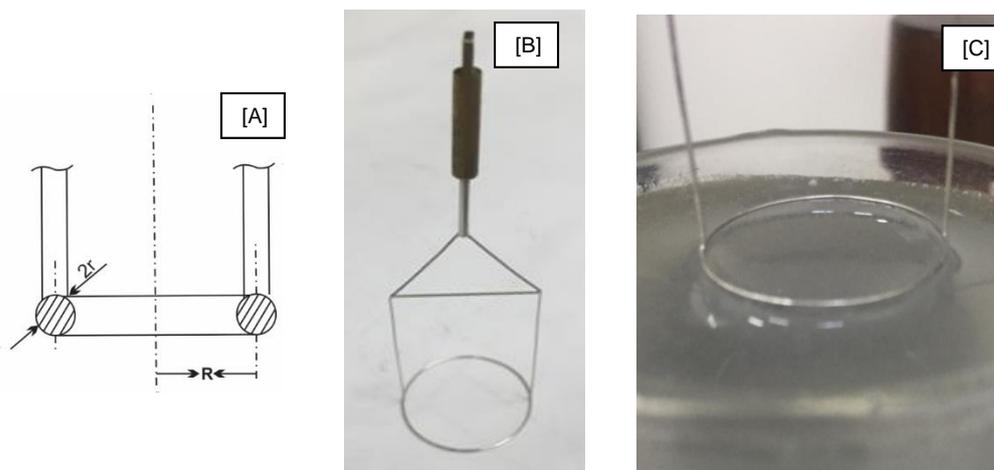


Figura 14 – Imagens do Anel de du Noüy. [A] Vista da seção transversal (Weser, 1980), [B] Foto do anel, [C] Anel com líquido-lamela quando atingindo a máxima força.

Ao levantar o anel, a tensão superficial está atuando ao longo de toda a sua linha molhada, em que o ponto de aplicação é executado em torno de toda a seção transversal do anel.

A Figura 15 mostra a resultante que, devido as forças atuantes no anel, atinge um máximo tão logo a tangente no ponto molhado é vertical à superfície. Este máximo é o ponto que deve ser medido. Por isso, normalmente não é necessário, como comumente assumido, levantar o anel até a ruptura (Weser, 1980).

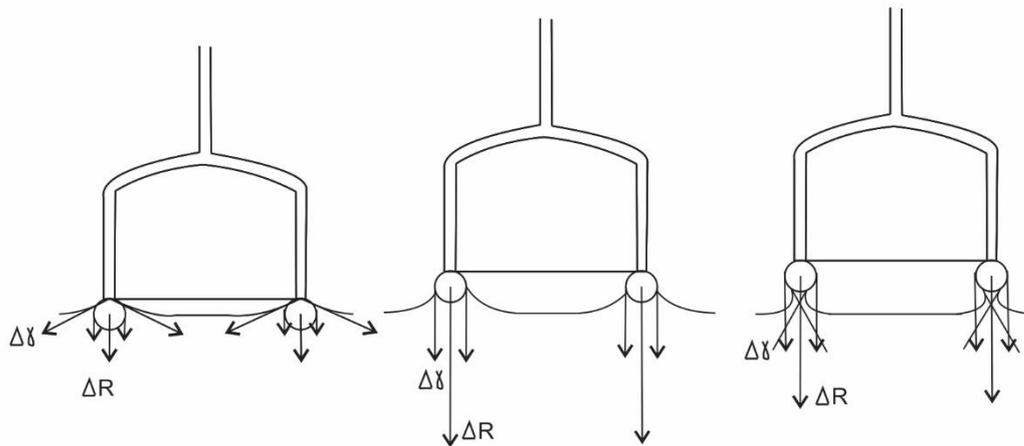


Figura 15 – Vista da seção transversal do anel com as fases da medição. (Adaptado de Weser, 1980).

Também o ângulo de umedecimento não tem (exceto de sua influência sobre a correção hidrostática) qualquer efeito sobre a medição.

4.3.4. Elasticidade da Espuma

A partir da curva de tensão interfacial versus concentração do surfatante é fácil extrair Γ_m , que é a concentração do surfatante na superfície que é medida em mol/cm² em vez do que a convencional mol/cm³ para concentração em massa. É muitas vezes chamado de "excesso de superfície", porque ela está tentando diferenciar entre os números de moléculas na superfície por razões positivas; como o cálculo requer uma construção teórica chamada de superfície dividida de Gibbs a qual por si própria divide a comunidade termodinâmica, podemos apenas começar usando para pensar de todas as referências como γ sendo, de senso comum, uma concentração superficial (Abbott, 2015).

A curva também exigiu um coeficiente de absorção K . A partir destes dois valores é possível calcular a elasticidade máxima, E , na máxima possível relevante concentração do surfatante, que é a CMC (Concentração Micelar Crítica), dado pela Equação (20):

$$E = -RT\Gamma_m K.CMC \quad (20)$$

Em primeiro, é preciso ver porque as idéias por trás disto são úteis (e porque elas estão sendo discutidas aqui), então, veja por que o valor real não é de muita ajuda. Observe que quando falamos de espumas, o valor de

elasticidade calculado por um método similar é de grande valor prático (Abbott, 2015).

Elasticidade (N/m) é o *stress* (equivalente à tensão superficial) necessário para produzir uma unidade de esforço - ou seja, para duplicar a área superficial. A definição clássica é que $E=2A\delta\gamma/\delta A$, a alteração da tensão superficial γ com área A . Quanto mais moléculas são empacotadas na interface (alto Γ_m), com uma grande vontade de estar lá (alto K) apoiado por uma alta concentração (alta CMC), mais resistente a interface é ao estiramento. Devido a interconexão destas variáveis na configuração idealizada usado no aplicativo, aumentando a CMC reduz K pelo mesmo valor, assim mudando a CMC não tem efeito sobre a elasticidade (ainda outro lembrete de que a CMC não é um parâmetro particularmente significativo). Diminuindo a tensão superficial de equilíbrio através de um "melhor" surfatante (baixa γ_C) diminui Γ_m , assim faz a interface menos elástica. Uma outra maneira de olhar para isto é que, se a energia interfacial é muito baixa, então é preciso muito pouco esforço para perturbar a superfície. Contudo uma outra maneira é lembrar que um baixo γ_C implica uma grande ($\gamma_0 - \gamma_C$), que é uma alta pressão de superfície Π , e uma alta pressão significa que há um empurrão que torna mais fácil para estender a interface (Abbott, 2015).

Porque é que a elasticidade calculada a partir do gráfico da tensão superficial é apenas "ideal" e não muito útil? Porque no mundo real, como a interface é esticada, abrindo um buraco de demanda energia, uma outra molécula de surfatante pode prontamente entrar para preencher a lacuna. Isto torna muito mais fácil para esticar a interface. Tentativas para medir a elasticidade de superfície tendem a levantar mais questões do que dão respostas como os resultados dependem fortemente da velocidade de medição. A baixas velocidades a elasticidade é próxima de 0, por causa do suprimento constante de moléculas novas, o que significa que a superfície ainda não sabe que ela está sendo esticada. A altas velocidades, ela será próxima do valor teórico (Abbott, 2015).

A primeira razão para os tensioativos ajudar a criar espumas, é que a superfície torna-se elástica. Isto significa que as bolhas podem suportar serem bombeadas, espremidas e deformadas. Uma superfície de água pura não tem tal elasticidade e as bolhas quebram rapidamente. Isso também significa que os sistemas que produzem mais elasticidade, terão outras coisas iguais, produzirão espumas mais estáveis. Além disso, como discutido anteriormente, uma parede que é dura e elástica geralmente fornece uma espuma com maior capacidade

de resistir a uma força de compressão e, por conseguinte, um limite de escoamento mais elevado. Bolhas menores também dão um maior limite de escoamento (Abbott, 2015).

Uma adição de surfatante causa o decréscimo da tensão superficial (γ) e conseqüentemente, a energia livre de coalescência ($\Delta G = -2\gamma$) ser menos negativa. Em flotação, no entanto, adições de espumante são tão pequenas que as mudanças de tensão superficial são mínimas. Por esta razão, Laskowski (2004) sugeriu que a tensão superficial estática pode não afetar diretamente a estabilidade de espuma, e que as "forças de elasticidade" podem desempenhar um papel mais importante (Wang & Yoon, 2008).

4.4. Reagentes de flotação

Reagentes de flotação são compostos orgânicos e inorgânicos empregados com o objetivo de controle das características das interfaces envolvidas no processo (Chaves, 2006).

Os reagentes utilizados na flotação dos minerais podem ser genericamente classificados três tipos: coletores, espumantes e reguladores (King, 1982).

Coletores são os reagentes que tornam hidrofóbicos os minerais de interesse, Eles são usualmente compostos surfatantes, entretanto muito deles, especialmente os de cadeia curta, não são ativos na superfície na interface água-ar. Eles se compõem de um grupo funcional polar, de caráter hidrofílico, através do qual eles aderem ao mineral e uma porção não polar hidrofóbica, através da qual eles se aderem à bolha de ar. A cauda hidrofóbica é normalmente uma cadeia hidrocarbônica, mas, mais recentemente caudas de fluorcarbonos e silanos tem sido investigadas. Os coletores podem ser divididos em um número de sub-grupos baseados no grupo funcional envolvido e no tipo de mineral coletado (King, 1982).

Reguladores ou modificadores são utilizados pois frequentemente os coletores não se aderem adequadamente ao mineral de interesse, ou os coletores se aderem aos minerais de ganga também. Portanto, os reguladores são os reagentes que asseguram que somente as partículas corretas sejam flotadas; eles podem ser divididos em três tipos (King, 1982):

- a) Ativadores, que melhoram a ação de adesão dos coletores às partículas de interesse;

- b) Depressores, que asseguram que os outros minerais que não os de interesse não flodem, pela intensificação do caráter hidrofílico da ganga;
- c) Modificadores de pH, os quais como o próprio nome diz, modificam o pH da polpa para aquele em que as condições ótimas de coleta, ativação ou depressão sejam atingidas.

Espumantes são uma classe de surfatantes que são ativos na interface ar-água, a maioria dos espumantes são compostos heteropolares compreendendo um grupo polar (hidrofílico), tipicamente hidroxil, e uma cadeia carbônica hidrofóbica (Wills & Finch, 2016). Quando as moléculas ativas na superfície estão na água, os dipolos da água combinam prontamente (pontes de hidrogênio) com os grupos polares, mas praticamente não tem reação com os grupos hidrocarbônicas não polares, então a molécula da estrutura heteropolar do espumante leva a sua adsorção na interface ar-água, com os grupos não polares orientados para o ar, e os grupos polares para a água. O espumante então, controla as propriedades da interface ar-água (Wills & Finch, 2016). São usualmente não iônicos, moléculas cuja função no sistema de flotação são prover uma grande interface ar-água de suficiente estabilidade para assegurar que uma partícula flotada não caia novamente na polpa antes de ela ser removida da célula. Espumantes também tem influência na cinética de adesão das partículas às bolhas (King, 1982). Eles também são divididos em grupos dependendo do seu tipo molecular. O tipo de espuma produzida por um certo espumante irá depender da natureza do coletor, do tipo e tamanho do mineral sendo flotado e da ganga, e a presença de outras espécies orgânicas ou inorgânicas em solução, bem como o tipo de espumante sendo utilizado. Fatores mecânicos, como tipo, tamanho e aeração da célula de flotação são também importantes (King, 1982).

4.5. Espumantes

Os espumantes desempenham papel importante na flotação. Uma vez que eles tem um impacto direto na característica da espuma, e portanto afetam variáveis relacionadas ao aprisionamento de partículas indesejáveis; a apropriada seleção deste reagente é fundamental para o desempenho completo da flotação (Melo, 2005).

É conhecido que os espumantes (Melo, 2005):

- a) Reduzem o tamanho das bolhas
- b) Estabilizam a espuma

Os espumantes devem também atender alguns requisitos a fim de ser assegurada sua aplicação industrial. Os mais importantes são resumidamente os seguintes (Melo, 2005):

- a) Deve ser de fácil dispersão no meio;
- b) Deve ter uma estrutura inerte que não interfira e seja compatível com a qualidade e funcionalidade dos demais reagentes usados na flotação;
- c) Não deve ser afetado pela mudança de pH do meio na célula de flotação;
- d) Deve gerar uma espuma capaz de suportar uma grande quantidade de material;
- e) A espuma contendo minerais de interesse, uma vez removida da célula de flotação, deve ser facilmente quebrada para permitir operações subsequentes;
- f) Deve ser barato, disponível e não ter impactos negativos ao meio ambiente, quando usado em larga escala.

4.5.1. Classificação dos espumantes

Na literatura existem diversas classificações dos espumantes em função de suas propriedades e comportamento na solução e polpa. Quatro métodos de classificação comumente utilizados são baseados na sensibilidade ao pH, solubilidade, habilidade de espumar e coletar, e relação seletividade/força de espumação. As outras classificações são tentativas porque os compostos usados como espumante tem sido ou ainda são produtos patenteados e sua estruturas raramente são divulgadas (Khoshdast & Sam, 2011).

4.5.2. Classificação baseada na sensibilidade de pH

Dudenkov e Galikov (1969) classificaram os espumantes de acordo com o seu comportamento em diferentes valores de pH e esta classificação, mostrada na Tabela 1, é utilizada até hoje (Khoshdast & Sam, 2011).

Tabela 1 – Classificação de espumantes baseados na sensibilidade ao pH

Ácido	Neutro	Básico
Fenóis Alquil sulfonatos	Alcoois alifáticos Alcoois cíclicos e óleos naturais Parafinas alcoxi Éteres de polipropileno glico Éteres de poliglico Éteres de poliglicol glicerol	Base piridina

Fonte: Adaptado de Khoshdast & Sam (2011).

4.5.2.1.

Espumantes ácidos

Estes espumantes trabalham bem somente em pHs ácidos. Em meios alcalinos, suas propriedades de espuma são reduzidas. Os espumantes ácidos foram amplamente utilizados até a década de 1960. A sua aplicação diminuiu devido a considerações de ordem ambiental. Os dois seguintes grupos de espumantes têm sido utilizados em plantas de processamento de minerais: fenóis e alquil sulfonatos (Khoshdast & Sam, 2011).

a) Fenóis

Fenóis são também conhecidos como alcoóis aromáticos. A fórmula geral dos principais membros destes espumantes são mostradas na Figura 16. Estes espumantes são obtidos como subprodutos durante a gaseificação do alcatrão de carvão e/ou destilação de petróleo. O principal problema associado ao uso de fenóis como espumante é sua composição variável, que depende da fonte da qual o espumante é derivado (Khoshdast & Sam, 2011).

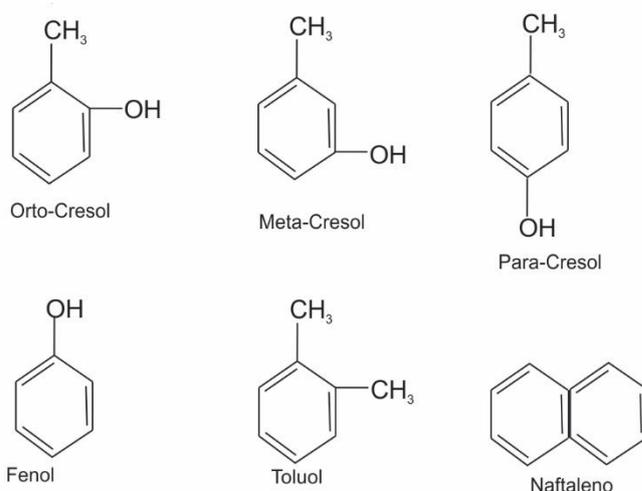


Figura 16 – Estrutura química dos principais componentes de fenóis.

Toluol (tolueno) é outro membro dos espumantes fenólicos o qual ocorre naturalmente na fase leve do petróleo e é usualmente produzido nos processos de obtenção de gasolina através de uma reforma catalítica, em um craqueamento de etileno ou fabricação de coque a partir do carvão. A separação final (via destilação ou extração por solventes) acontece em uma planta BTX (Benzeno, Tolueno, Xileno). O xilenol (xileno) também pertence ao tipo de espumante alcoóis aromáticos; este espumante é uma mistura de isômeros de xilenol. A estrutura química dos isômeros de xilenol são mostradas na Figura 17. O grupo metil pode assumir seis arranjos diferentes. A posição 3,4- é a mais abundante. Xilenóis são obtidos da destilação do carvão. Similar aos fenóis, estes espumantes têm composição variável.

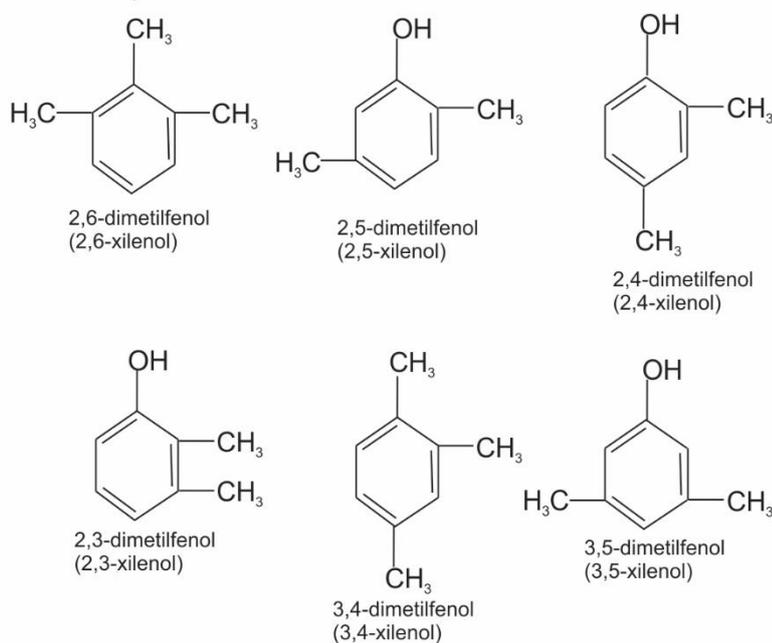


Figura 17 – Estrutura química dos isômeros de xilenol.

O espumante mais típico do tipo fenólico é o ácido cresílico (de fato não é um ácido), consiste de uma mistura de fenóis contendo quantias variáveis dos três isômeros de cresol (Figura 16), xilenol e outras frações com alto ponto de ebulição (Khoshdast & Sam, 2011).

Cresóis são produtos da acidulação do toluol. Os três isômeros de cresol têm fortes propriedades de coleta. Sua popularidade diminuiu quando o circuito de moagem ácida saiu de moda; no entanto, eles ainda são populares na flotação de carvão por causa de sua disponibilidade de fornos de coque.

As espumas produzidas por ácidos cresílicos são geralmente similares na estrutura daquelas do óleo de pinho, mas de um pouco maior tamanho de bolhas.

Um aumento na dosagem do espumante, decresce o volume da espuma e produz uma tendência a efervecer. As frações de menor ponto de ebulição produzem uma espuma mais frágil e são um pouco mais seletivas (Khoshdast & Sam, 2011; Crozier, 1992).

Fenóis e xilenóis podem ser adicionados ao *Talloyl* (ácidos graxos) para melhorar a seletividade bem como sua força. Uma mistura de *talloyl* e cresol tem sido usada com sucesso na flotação de espodumênio e fenacita (Crozier, 1992).

b) Alquil sulfonatos

Alquil (alquilaril) sulfonatos podem ser descritos como espumante aniônico com uma estrutura que é composta de hidrocarbonos aromáticos e radicais alifáticos. Apesar do fato destes espumantes terem boas propriedades de espumação, sua aplicação é limitada, porque a maioria dos espumantes de alquilaril sulfonatos contém traços de enxofre, que interfere na flotação (Bulatovic, 2007). A Figura 18 mostra a fórmula química destes espumantes.

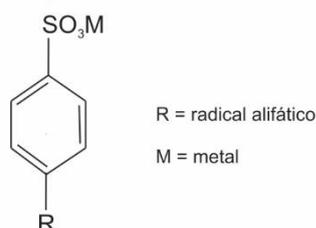


Figura 18 – Estrutura química dos alquil sulfonatos (adaptado de Khoshdast & Sam, 2011).

4.5.2.2.

Espumantes básicos ou alcalinos

Estes espumantes são representados pela piridina e homólogos recuperados como subprodutos da destilação do alcatrão de carvão. Eles são usados para flotação de minérios de metais base. Na Europa, um produto similar foi usado para produzir um coletor aplicado na flotação de minerais de óxido de chumbo. As seguintes duas estruturas são usadas como espumantes (Bulatovic, 2007). A Figura 19 mostra as fórmulas químicas destes espumantes.

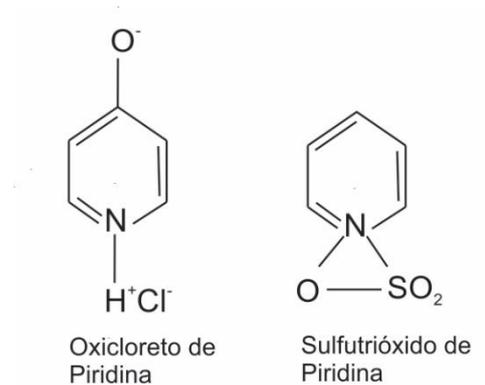


Figura 19 – Estrutura química de dois espumantes básicos usados comercialmente (Bulatovic, 2007).

4.5.2.3.

Espumantes neutros

Este é o grupo mais importante de espumantes, largamente usados na flotação de minérios de metais base, minerais oxidados e minerais industriais. Eles são funcionais em polpas ácidas ou alcalinas. Estes espumantes são divididos em seis subgrupos, com enormes diferenças na composição química (Khoshdast & Sam, 2011).

a) Alcoóis alifáticos

Estes espumantes são misturas de alcoóis contendo de 6 a 8 átomos de carbonos. Eles foram comercializados, pela DuPont e ainda são pela Solvay (anteriormente Cytec e Cyanamid) e outros fabricantes, como espumantes customizados para tipos de minérios específicos. O espumante mais conhecido deste grupo é o metil isobutil carbinol (MIBC ou 4-metil-2-pentanol) e 2-etil hexanol (4-heptanol). A empresa Solvay produz o MIBC sob o nome comercial de AF70 (Cytec, 2002) e a empresa Celanese pelo próprio nome MIBC.

A Figura 20 mostra as fórmulas extendidas dos espumantes de alcoóis alifáticos.

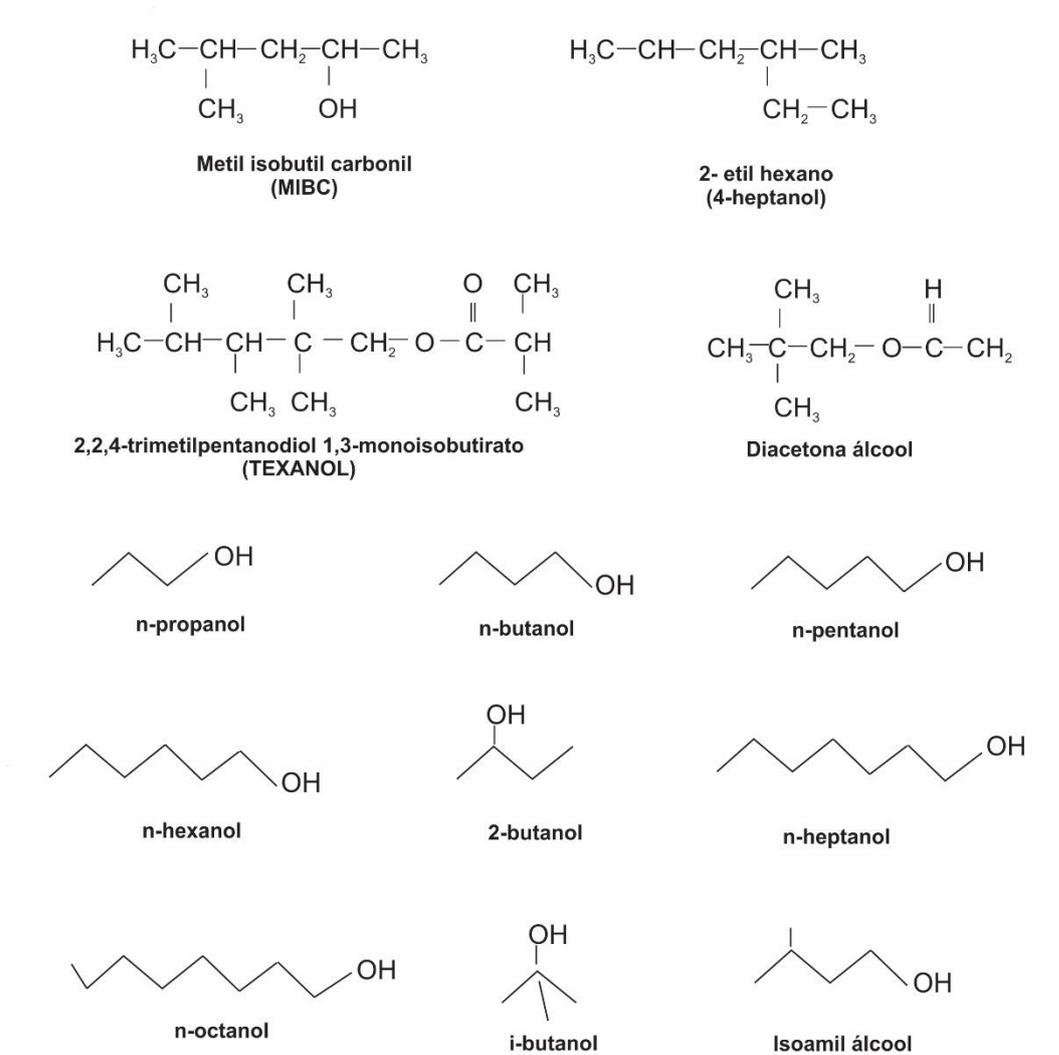


Figura 20 – Estrutura química dos álcoois alifáticos.

O propanol é fabricado comercialmente por hidrogenação catalítica do propionaldeído. Pentanol pode ser preparado pela destilação fracionada de *fusel oil*. Alcoóis mais pesados são produzidos industrialmente pela oligomerização do etileno usando trietilalumínio seguido pela oxidação dos produtos de alquilalumínio (Khoshdast & Sam, 2011).

Espumantes de álcool alifático são usados como mistura de diferentes tamanhos de cadeias carbônicas e como misturas de óleos de hidrocarbonetos. As seguintes misturas são comuns na flotação mineral (Khoshdast & Sam, 2011):

- Misturas de alcoóis de C6-C9 : densidade 0,856, viscosidade de 5 cP, baixa solubilidade em água e ponto de fulgor de 52 °C. Estes espumantes são considerados altamente seletivos.

- Misturas de alcoóis de C4-C7 e óleos de hidrocarbonetos: líquido ambar com densidade 0,82 , viscosidade de 4,5 cP , solubilidade em água de 5 g/L e

ponto de fulgor de 44 °C. Estes espumantes são usados durante flotação de molibdênio ou cupromolibdênio, e também são recomendados para flotação de minerasi como talco, grafite, enxofre e carvão . Alcoóis de C4 misturado a alcoóis de C7 produzem espuma mais forte do que MIBC.

- Mistura de alcoóis de C5 – C8 : densidade de 0,81 a 0,83 , viscosidade de 6,9 cP , solubilidade em água de 10 g/L , faixa de ebulição de 135 – 140 °C e ponto de fulgor de 55 °C. Estes espumantes dão espumas menos persistentes do que outras misturas de alcoóis.

b) Alcoóis cíclicos e óleos naturais

Estes espumantes são basicamente misturas de diferentes alcoóis cíclicos, éteres, terpineóis e cetonas. Os quais podem ser produzidos como misturas sintéticas ou de resinas de pinho. A estrutura básica dos diferentes componentes dos espumantes de alcoóis cíclicos e óleos naturais são mostradas na Figura 21. O álcool cíclico mais abundante nas misturas espumantes são terpineóis (i.e. 90%), seguido por borneol e pineno. Terpineol ocorre naturalmente como álcool monoterpeneo que pode ser isolado de uma variedade de fontes como óleo de *petitgrain*, óleo de pinho e óleo de *cajeput*. Além disso terpineóis são mais prontamente produzidos de α -pineno. Borneol pode ser sintetizado pela redução de cânfora pelo processo Meerwein-Ponndorf-Verley. Fencil álcool pode ser preparado pela redução de Fenchona durante a sua purificação. Pineno como o nome sugere, ambas as formas são importantes constituintes de resina de pinho. Eles também são encontrados em resinas de muitas outras coníferas, e mais amplamente em outras plantas. α -pineno é produzido de geranil pirofosfato, via ciclização de *linaloyl* pirofosfato seguido da perda de um proton de íons de carbono equivalente (Khoshdast & Sam, 2011).

Espumantes de alcoóis cíclicos são menos sesitivos a presença de minerais de argila do que outros tipos de espumantes e eles são então extensamente usados em misturas com espumantes de álcool alifático para flotação de metais base e minérios de cobre porfirítico contendo minerais de argila. Eles são usados também como aditivo de *talloil* (ácido graxo) em flotação com ácidos graxos para melhorar a estabilidade da espuma (Bulatovic, 2007).

O maior problema no uso de óleos naturais e espumantes de álcool cíclicos derivado de fontes naturais é que sua composição não é sempre constante e as propriedades de espumação são variáveis. Nos primeiros dias da flotação óleo de eucálio foi um espumante e coletor popular. Mais tarde óleo de pinho se tornou o espumante de óleo natural dominante, por causa de sua grande

disponibilidade no mundo ocidental. Essencialmente todos os países plantadores de pinho, como Canadá, USA, Finlândia, China, etc., forneceram óleos de pinho de diferentes graus em um momento ou outro, mas do ponto de vista da flotação os problemas que os operadores de plantas de processamento encontraram é difícil de especificar um determinado grau e obter o mesmo desempenho do espumante de diferentes fornecedores. Este problema e o fato de que óleos naturais tem propriedades coletoras, tornou-os menos populares entre os operadores de usinas de processamento modernas, que agora preferem o MIBC e espumantes sintéticos solúveis não coletores. Aqueles que usam óleo de pinho enfatizam suas bolhas pequenas, espumas densas que não permitem quedas de partículas mas quebram prontamente ao sair da célula de flotação (Khoshdast & Sam, 2011).

A espuma de óleo de pinho densa torna melhor a recuperação, mas diminui o teor do concentrado. Aumentando a quantidade de óleo de pinho alimentado na célula tende a nivelar a espuma, diminuir seu volume e causar respingos de superfície. Também pode ser usado em misturas com MIBC para regular as características da espuma e compensar as mudanças no minério que podem afetar a seletividade e a recuperação primária. Especificações típicas de óleo de pinho a ser usado como espumante são: limpidez, óleo amarelado, com cheiro típico, temperatura de ebulição entre 170 – 228 °C, densidade de 0,915 a 0,935. Ao menos 44 % em peso da composição deve ser de alcoóis (expressado como terpineol). No mínimo 78% deve ser destilado entre 170 e 220 °C. A solubilidade média em água deve ser de aproximadamente 2,5 g/L. Por exemplo, uma análise típica de óleo de pinho comercial é : α -terpineol 60-70%, alcoóis terciários 10%, e alcoóis borneol e fencil de 10-15%, cânfora 10-15%. Típicas propriedades são: densidade 0,927-0,940, faixa de destilação 200-235 °C, ponto de fulgor de 172 °C . O óleo de eucalipto tem uma grande ação coletora porque eles são mais ricos em cetonas que o óleo de pinho, que contém primariamente cânfora, enquanto as cetonas do óleo de eucalipto são cineolas e piperitonas em vez de cânfora, e borneol e piperoteol, assim como terpenos. Seu principal componente odorífero é o éter 1,8-cineole em vez de cetona canforada. Típicos óleos de eucalipto disponíveis atualmente tem densidade de 0,921-0,923 , faixa de destilação 174-177 °C e solubilidade em água de 1,4 g/L (Crozier, 1992).

Anetol é comercialmente preparado de alguns óleos essenciais, incluindo anis, funcho e anis estrelado. Eucaliptol ou 1,8-cineole compreende até 90% de óleo essencial da mesma espécie do produto genérico óleo de eucalipto, então assim nominado. É também encontrado em louro cânfora, louro, árvore-de-chá,

artemísia, basilicão doce, absinto, alecrim, sálvia e outras folhagens aromáticas. Eucalipto com pureza de 99,6 a 99,8 % pode ser obtido em grande quantidade por destilação fracionada de óleo de eucalipto. Cânfora pode ser produzido de α -pineno. Com ácido acético como solvente e com catálise por um ácido forte, α -pineno prontamente rearranja em canfeno, o qual por sua vez sofre rearranjo Wagner-Meerwein em isobornil cátion, que é capturado pelo acetato para dar isonornil acetato. Hidrólise em isoborneol seguido de dehidrogenação dá cânfora. Em biossíntese, cânfora é produzida de geranil pirofosfato, seguido por hidrólise para borneol e oxidação a cânfora. Piperitona é uma monoterpene cetona natural que é um componente de alguns óleos essenciais (Khoshdast & Sam, 2011).

Fenchona é um constituinte de absinto e óleo essencial de funcho, para sua purificação as substâncias acompanhantes encontradas na fração 190-195 °C são removidas por oxidação com ácido nítrico concentrado ou solução de permanganato. Fenchona sendo muito estável para agentes oxidantes é afetado muito pouco. Tendo assim sido purificado em uma medida justa, ele congela no frio e pode ser posteriormente purificado por cristalização. Entretanto pequenas quantidades de cânfora, resultante da oxidação de borneol ésteres, não podem ser removidas desta maneira. Artificialmente, fenchona é obtida pela oxidação de fenchil álcool (Khoshdast & Sam, 2011).

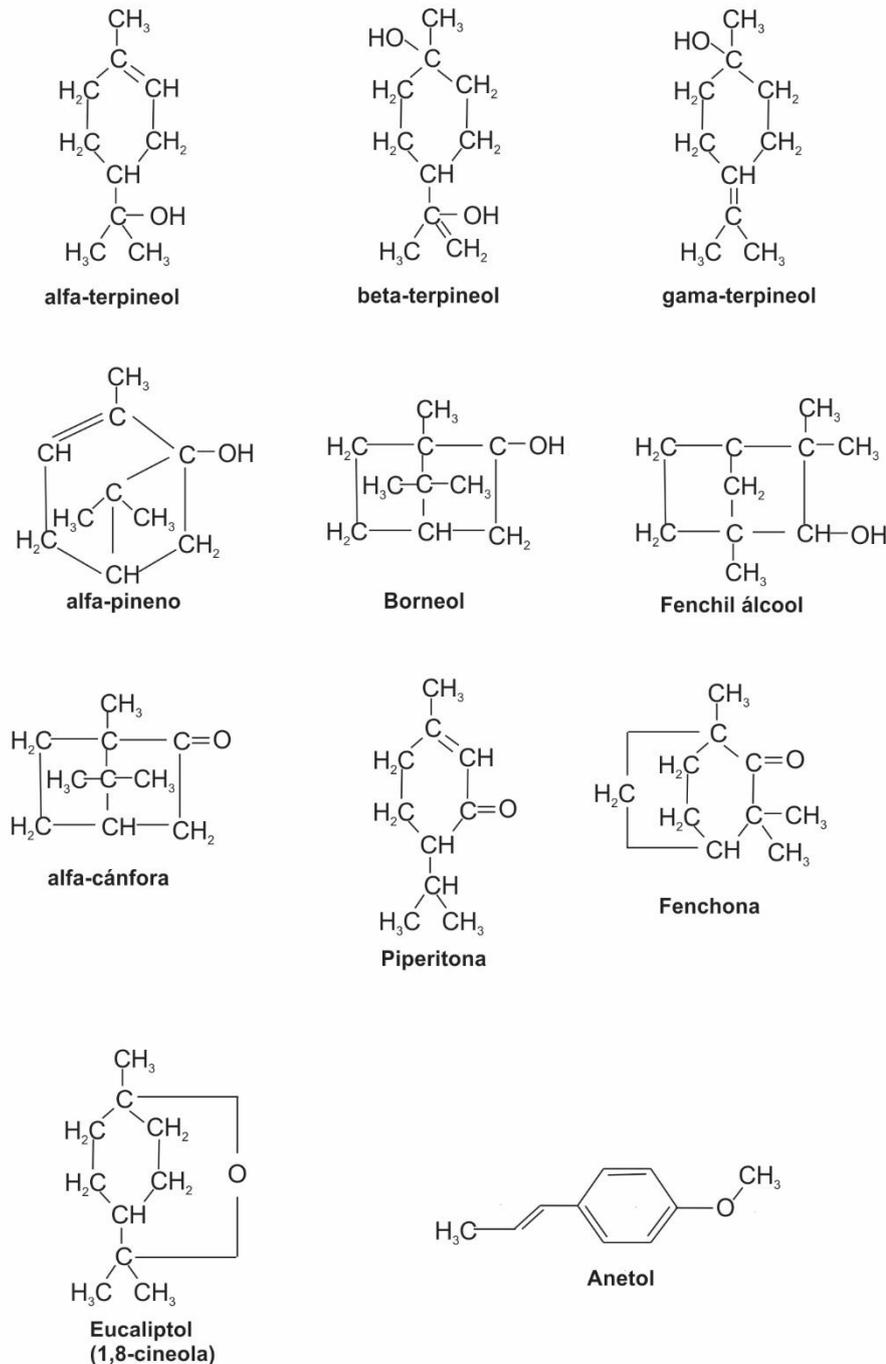


Figura 21 – Estrutura química de diferentes componentes de álcoois cíclicos e óleos naturais (adaptados de Bulatovic, 2007 e de Crozier, 1992).

c) Alcóxi parafinas

Este grupo de espumantes foi desenvolvido em 1953 pelo Dr. Powell da Africa do Sul. Nos últimos anos um número de espumantes foi produzido baseado em duas estruturas principais de TEB (1,1,3-trietoxibutano) e acelerador de Powell, assim denominado porque tem um forte efeito na velocidade de flotação (Figura 22). O acelerador de Powell é um espumante mais

potente do que o TEB, mas por outro lado tem características similares, i.e. baixa solubilidade em água, boa estabilidade, e um efeito forte na velocidade de flotação. Somente limitadas informações estão disponíveis sobre a química e propriedades destes espumantes, entretanto eles são extensivamente utilizados na flotação de metais base e minérios de minerais oxidados. Suas propriedades espumante são muito diferentes dos alcoóis cíclicos e anfipáticos com respeito à estabilidade da espuma e sensibilidade a presença de minerais de argila. As espumas que estes reagentes produzem são similares aquelas do óleo de pinho, exceto que a sobrealimentação não afeta muito o carácter da espuma. Eles são seletivos e em muitos casos melhoram a velocidade da flotação de minerais de cobre e zinco. Estes espumantes são muito efetivos durante a flotação de minerais de óxido de cobre usando o método de sulfidização (Bulatovic, 2007; Crozier, 1992).

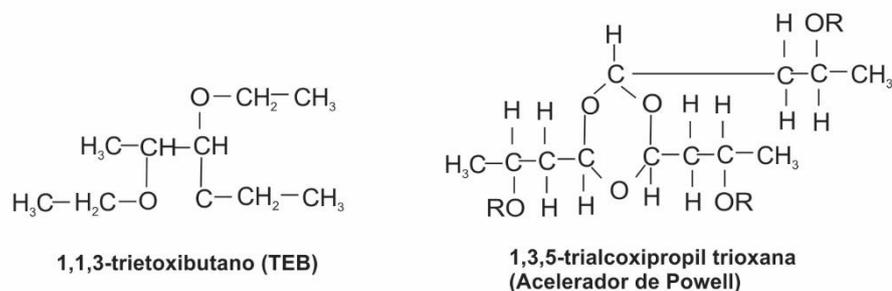


Figura 22 – Estruturas químicas das duas principais alcóxi parafinas (adaptadp de Bulatovic, 2007).

d) Poliglicol éteres

Em suas patentes, Tveter (1952) na Dow Chemicals Company e Booth (1954) na American Cyanamid, primeiro desenvolveram a série de espumantes de poliglicol éter que são completamente missíveis em água. Estes espumantes são fabricados de fluido de freio e eles são metóxi polipropileno glicóis ou polipropileno glicol metil ésteres. Existem diversas variações de poliglicol ésteres produzidos por diferentes fabricantes, como a Dow Chemical Company sob o nome Dowfroth (DF#), pela Union Carbide como espumantes Ucon, pela Cyanamid (hoje Cytec) como Aerofroth (AF#), pela ICI como Tecfroths, etc. Com o MIBC eles somam próximo de 90% de todos os espumantes usados em flotação de minérios metálicos. As três estruturas básicas destes espumantes são mostradas na Figura 23 (Bulatovic, 2007; Crozier, 1992).

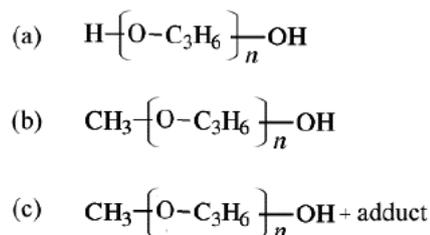


Figura 23 – Diferentes estruturas de espumantes poliglicóis ésteres (Bulatovic, 2007).

Os Dowfroths são usualmente metoxi polipropileno glicóis, com estrutura (a), por exemplo DF-200, DF-250 e DF-1012. P Dowfroth 250 é um dos mais comuns espumantes éster usados, que pode ser feito pela reação do metanol com óxido de propileno. O Dowfroth 1400 é um diol de peso molecular 400, com a estrutura (b), Os produtos Cytec (ex-American Cyanamid) são condensações de óxido de propileno com propileno glicol. O Aerofroth 65 (AF-65) é um exemplo deste tipo de produto, que é preparado pela reação do óxido de propileno com água. A Union Carbide fornece produtos similares baseados em polipropilenos glicóis e polietileno glicol, sob a marca de PPG e Ucon. Alguns poliglicóis éteres são também produzidos pela condensação com butanol ou óxido de etileno (estrutura (c)), ou resultado de um produto da reação de butanol com soda cáustica. O Dowfroth 1263 é um exemplo destes éteres, que é feito pela reação do DF-250 com óxido de butileno (Bulatovic, 2007; Crozier, 1992).

O peso molecular e o comprimento da cadeia carbônica dos espumantes poliglicol éter determina a força e o desempenho. Um espumante de alto peso molecular dá espuma mais persistente e menos seletividade do que um espumante de menor peso molecular. Infelizmente os poliglicóis éteres de diferentes fabricantes agem diferentemente. Por exemplo, o espumante poliglicol éter da Hoechst produz espuma com mais seletividade do que aquela obtida pelo produto da Dow Chemical Company. Os poliglicóis éteres produzidos de butanol e óxido de etileno são mais seletivos e tem melhor força carreadora do que os espumantes similares produzidos de butanol e soda cáustica (Bulatovic, 2007),

e) Polipropileno glicol éteres

Estes espumantes de éteres não-iônicos são parcialmente solúveis em água, e são uma mistura de monometil éteres de polipropilenoglicol, que foram primeiramente fornecidos pela Dow Chemical como DF-4082 e Union Carbide como R17 e R48. Estes espumantes são normalmente usados em flotação de metais base. Eles produzem espuma persistente e tem força de carregamento relativamente alta (Bulatovic, 2007; Crozier, 1992).

A Figura 24 mostra a fórmula destes espumantes.

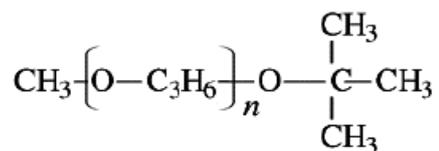


Figura 24 – Estrutura química do polipropileno glicol (Bulatovic, 2007),

f) Poliglicol glicerol éteres

Originalmente, estes espumantes foram desenvolvidos na União Soviética sob a marca de Frother E1 e em 1985 a Dow Chemical, sob os nomes comerciais XK35004.00L, XK35004.01L e XK35004.02L, produziu espumantes similares. Um exemplo, uma segunda família, é o produto da reação de glicerol com óxido de propileno para um peso molecular de 450 (Bulatovic, 2007; Crozier, 1992).

A fórmula geral destes espumantes é mostrada na Figura 25.

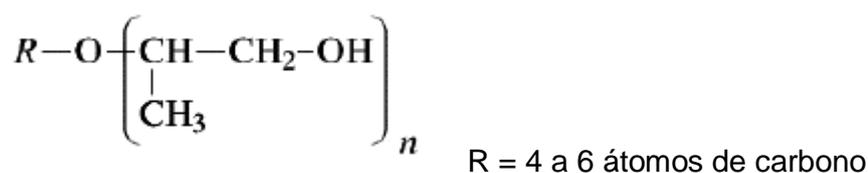


Figura 25 – Estrutura química dos poliglicol glicerol éteres (Bulatovic, 2007)..

4.6. Micro-organismos

As células biológicas são classificadas em dois grupos principais: os eucariotos (do grego: *eu*, bom ou verdadeiro + *karion*, grão ou noz), que possuem um núcleo envolto por uma membrana contendo o DNA (ácido desoxirribonucleico), e os procariotos (do grego: *pro*, antes), que não possuem núcleo. Os procariotos, que compreendem os vários tipos de bactérias, possuem estruturas relativamente simples e são invariavelmente unicelulares (embora possam formar filamentos ou colônias de células independentes). Estima-se que representem a metade da biomassa da Terra. (Voet & Voet, 2013)

As células procarióticas têm tamanhos que variam de 1 a 10 μm . Elas apresentam três formas básicas: esferoidal (cocos), em forma de bastão

(bacilos), ou helicoidal (espirilos), mas todas apresentam o mesmo esquema geral. Como todas as células, elas são delimitadas por uma membrana celular de ~ 70 Å de espessura (membrana plasmática), que consiste em uma bicamada lipídica contendo proteínas inseridas que controlam a passagem de moléculas para dentro e para fora da célula e catalisam uma grande variedade de reações. As células da maioria das espécies procarióticas são envoltas por uma parede celular polissacarídica rígida e com espessura de 30 a 250 Å que protege a célula contra dano mecânico e impede sua ruptura em meio hipotônico. Algumas bactérias ainda são revestidas por uma cápsula polissacarídica gelatinosa que as protege das defesas dos organismos superiores. A membrana plasmática dos procariotos pode ser dobrada em estruturas multicamadas conhecidas como mesossomos (Voet & Voet, 2013).

Os procariotos utilizam uma ampla variedade de fontes de energia metabólica, e as necessidades nutricionais dos procariotos são muito variadas.

4.6.1. Classificação

Os métodos tradicionais de taxonomia (a ciência da classificação biológica) não são aplicáveis aos procariotos. Isso se deve às suas estruturas celulares relativamente simples, que fornecem pouca indicação de seu relacionamento filogenético (filogenia: desenvolvimento evolutivo). Parte desse problema está no fato de que os procariotos exibem uma correlação pequena entre forma e função metabólica. Os procariotos se reproduzem assexuadamente. Consequentemente, os sistemas convencionais de classificação procariótica são arbitrários. No sistema de classificação mais amplamente utilizado, os procariotos (também conhecidos como monera) dividem-se em dois grupos: as cianobactérias e as bactérias. As bactérias são subdivididas em 19 subgrupos com base em suas características distintas, particularmente a estrutura celular, o comportamento metabólico e as propriedades de coloração. Uma classificação mais simples, com base nas propriedades da parede celular, distingue três tipos principais de procariotos: os micoplasmas, as bactérias gram-positivas e as bactérias gram-negativas. Os micoplasmas não possuem parede celular rígida, encontrada nos demais procariotos. As bactérias gram-positivas são distinguidas das gram-negativas de acordo com a capacidade de captar a coloração de Gram (procedimento desenvolvido por Christian Gram em 1884, no qual as células fixadas pelo calor são tratadas sucessivamente com corante roxo cristal e iodo

e descoradas com etanol ou acetona). Como mostrado na Figura 26, as bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa complexa que envolve sua parede celular e exclui a coloração de Gram, enquanto as gram-positivas não possuem essa membrana (Voet & Voet, 2013).

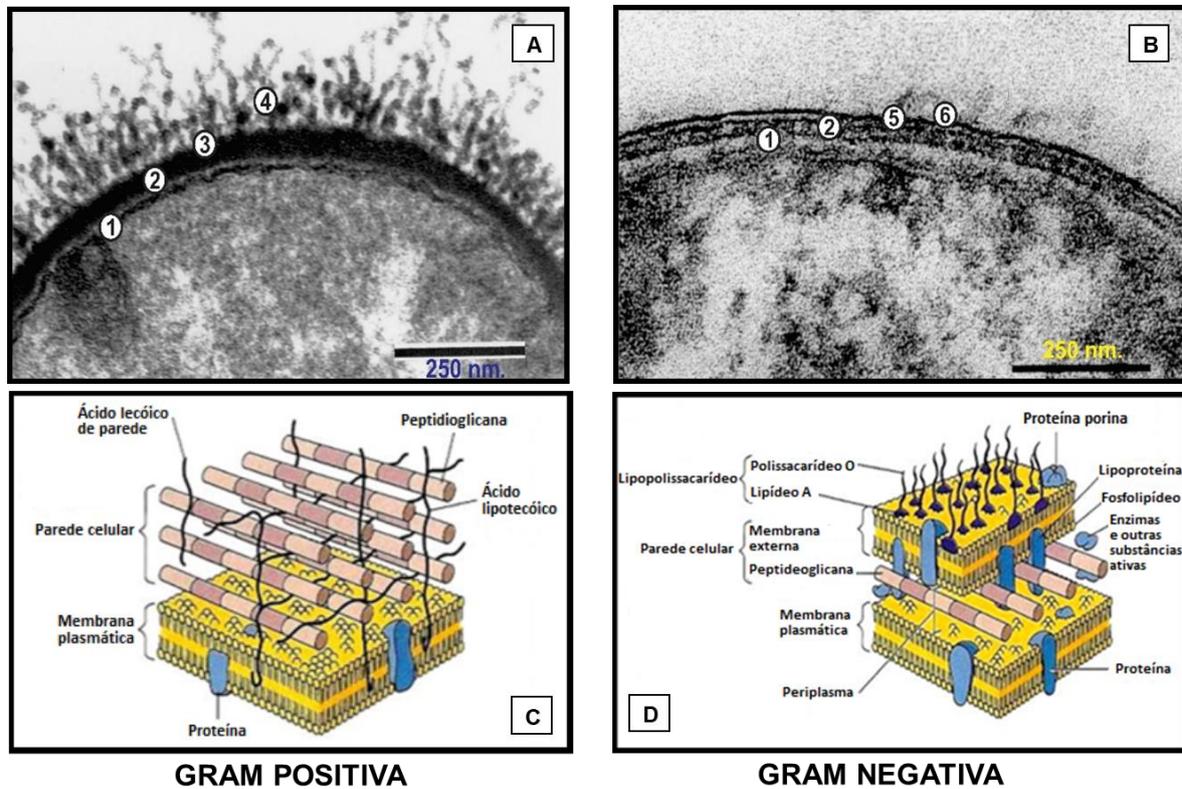


Figura 26 – Fotos e desenhos esquemáticos das paredes celulares das bactérias (adaptado de Hacha, 2016): 1) membrana plasmática; 2) peptidoglicano; 3) proteínas; 4) fibrilas; 5) espaço periplásmico; 6) membrana externa.

([A] Mesnage et al., 1998; [B] Beveridge, 1999; [C] e [D] Conceição, 2010),

Hacha (2016) escreveu que a maioria dos micro-organismos com características de biorreagentes são compostos na sua estrutura de membrana celular, parede celular ou algum outro envoltório de diversos componentes, tais como: peptideoglicano, polissacarídeos, ácidos orgânicos, substâncias poliméricas extracelulares (EPS), proteínas e lipídeos (Hogg, 2005; Van der Wal et al., 1997). Estas biomoléculas possuem grupos funcionais (Tabela 2) que fornecem ao micro-organismo características similares às dos reagentes de flotação convencionais (Mesquita, 2003).

Ainda segundo Hacha (2016), o conhecimento da estrutura do biorreagente facilita o entendimento do tipo de interação que venha a ocorrer

entre o micro-organismo e o mineral. Bactérias Gram-positivas apresentam uma grande quantidade de peptídeoglicana na sua estrutura enquanto que as bactérias Gram-negativas contêm uma quantidade maior de ácidos teicóicos. A presença destas duas biomoléculas indica uma possível interação por troca iônica (Volesky, 2007).

Tabela 2 – Principais grupos funcionais presentes na parede celular das bactérias

Grupo funcional	Fórmula estrutural	Átomo ligante	Ocorrência
Hidroxila	-OH	O	PS, AU, AA
Carbonilo (Cetona)	>C=O	O	Ligação peptídica
Carbóximo	-COOH	O	AU, AA
Sulfidril (Tiol)	-SH	S	AA
Sulfonato	-S(O) ₃	O	SPS
Tioéter	>S	S	AA
Amina primária	-NH ₂	N	QT, AA
Amina secundária	>NH	N	PG, ligação peptídica
Amida	-C(=O)-NH ₂	N	AA
Imina	=NH	N	AA
Imidazol	-C-N-H	N	AA
	> C		
Fosfonato	H-C-N	O	FL
	-P=O-(OH) ₂		
Fosfodiéster	>P=O-OH	O	AT, LPS

Fonte: Adaptado de Volesky (2007).

Nota: PS: polissacarídeos; AU: ácido úrico; QT: Quitosana; PG: Peptidoglicana; AA: Aminoácido; AT: Ácido teicóico; FL: Fosfolípidos; LPS: Lipopolissacarídeos.

4.6.2. Micro-organismos no beneficiamento mineral

Há vários séculos que se sabe ser possível extrair metais por lixiviação. Por processo biológico é bem mais recente; a primeira biolixiviação comercial que se tem registro é nos anos 1890 numa mina da Rio Tinto para extração de cobre em lixiviação em pilhas com o uso da bactéria *Thiobacillus ferrooxidans* (reclassificado como *Acidithiobacillus*). (Salkield, 1987).

Alguns micro-organismos são capazes de produzir substâncias tensoativas. As bactérias em suas paredes celulares produzem uma gama de proteínas e polissacarídeos, donde por procedimentos específicos se pode extrair biorreagentes que apresentam características surfatantes similares aos reagentes sintéticos utilizados na flotação (Hacha, 2016).

A hidrofobicidade das bactérias pode ser considerada o fator mais importante na aplicação destes micro-organismos no beneficiamento mineral. Dependendo do gênero e espécie, elas podem exibir carácter hidrofóbico ou

hidrofílico. Além disso, vários autores (Botero et al., 2007; Mesquita et al., 2003) atribuíram o grau de hidrofobicidade à proporção de grupos graxos quanto aos grupos funcionais hidrofílicos presentes na superfície da célula, e ao carácter ácido/básico da superfície da célula. Foi afirmado que a presença de polissacarídeos na superfície celular, proporciona um comportamento hidrofílico para as bactérias e minerais que interagem com elas, enquanto que compostos de proteína fornecem um carácter hidrofóbico (Deo & Natarajan, 1997).

Há algumas décadas vem sendo estudada a utilização de microorganismos no beneficiamento mineral em flotação; na Tabela 3 é apresentada uma lista com algumas aplicações de micro-organismos.

Tabela 3 – Micro-organismos no beneficiamento mineral

Micro-organismo	Sistema	Função	Autor
<i>Bacillus carnosus</i>	Apatita-calcita-quartzo	Coletor de apatita	Smith & Miettinen, 2006
<i>Bacillus firmus</i>	Sulfetos	Coletor	Langwaldt & Kalapudas, 2007
<i>Bacillus licheniformis</i>	Quartzo	Floculante	Hirajima et al., 2012
<i>Bacillus subtilis</i>	Finos de carvão	Floculante	Vijayalakshmi & Raichur, 2003
<i>Escherichia coli</i>	Quartzo	Floculante	Hirajima et al., 2012
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	Pirita-calcopirita	Depressor	Pecina et al., 2009
<i>Mycobacterium phlei</i>	Hematita	Coletor	Dubel et al., 1992
<i>Mycobacterium phlei</i>	Finos de carvão	Coletor / Floculante	Raichur et al., 1996
<i>Mycobacterium phlei</i>	Finos de hematita	Coletor / Floculante	Yang et al., 2007
<i>Mycobacterium phlei</i>	Sulfetos	Coletor	Jia et al., 2011
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Hematita-quartzo	Ativador de quartzo	Deo et al., 2001
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Carvão	Depressor	El-Midany & Abdel-Kalek, 2014
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Carvão	Espumante	Fazaelipoor et al., 2010
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hematita	Espumante	Khosdast & Sam, 2012
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	Hematita, quartzo	Coletor de hematita	Oliveira et al., 2017
<i>Rhodococcus opacus</i>	Apatita-quartzo	Coletor de apatita	Merma et al., 2017
<i>Rhodococcus ruber</i>	Hematita-quartzo	Coletor de hematita	Lopez, 2015
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Pirita-calcopirita	Depressor de pirita	Mehrabani et al., 2010
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	Pirita-calcopirita	Depressor de pirita	Chandraprabha & Natarajan, 2006

Fonte: Adaptado de Khoshdast & Sam (2011) e atualizado dos artigos na coluna autor.

O uso de micro-organismos e/ou seus derivados como coletores ou depressores em bioflotação é determinado pela presença de vários grupos funcionais (fosfatos, amins, amidas, grupos carboxílicos) nas moléculas que formam a parede celular da bactéria. Grupos que fornecem aos micro-

organismos reagentes similares àqueles usados em flotação convencional de minerais (Dubel et al., 1992; Zheng et al., 2001; Hosseini et al., 2005; Mesquita et al. 2003; Deo & Natarajan, 1997), assim é essencial conhecer as características de composição destes micro-organismos e confirmar a presença destes grupos.

Apesar de vários estudos, sobre espumantes e suas ações, terem sido realizados, ainda existe uma grande lacuna no que tange aos bioespumantes. A primeira investigação sobre o uso de biossurfatantes como espumante foi feita por Fazaelpoor et al. (2010). Eles estudaram as características de espumação e a aplicabilidade de bioespumantes tipo rhamnolípídeos como espumante. em flotação de carvão e minerais. Estes biossurfatantes mostraram melhor atividade superficial e espumabilidade estática, i.e. altura de espuma e meia-vida, em comparação com MIBC. A Figura 27 compara valores de tensão superficial deste biossurfatante e MIBC. Os resultados indicam uma melhor habilidade do biossurfatante para reduzir a tensão superficial da água comparado ao MIBC.

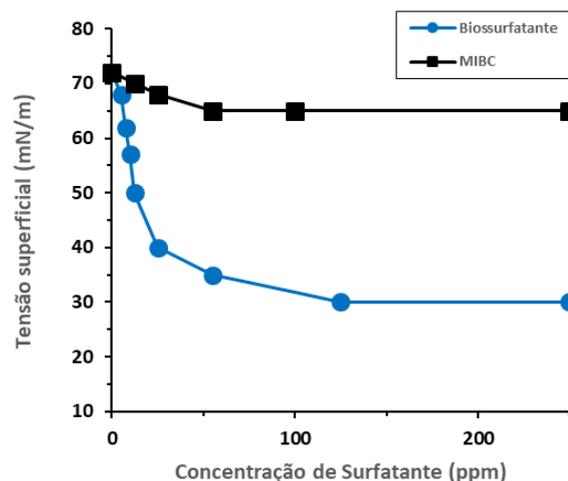


Figura 27 – Comparação do biossurfatante e MIBC na redução da tensão superficial de água destilada (Khoshdast & Sam, 2011).

A altura de espuma foi medida como uma função da aeração em duas diferentes concentrações de surfatantes. O biossurfatante produziu maiores alturas de espuma comparado ao MIBC. Foram duas razões responsáveis para estes resultados. Primeira, o biossurfatante rhamnolípídeo tem maior peso molecular (>438 g/mol) comparado ao MIBC e este maior peso molecular leva a mais viscosidade, e então a uma camada de espuma mais estável. Segunda, há somente um grupo –OH no MIBC e este grupo vai interagir com as moléculas de água para formar uma monocamada orientada na superfície, mas no biossurfatante existem várias unidades oxigenadas na cadeia molecular e cada

unidade pode interagir com as moléculas de água através de ligações de hidrogênio, fazendo com as moléculas fiquem planas na superfície, possivelmente aumentando a viscosidade da espuma (Fazaelipoor et al., 2010).

Os resultados indicam que a menor concentração o MIBC produz uma espuma mais estável, enquanto que em maior concentração o oposto é verdadeiro. Parece que a menor concentração a densidade de adsorção interfacial do biossurfatante é menor do que no MIBC devido as maiores dimensões estruturais e atômica. Em concentrações maiores a densidade de adsorção do biossurfatante aumenta pelo mecanismo de adsorção multicamadas por causa dos oxigênios livres e múltiplos grupos –OH (Khoshdast & Sam, 2011).

Os biossurfatantes apresentam várias vantagens em relação aos reagentes convencionais, como baixa toxicidade e maior compatibilidade ao meio-ambiente, biodegradabilidade, e efetividade em uma ampla faixa de temperatura e pH. Isto levou à introdução de uma nova classe de espumantes denominada "bioespumantes" (Khoshdast & Sam, 2011).

4.7.

Rhodococcus opacus

Rhodococci são actinobactérias metabolicamente versáteis, frequentemente encontradas no meio ambiente com potencial de aplicação em bioremediação, biotransformações, e biocatálise entre outros processos biotecnológicos. Estes micro-organismos são normalmente o propósito de pesquisa em muitos países do mundo. O número de publicações e patentes sobre *rhodococci* tem crescido significativamente durante os últimos anos. Neste contexto, o conhecimento adquirido durante a última década no aspecto básico da biologia do *Rhodococcus* é significativo e revela projectos futuros promissores (Alvarez, 2010).

As *Rhodococci* são organismos muito importantes, especialmente com impressionante força metabólica versátil. Isto é sempre devido a suas propriedades móveis geralmente de plasmídeos grandes e lineares, carregando genes que codificam enzimas capazes de degradar uma impressionante variedade de compostos orgânicos e xenobioticos que ocorrem naturalmente, alguns dos quais possam representar riscos ambientais a longo prazo (Bell et al., 1998; Larkin et al., 2006). Então seu potencial para bioremediação é imenso (Van der Geize & Dijkhuizen 2004). Elas são também conhecidos por produzir

agentes metabólicos de potencial industrial, incluindo carotenóides, biossurfatantes e biofloculantes, e especialmente acrilamidas (Jones & Goodfellow, 2010).

O gênero *Rhodococcus* representa um táxon bem definido dentro do grupo supragenérico dos *Actinomycetales* contendo ácido micólico (Goodfellow et al., 1982). Este gênero é facultativo, não esporulante, não móvel e Gram-positivo (Van der Geize & Dijkhuizen, 2004; Hacha, 2016)

Existem aproximadamente 48 espécies de *Rhodococcus* separadas pela diversidade de metabolismo, aplicação industrial ou potencial em biorremediação (Meijer & Prescott, 2004). Dentre as espécies existentes, as mais conhecidas são: *Rhodococcus opacus*, *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus ruber*, *Rhodococcus equi* e *Rhodococcus fascians*. Dentre essas, são reconhecidas como patogênicas a *R. equi* em mamíferos e *R. fascians* em plantas (Bell et al., 1998; Hacha, 2016)

A espécie *Rhodococcus opacus* é uma espécie microbiana não patogênica, Gram-positiva, aeróbica, unicelular, filamentosa e esporulada. Caracteriza-se por transformar diferentes hidrocarbonetos em lipídeos. A acumulação de lipídeos é utilizada como fonte endógena de carbono e energia para manter a viabilidade celular durante os períodos de limitação de nutrientes (Stratton et al., 2002; Alvarez et al., 2004). Uma classificação científica da espécie *Rhodococcus opacus* é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 – Classificação científica da espécie *Rhodococcus opacus*

Taxonomia da <i>Rhodococcus opacus</i>	
Domínio	Bacteria
Filo	Actinobacteria
Classe	Actinobacteria
Ordem	Actinomycetales
Subordem	Corynebacterineae
Família	Nocardiaceae

Fonte: Klatte et al., 1994.

Em estudo realizado por Klatte, Kroppenstedt e Rainey (1994) foi constatado que as paredes celulares da *Rhodococcus opacus* contém arabinose e galactose como maiores constituintes dos açúcares das paredes celulares, ácido mesodiaminopimélico como ácido diamino, e ácido murâmico N-glicolado em partes iguais do peptidoglicano. Os lipídeos polares são compostos de difosfatidilglicerol, fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol, fosfatidilinositol manosídeos,

e fosfoetanolmina. MK 8 (H2) é a menaquinona predominante. Análise de ácidos graxos simples de toda célula apresentaram um padrão de cadeia reta, ácidos graxos saturados e insaturados com significativa quantidade de ácido tuberculosteárico (ácido 10-metil octadecanóico). Na *Rhodococcus*, ácidos micólicos são compostos de 28 até 54 unidades de carbono, mas na estirpe *Rhodococcus opacus* o comprimento dos ácidos micólicos foi encontrado na faixa de 48-54 átomos de carbono (Klatte et al., 1994).

A Figura 28 mostra a estrutura da parede celular da *Rhodococcus* que é composta de um complexo de ácido micólico-arabinogalactana-peptidoglicano. Localizado ao lado da membrana plasmática está uma camada de peptidoglicano com estrutura do tipo A1 γ . Assim ligações cruzadas são formadas entre muro-peptídeos e ácidos meso-diaminopiméricos (Schaechter, 2009; Sutcliffe et al., 2010). A arabinogalactana é um heteropolímero composto de um homopolímero de galactana e unidades arabinano e está unida a uma camada de peptidoglicano com ligações fosfodiéster. Esta ligação é feita através de uma unidade ligante composta por fosfato de L-ramnose-D-N-acetilglucosamina, que liga o galactano ao peptidoglicano. Junto de cada galactano são três domínios arabinano que se ramificam e anexam-se aos ácidos micólicos (Borisova, 2011).

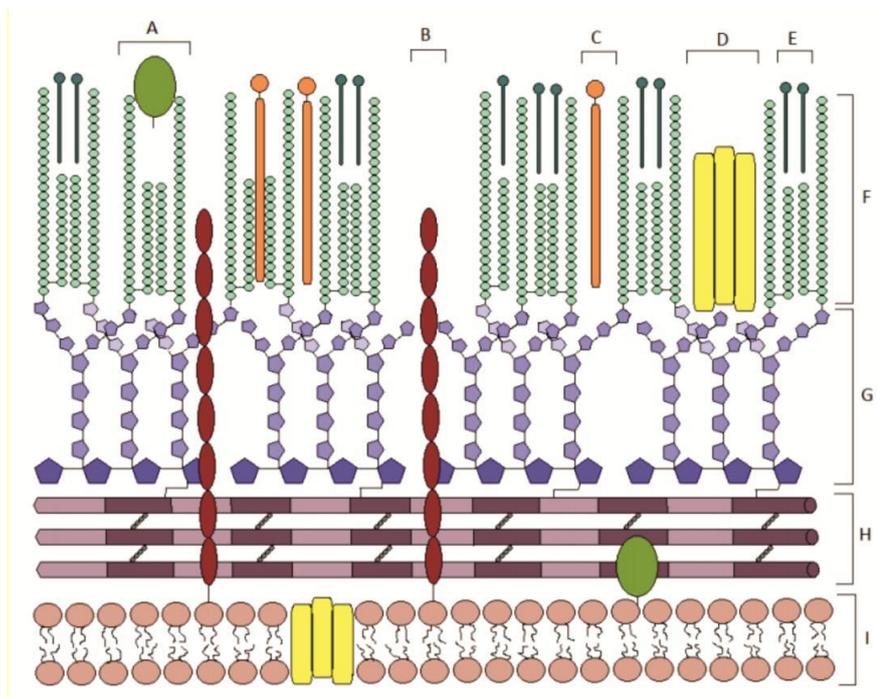


Figura 28 – Modelo de organização da envoltura celular da *Rhodococcus* (Sutcliffe et al., 2010): A) lipoproteína; B) lipoarabinomannan (LAM); C) lipídeos; D) porina; E) glicolipídeos; F) ácidos micólicos; G) arabinogalactana; H) peptidoglicano; I) membrana de lipídeos.

Os ácidos micólicos atuam como uma segunda barreira hidrofóbica de permeabilidade semelhante à membrana externa de organismos Gram-negativos, embora distinta em termos de estrutura e química. Como os ácidos micólicos são organizados em uma monocamada e estruturalmente desiguais, existem lacunas que estão conectadas por ácidos micólicos contendo glicolipídeos. Além disso, ancorados na membrana da parede celular da *Rhodococcus* estão as lipoproteínas e os polissacarídeos chamados lipoglicanos, que pertencem a família lipoarabinomannan (LAM). Em conclusão, a parede celular da *Rhodococci* abriga uma variedade de lipídeos, normalmente glicolipídeos, lipopeptídeos, e glicolipopeptídeos, alguns dos quais têm propriedades surfatantes (Sutcliffe et al., 2010).

Khoshdast & Shojaei (2012) fizeram a caracterização de um biosurfatante Rhamnolipídeo e reportaram que este tipo de glicolipídeo é de alta atividade superficial e poder de espumação, fizeram testes em flotação de carvão e este produto apresentou melhores resultados que o óleo de pinho (espumante) comumente utilizado em processamento de carvão para retirar as cinzas.

A espécie *Rhodococcus opacus* apresenta as seguintes características: a hidrofobicidade, a ausência de patogenicidade, a produção de grande quantidade de espuma, a fácil aquisição em coleção de culturas nacionais, a facilidade na manipulação, multiplicação e manutenção das células (Bueno et al., 2011); portanto devido a estas características a *Rhodococcus opacus* apresenta condições técnicas favoráveis para obtenção de biomassa e de biorreagentes para a utilização como bioespumante.

Rhodococcus opacus foi investigada como um reagente de flotação de sistema hematita-quartzo (Mesquita et al., 2003). Depois, *R. opacus* foi usada para sistema mineral barita-calcita-magnesita (Botero et al., 2007), e para apatita-quartzo (Merma et al., 2012).

Mesquita et al. (2003) efetuaram estudo do potencial Zeta em função do pH para suspensão de células de *Rhodococcus opacus* que é mostrado na Figura 29, onde as superfícies das células *R. opacus* estavam negativamente carregadas em uma ampla faixa de pH, nomeadamente 3,5-14, com o ponto isoelétrico (IEP) correspondendo ao pH de aproximadamente 3,2.

Mesquita (2001), Botero et al. (2007) e Merma et al. (2012) mostraram que a variante *R. opacus* pode atuar não somente como coletor seletivo mas também como bioespumante. Merma (2012) estudou o comportamento da *R. opacus* como redutor de tensão superficial da água (70 mN/m); a maior redução da tensão superficial foi com 0,15 g/L de biomassa. A espuma foi maior entre o pH

3 e 7, com valores de tensão superficial entre 54 e 56 mN/m . A adaptação da bactéria/quartzo causou um aumento na tensão superficial para os pH 3, 5 e 7 e uma redução em meio alcalino.

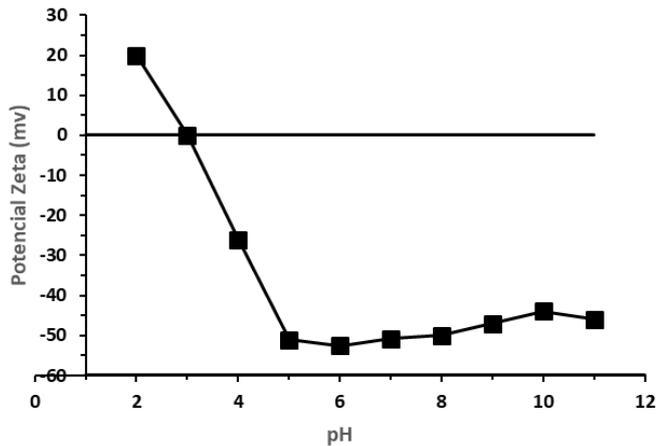


Figura 29 – Potencial Zeta de uma suspensão de *R. opacus*; 0,1 mM NaCl (adaptado de Mesquita et al., 2003).

4.8. Espectrofotometria no infravermelho

Em termos simples, espectroscopia é definido como a interação da luz com a matéria. Luz, neste contexto, é o amplo espectro de energia contínuo chamado espectro eletromagnético (Derrick et al., 1999). Na Figura 30 estão ilustradas as regiões do espectro e os processos envolvidos na interação da radiação com a matéria (Stuart, 2004).

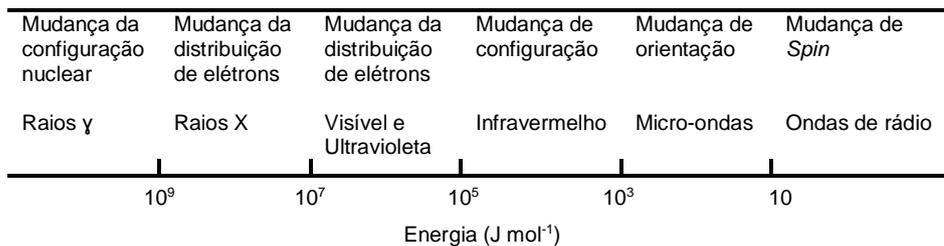


Figura 30 – Regiões do espectro eletromagnético (adaptado de Stuart, 1997).

Na Figura 31 são mostradas as faixas das diversas radiações, com destaque para região infravermelho, com exemplo de um espectro.

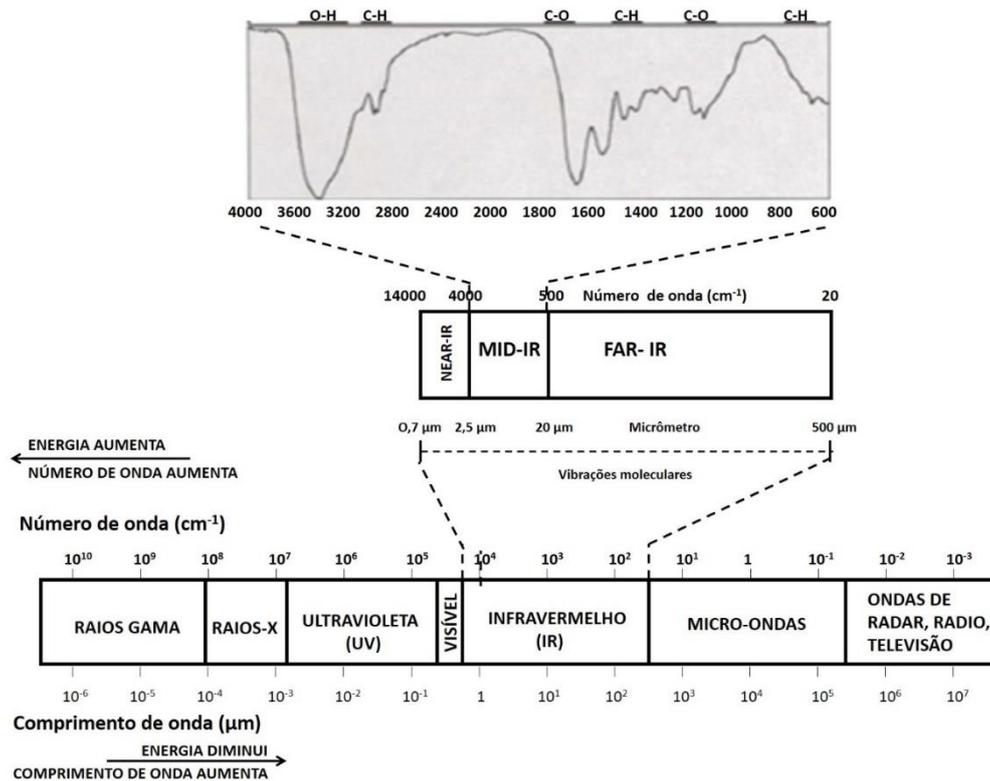


Figura 31 – Regiões do espectro de radiação eletromagnética, com expansão da região do IR (adaptado de Derrick et al., 1999).

Sendo que a velocidade de propagação da radiação eletromagnética no vácuo é constante para todas as regiões do espectro, e conhecido como velocidade da luz, c , e tendo o valor de $2,997925 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$ (Stuart, 2004). Se uma onda completa viajando uma distância fixa a cada ciclo é visualizada, pode ser observado que a velocidade desta onda é o produto do comprimento de onda, λ (a distância entre picos adjacentes) e da frequência, ν (o número de oscilações ou ciclos por segundo). Por isso vale a Equação (21) (Stuart, 2004):

$$c = \lambda \nu \quad (21)$$

Como o comprimento de onda da radiação é inversamente proporcional a frequência, uma radiação de alta frequência tem um comprimento de onda curto (Derrick et al., 1999). A energia, de acordo com a lei de Planck, é diretamente proporcional à frequência. Uma vez que a frequência é inversamente proporcional ao comprimento de onda, segue-se que a energia de radiação eletromagnética e comprimento de onda são também inversamente relacionados. Assim, comprimentos de onda mais longos têm menor energia e

frequência, enquanto comprimentos de onda mais curtos têm maior energia (Derrick et al., 1999).

A unidade que é amplamente usada em espectroscopia infravermelho é o número de onda, $\bar{\nu}$, em cm^{-1} . Este é o número de ondas em um comprimento de um centímetro e é dado pela seguinte Equação (22) (Stuart, 2004):

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} \quad (22)$$

Comprimentos de onda específicos de energia correspondem a todas as transições moleculares ou movimentos: eletrônico, translacional, rotacional e vibracional. No movimento eletrônico, os elétrons mudam os níveis de energia ou direções de *spin*. Para um movimento de translação, a molécula inteira muda para uma nova posição, enquanto que, para um movimento de rotação, a molécula gira em torno de seu centro de massa. Energia vibracional é necessária para átomos individuais dentro de uma molécula mudar de posição relativa a um outro, sem mover ou girar a molécula (Derrick et al., 1999).

As principais transições na região infravermelho são vibracionais. Transições translacionais e rotacionais são fracas e, muitas vezes, difíceis de medir na região infravermelho sem o auxílio de instrumentos de alta resolução. Uma exceção é para o vapor de água (regiões 1800-1400 e 4000-3600 cm^{-1}), onde o movimento irrestrito de algumas moléculas em fase gasosa produzem nítidas bandas de absorção rotacional, que podem ser facilmente vistas. A ocorrência de muitas transições rotacionais não resolvidas na região de infravermelho é uma das razões em que uma única transição vibracional associada aparece como uma banda ou envelope de absorção ao invés de uma linha nítida, como previsto pela teoria (Derrick et al., 1999).

As vibrações mais comuns são dos modos de alongamento, torção e flexão. Uma vibração de alongamento ou também chamada estiramento aumenta ou diminui o comprimento das ligações entre os átomos. Uma vibração torcional, ou estrutural, envolve a torção da estrutura da molécula. Uma vibração de flexão altera os ângulos de ligação relativos dos átomos, uns aos outros, ou ao restante da molécula. Vibrações de flexão podem ainda ser classificadas como tesouramento, balanço, abano e torção. As vibrações são também caracterizadas pela sua simetria, isto é, elas podem ser simétricas ou assimétricas (Derrick et al., 1999).

A radiação infravermelho de frequências inferior a 100 cm^{-1} é absorvida e convertida por uma molécula orgânica em energia de rotação molecular. Esta absorção é quantizada; assim, um espectro de rotação molecular consiste de linhas discretas. A radiação infravermelho em uma faixa de cerca de $10.000\text{-}100\text{ cm}^{-1}$ é absorvida e transformada por uma molécula orgânica em energia de vibração molecular. Esta absorção é também quantizada, mas espectros vibracionais aparecem como bandas ao invés de linhas porque a mudança de uma única energia vibracional é acompanhada por uma série de mudanças de energia rotacional. É com estas bandas vibracional-rotacional, especialmente aquelas que ocorrem entre $4000\text{ e }400\text{ cm}^{-1}$, que devemos estar atentos. A frequência ou comprimento de onda de absorção depende da massa relativa dos átomos, das constantes de força das ligações e da geometria dos átomos (Silverstein et al., 2005).

Com base em sua estrutura atômica, cada molécula produz um único e característico espectro infravermelho. O número e posição específica das bandas de absorção para qualquer molécula são regidas por seus graus de liberdade, seus grupos funcionais, e as regras de seleção IR. Um padrão espectral, às vezes chamado de impressão digital, é utilizado para identificar um material desconhecido quando as absorções no seu espectro combinam com as absorções no espectro de um material conhecido. Além disso, uma vez que grupos funcionais (combinações de átomos) produzem absorções na ou perto da mesma frequência, independentemente do resto da molécula, a presença ou ausência de certos grupos funcionais pode ser determinada pela interpretação do espectro infravermelho (Derrick et al., 1999).

Baseados nestes conceitos, diversos pesquisadores constataram que os grupos funcionais e radicais apresentam os espectros com picos nas faixas apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Bandas de absorção de grupos funcionais e radicais

Grupo Funcional / Radical	Composto	Banda de Absorção cm⁻¹	Vibração	Pesquisadores
O-H e N-H	polissacarídeos e proteínas	3289	estiramento	Banyay et al., 2003 Bueno et al., 2008 Garip et al., 2009 Hacha, 2016 Schmitt & Fleming, 1998 Deo & Natarajan, 1988 Santhiya, 2002 El-Midany & Abdel-Kalek, 2014 Merma et al., 2017
CH ₂	lipídeos, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos	2925 e 2852	assimétricas e simétricas	Melin et al., 2004 Robert et al., 2005 Bueno et al., 2008 Hacha, 2016 Schmitt & Fleming, 1988 Deo & Natarajan, 1988 Merma et al., 2017
	lipídeos e triglicerídeos	1742	estiramento	Garip et al., 2009 Deo & Natarajan, 1988
	amida I e amida II	1631 e 1538		Rigas et al., 1990 Stuart, 1997 Bueno et al., 2008 Hacha, 2016 Deo & Natarajan, 1988
CH ₂		1464	simétrica	Garip et al., 2009 El-Midany & Abdel-Kalek, 2014 Merma et al., 2017
COO		1400	assimétrica	Deo & Natarajan, 1988 Merma et al., 2017
PO ₂ ⁻	fosfolipídios e ácidos nucleicos	1235 e 1061	assimétricas	Helm e Naumann, 1995 Robert et al., 2005 Bueno et al., 2008 Garip et al., 2009, Hacha, 2016 Merma et al., 2017
COO ⁻	ácido dipicolínico (DPA)	698	flexão	
PO ₄ ³⁻		567,94		Koroleva et al., 2012 Hacha, 2016

5 Materiais e métodos

Neste capítulo são apresentados e descritos os materiais, reagentes, equipamentos e procedimentos empregados no estudo das espumas de flotação usando biorreagentes e seus produtos metabólicos utilizando a cepa *Rhodococcus opacus*, bem como a metodologia experimental desenvolvida para o estudo em questão. Inicialmente é descrito o procedimento de cultura bacteriana e de obtenção do concentrado de biomassa oriundo da bactéria. Em seguida são descritas as metodologias experimentais e condições empregadas nos estudos de medição de tamanho de bolhas, velocidade superficial, tensão superficial, meia vida da espuma, quantidade de água na espuma, estabilidade da espuma e espectrofotometria no infravermelho.

5.1. Reagentes

Os reagentes usados na cultura bacteriana, medição de tamanho de bolha, velocidade superficial, ensaios de tensão superficial, meia vida da espuma, quantidade de água na espuma, estabilidade da espuma e análises por espectroscopia no infravermelho são apresentados na Tabela 5:

Tabela 5 – Reagentes utilizados e suas características.

Reagente	Fórmula química	Fabricante e grau de pureza
Ácido clorídrico	HCl	Vetec 99%
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec 99%
Cloreto de potássio	KCl	Vetec 99%
Brometo de potássio	KBr	Acrós organic 99%
Glicose Anidra	C ₆ H ₁₂ O	Vetec 99%
Extrato de Malte	-	Bacto 99%
Extrato de Levedura	-	Bacto 99%
Peptona	-	Bacto 99%
Agar	C ₁₄ H ₂₄ O ₉	Isofar 99%
Álcool Etilico	C ₂ H ₆ O	98%

5.2. Cultura Bacteriana

Existem diversas formas e metodologias de meios de cultura de bactérias e extração de biomassa e biorreagentes. A metodologia adotada pelo Grupo de Tecnologia Mineral e Ambiental do Departamento de Engenharia Química e de Materiais da PUC-Rio tem sido utilizada há vários anos, foi testada e comprovada por vários mestrandos e doutorandos em diversos projetos.

As espécies microbianas empregadas neste estudo foram obtidas da Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria – CBMAI - UNICAMP.

Foi escolhida a espécie bacteriana *Rhodococcus opacus* por apresentar as seguintes características: hidrofobicidade, ausência de patogenicidade, aptidão para produção de grande quantidade de espuma em suspensão aquosa facilidade na manipulação, multiplicação e manutenção das células

Inicialmente todo o material em vidro, bem como o meio de cultura foram esterilizados em autoclave a $1,1 \text{ kgf/cm}^2$ (107,9 Kpa ; 1,06 atm) de pressão e $121 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 20 minutos (Figura 32).



Figura 32 – Autoclave vertical CS Primatec.

A cepa bacteriana *Rhodococcus opacus* foi inoculada em meio sólido em placas de Petri, conforme composição especificada na Tabela 5 e deixadas em incubação até as colônias bacterianas crescerem conforme pode ser visto na Figura 33. O meio de cultura utilizado para o crescimento da bactéria *Rhodococcus opacus* é o YMG (Yeast, Malt, Glucose).

Tabela 5 – Composição dos meios de cultura

Componente	Cultura em Meio Sólido	Cultura em Meio Líquido
	(g/L)	(g/L)
Glicose	10	10
Peptona	5	5
Extrato de Malte	3	3
Extrato de Levedura	3	3
Agar	20	-
pH	7.2	7.2

Fonte: adaptado de Oliveira & Marinho, 2017



Figura 33 – Colônia de Bactérias *Rhodococcus opacus* em placa de Petri

Na etapa seguinte, as bactérias na forma sólida são inoculadas em meio de cultura líquido em frascos Erlenmeyer de 500 mL conforme composição especificada na Tabela 5. E colocados em incubadora *shaker* oscilatória (Cientec CT-712) a temperatura de 28 °C e 130 rpm para crescimento bacteriano por 24 horas em incubação até as colônias bacterianas crescerem conforme pode ser visto na Figura 34.

Em seguida, as bactérias geradas neste meio líquido são multiplicadas em mais Erlenmeyers, agora inoculando com solução bacteriana em 12 até 48 Erlenmeyers com meio de cultura líquido, para produção de biomassa e/ou biossurfatante, deixando em incubação no *shaker* oscilatório por 3 dias para biomassa e 7 dias para biossurfatante.

Após esta etapa de crescimento, a suspensão com as células de bactérias foi centrifugada (ver Figura 35) em 4500 rpm por 15 minutos, em 3 ciclos de centrifugação, descarte do líquido e feita a ressuspensão do precipitado e lavagem com água destilada e deionizada. A seguir o precipitado da

centrifugação constituído de células da bactéria foi ressuspensão com o mínimo de água destilada e deionizada. Finalmente este líquido ressuspensão foi esterilizado em autoclave a $1,1 \text{ kgf/cm}^2$ ($107,9 \text{ Kpa}$; $1,06 \text{ atm}$) e $121 \text{ }^\circ\text{C}$ por 20 minutos para inativar as bactérias presentes. Este produto final é a biomassa concentrada (ver Figura 36), que é conservada em geladeira a $4 \text{ }^\circ\text{C}$.



Figura 34 – Incubadora *shaker* oscilatória termocontrolada Cientec CT-712



Figura 35 – Centrífuga Cientec CT-5000. [A] Vista da centrífuga aberta; [B] Rotor com tubos de Falcon em número para equilibrar a centrífuga.



Figura 36 – Vidro de 1 L contendo biomassa.

Como última etapa do processo de preparação de biomassa, foi medida a concentração de biomassa da solução concentrada final; para isto usou-se papel filtro *milipore* de membrana de celulose de 0,45 μm em dispositivo filtro de membrana a vácuo conforme Figura 37 e secagem em estufa a 45 °C para ser feito o peso seco em balança de 0,001 g de precisão.



Figura 37 – Dispositivo filtro de membrana e bomba de vácuo.

5.3. Medição do tamanho de bolha

Neste trabalho foi utilizado o equipamento, *Anglo Platinum Bubble Sizer* MK-4 fabricado pela empresa *Stone Three* e pertencente ao Centro de Tecnologia Mineral – CETEM – MCTIC. Na Figura 38 é mostrado um diagrama esquemático do equipamento utilizado em conjunto com uma coluna de flotação construída em acrílico para evidenciar o seu interior, com dimensões de 300 mm de altura e 55 mm de diâmetro interno, com placa porosa de 45 μm , e a Figura 39 mostra uma foto do conjunto *Bubble Sizer* e Coluna de Flotação de Laboratório.

A solução com surfatante a ser testado, na concentração e pH desejados, é colocada no reservatório através da válvula V1 e na coluna de flotação. Fechadas as válvulas V1 e V2, se abre a válvula V3 liberando parte do fluido para descer pelo tubo amostrador até a coluna de flotação, com isto é criado vácuo no reservatório, mantendo parte do reservatório, a câmara e o tubo amostrador com fluido, permitindo as bolhas ascenderem. É aberto o fluxo de ar e regulado na vazão desejada no rotâmetro, permitindo o ar passar pela placa porosa da célula de flotação e produzir bolhas. Parte destas bolhas são recolhidas pelo tubo amostrador e seguem um curso ascendente e passam pela câmara de visualização. A câmara de visualização inclinada (ângulo 15°) é feita de plástico PVC com uma janela de vidro reforçada, de um lado existe uma forte fonte de iluminação homogênea em lâmpadas LED para garantir o contraste da imagem. Esta inclinação é para espalhar as bolhas em uma única camada e limitar a sobreposição e fornecer um plano de foco sem ambiguidades. Fotos digitais das bolhas são tiradas com uma câmara fotográfica durante a passagem das bolhas pela câmara de visualização e medição.

Estas fotos dos exames de bolhas foram posteriormente analisadas pelo *software ImageJ*.

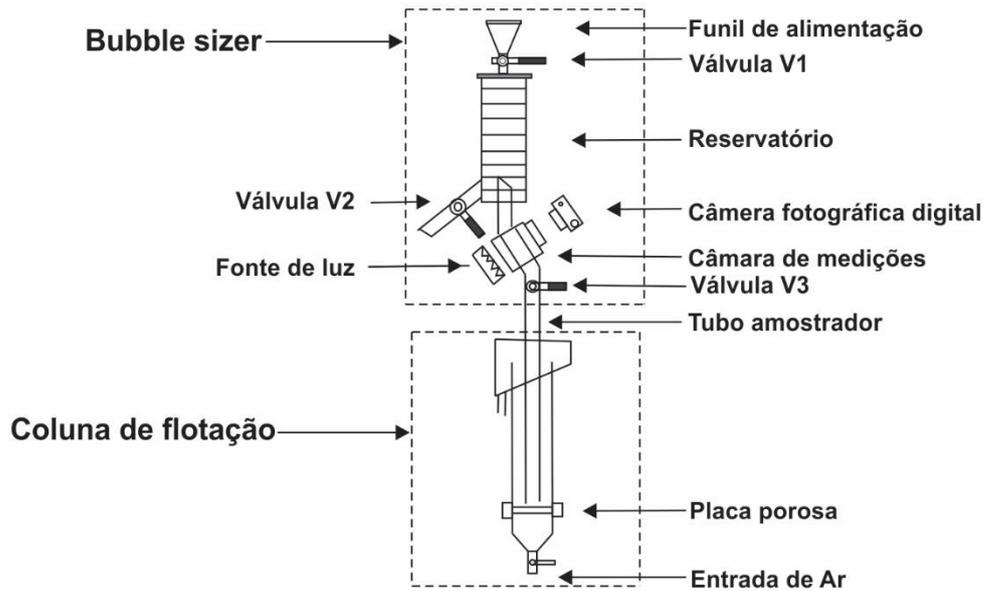


Figura 38 – Diagrama esquemático do Bubble Sizer montado sobre uma coluna de flotação de laboratório



Figura 39 – Montagem do Bubble Sizer com a Coluna de Acrílico.

O diâmetro das bolhas produzidas na célula de flotação depende do pH da solução, da concentração do surfatante e da vazão de ar do sistema. Neste item,

são avaliadas as influências destas variáveis sobre o diâmetro das bolhas no processo de flotação; para isto foram efetuados ensaios em diversas vazões de ar, em várias concentrações de surfatante e valores de pH, conforme Tabela 6.

Tabela 6 – Variáveis testadas nos ensaios de tamanho de bolhas.

Variável					
Vazão de Ar	L/h	5	10	20	
Concentração de Surfatante	mg/L	0	100	200	300
pH		3	5	7	9

O procedimento completo para uso do equipamento *Bubble Sizer* com a Coluna de Flotação de Laboratório pode ser visto no Anexo 2.

5.4. Velocidade superficial

A velocidade superficial do gás foi medida através de leituras de volumes no reservatório do equipamento *Bubble Sizer* e sendo cronometrado o tempo para descer um determinado volume (200 mL), conforme Figura 40.

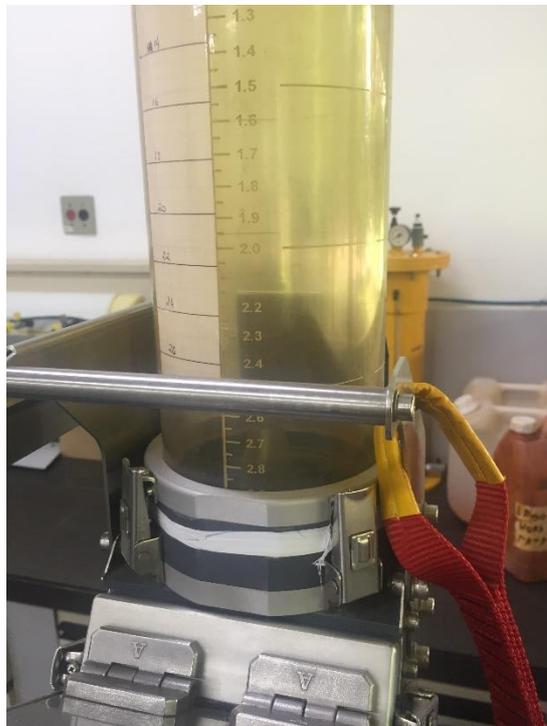


Figura 40 – Reservatório do *Bubble Sizer* com escala em litros

Foram avaliadas as influências das variáveis: Vazão de ar, Concentração de surfatante e pH da solução, cronometrando os tempos para abaixar 200 mL das soluções usando os valores conforme a Tabela 7.

Tabela 7 – Variáveis testadas nos ensaios de velocidade superficial.

Variável					
Vazão de Ar	L/h	5	10	20	
Concentração de Surfatante	mg/L	0	100	200	300
pH		3	5	7	9

Para o procedimento operacional para medida da velocidade superficial do gás no *Bubble Sizer*, ver o Anexo 3.

5.5. Medição da tensão superficial

As medidas da tensão superficial foram realizadas com o aparelho Tensiômetro Digital K-10T da marca Krüss GMBH fabricado na Alemanha, pertencente ao Centro de Tecnologia Mineral – CETEM / MCTIC.

Na Figura 41 pode ser visto o aparelho, com destaque para o anel de du Noüy, a cubeta e a plataforma.

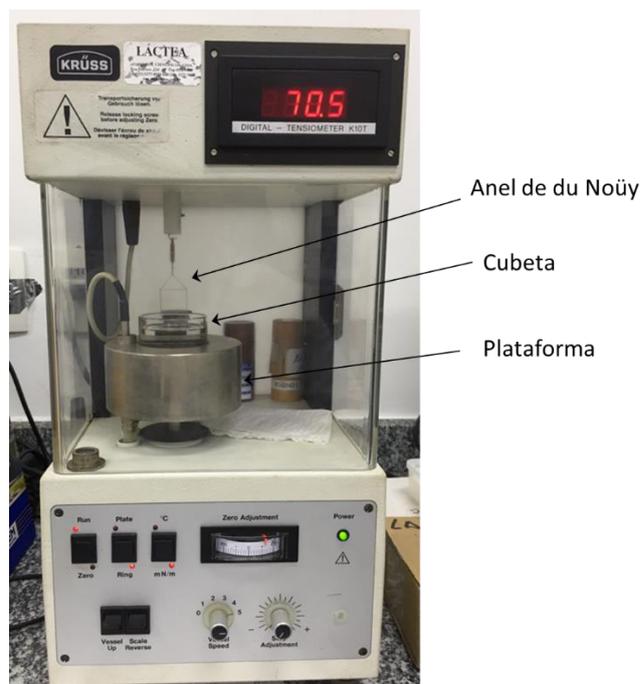


Figura 41 – Tensiômetro K10T (Krüss).

Foram realizadas medidas de tensão superficial, inicialmente verificando-se a calibração do equipamento com Água Milli-Q (Água Milli-Q é uma água deionizada que foi purificada em um sistema Mill-Q fornecido pela Micropore) e em seguida com soluções do surfatante: biomassa de *Rhodococcus opacus*, nas concentrações conforme mapa de variáveis mostrado na Tabela 8.

Tabela 8 – Variáveis testadas nos ensaios de tensão superficial.

Variável												
Concentração de Surfatante	mg/L	0	1	2	3	5	10	20	100	200	300	1000
pH		3	5	7	9							

A medição é simples, em regra geral, é colocado o líquido a testar na cubeta, mergulha-se o anel de du Noüy e abaixa-se a plataforma de forma a retirar o anel do líquido até atingir um máximo de leitura da tensão, esta é a leitura da tensão superficial, em mN/m. O procedimento completo para medição de tensão superficial é encontrado no Anexo 4.

5.6. Medição dos principais parâmetros da espuma

Existem diversos parâmetros da espuma que podem ser medidos, entre eles o volume de espuma gerado, a meia vida da espuma, a quantidade de água na espuma, a elasticidade da espuma.

5.6.1. Medição do volume de espuma

Para determinar o volume de espuma gerado, foram feitos testes em uma célula tipo coluna de vidro de 1" de diâmetro, com uma escala graduada na lateral da célula. Esta célula de Bikerman possui uma placa porosa de 45 µm em sua parte inferior, conforme Figura 42.

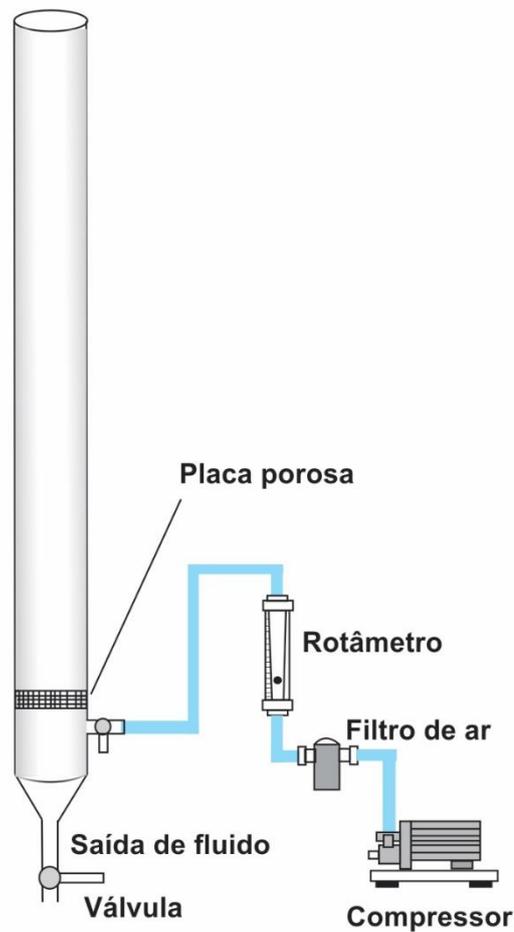


Figura 42 – Célula de Bikerman

Em cada ensaio foram colocados 100 mL de fluido na célula e gerado espuma pela introdução de ar comprimido na célula pela entrada lateral inferior abaixo da placa porosa; o ar ao passar pela placa porosa produz bolhas que formam a espuma, foram testados com as variáveis conforme a Tabela 9:

Tabela 9 – Variáveis testadas nos ensaios de medição de volume:

Variável					
Vazão de Ar	L/h	5	10	20	
Concentração de Sulfato	mg/L	0	100	200	300
pH		3	5	7	9

Foi estabelecido como critério de medição, o tempo de 1 minuto de aeração para a formação de espuma e foi medido a altura de espuma formada que multiplicado pela área interna da seção transversal da célula, obtém-se o volume de espuma.

Na Figura 43 pode ser visto uma foto da célula de Bikerman em vidro utilizada nos ensaios realizados.

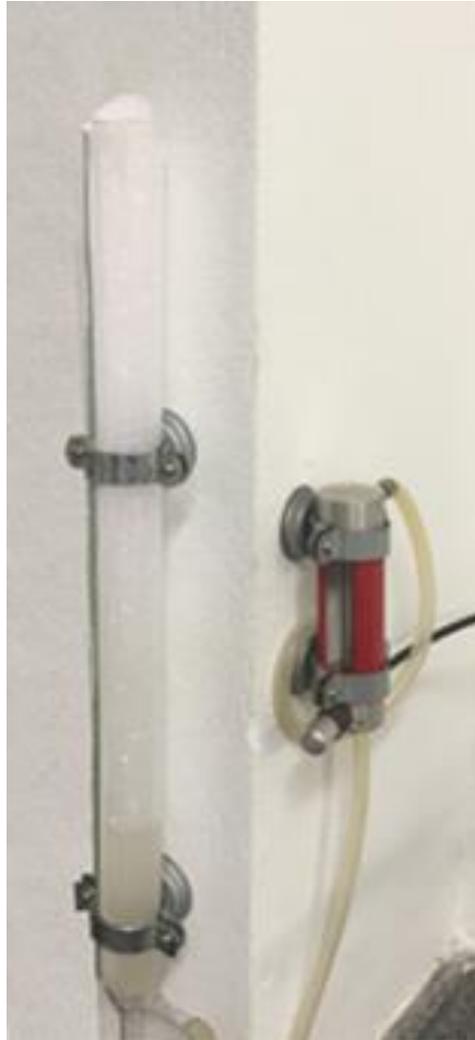


Figura 43 – Coluna de flotação em vidro com rotâmetro.

5.6.2. Medição do tempo de meia vida da espuma

O teste de medição de meia vida, também conhecido como teste de Bikerman, é feito colocando-se um determinado volume de solução a testar na coluna de vidro com uma escala graduada na lateral da célula (Figura 43), esta célula de Bikerman possui uma placa porosa de 45 μm em sua parte inferior.

Em cada ensaio foram colocados 100 mL de fluido na célula e gerado espuma pela introdução de ar comprimido através de um rotâmetro para a célula pela entrada lateral inferior abaixo da placa porosa; o ar ao passar pela placa

porosa produz bolhas que formam a espuma. A pressão de linha usada foi de 2 kgf/cm².

Foi estabelecido como critério de medição, o tempo de 1 minuto de aeração para a formação de espuma. Findado este tempo, foi fechado o rotâmetro e com isto a passagem de ar, parando a geração de bolhas e a formação de espuma. Imediatamente foi medido a altura de espuma, que é a altura atingida pela espuma menos o nível do topo do fluido na célula. Foi cronometrado o tempo em segundos para quebrar a espuma e descer o nível do topo da espuma até atingir a metade da altura inicial; a este tempo dá-se o nome de Meia Vida da Espuma.

Foram feitos ensaios de medição do tempo de meia vida da espuma com as seguintes variáveis conforme a Tabela 10.

Tabela 10 – Variáveis testadas nos ensaios de meia vida.

Variável						
Vazão de Ar	L/h	5	10	20		
Concentração de Surfatante	mg/L	0	100	200	300	1000
pH		3	5	7	9	

5.6.3.

Medição da quantidade de líquido na espuma

O teste de quantidade de líquido na espuma é feito colocando-se um determinado volume V de solução a testar na célula de vidro (Figura 43), lê-se H1 o nível do líquido na célula, aplica-se uma vazão com o rotâmetro em uma pressão de linha de 2 kgf/cm², o nível do líquido sobe devido a que o líquido ficará aerado, anota-se este novo nível H2 . Aguarda-se a espuma atingir a altura máxima e anota-se o nível do líquido H3 e o nível do topo da espuma H4. É desligado o rotâmetro parando a vazão de ar, e imediatamente deve-se ler o nível de líquido H5 e o nível do topo de espuma H6. Por diferença de alturas, tem-se quanto de líquido (H1 – H5) foi para a espuma, se for multiplicado pela área da seção do tubo de vidro calcula-se este volume de líquido V1 que foi para espuma; calcula-se o volume V2 de quanto de espuma foi formado multiplicado-se (H6 – H5) pela área da seção do tubo de vidro. O valor percentual de líquido em volume W%_{v/v} contido na espuma é calculado pela divisão de V1 por V2, que pode ser calculado pela Equação (20).

$$W^{0}_{v/v} = \frac{V_1}{V_2} = \frac{H_1 - H_5}{H_6 - H_5} \quad (20)$$

Este é um importante parâmetro que especifica quão molhada está a espuma.

Foram feitos ensaios de medição de líquido na espuma com as seguintes variáveis conforme a Tabela 11.

Tabela 11 – Variáveis testadas nos ensaios de conteúdo de líquido na espuma.

Variável						
Vazão de Ar	L/h	5	10	20		
Concentração de Surfatante	mg/L	0	100	200	300	1000
pH		3	5	7	9	

5.6.4. Medição da estabilidade da espuma

A estabilidade de espumas tridimensionais foi medida utilizando o método conhecido como “*Shake Test*”, que é amplamente utilizado para a determinação de estabilidade de espuma estática (Gutián & Joseph, 1996; Huang et al., 1986; Waltermo et al., 1996; Wang & Yoon, 2006). Os testes foram conduzidos utilizando uma série de balões volumétricos de 50 ml, completados com 25 ml de soluções de surfatante. Cada balão com a solução foi agitado à mão a uma frequência e tempo fixos estabelecido em 10 segundos, depois deixada parada. Após um período de tempo, t_1 , uma superfície de líquido começou a aparecer no centro da espuma. A medida que o tempo passou, a superfície clara expandiu-se até a parede do balão, formando um anel de bolhas que, posteriormente quebrou em grupos de bolhas. O tamanho dos grupos de bolhas foi reduzindo com o decorrer do tempo, alguns dos quais eventualmente se tornaram bolhas isoladas.

Para cada condição experimental, um conjunto de 20 medidas foram feitas, tirado a média e calculado o desvio padrão.

5.7. Espectrofotometria no infravermelho

Os espectros no infravermelho foram usados para caracterizar os grupos funcionais presentes na biomassa produzida com a bactéria *Rhodococcus opacus*.

Os espectros no infravermelho foram obtidos num Espectrofotômetro no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) marca Nicolet, modelo 6700 FT-IR (Figura 44), pelo processo de análise de pastilha de Brometo de Potássio (KBr).

Inicialmente para obtenção da pastilha, uma amostra de biomassa foi seca por 2 horas em estufa a temperatura de 45 °C. O pó resultante da secagem foi misturado com uma matriz de KBr numa proporção de 1/100 p/p, sendo moídos e homogeneizados num almofariz de ágata. A seguir, uma pastilha da mistura homogênea foi produzida por compressão em dispositivo específico do equipamento. Finalmente, a pastilha obtida foi analisada no aparelho de FTIR. Foi empregado um detetor tipo DTGS (*deuterated triglycine sulphate*) e os espectros foram obtidos em modo de transmissão e coletados numa resolução de 4 cm⁻¹ após 120 varreduras.



Figura 44 – Espectrofotômetro FTIR Thermo Scientific Nicolet 6700 FT-IR.

6 Resultados e discussões

6.1. Diâmetro de bolha

6.1.1. Medição do diâmetro de bolha

Conforme o método descrito no ítem 5.3, foram tiradas várias fotos (mais de 10) em cada ensaio, foram escolhidas as 5 melhores fotos, as quais foram analisadas e processadas com auxílio do *software ImageJ*, obtido a listagem das bolhas e suas respectivas áreas. Foram calculados o diâmetro de cada bolha, e o diâmetro médio de Sauter das bolhas de cada foto, em uma planilha Excel.

Nas Tabelas 13 a 24 podem ser vistos para cada foto o número de bolhas, os valores de diâmetro máximo, diâmetro mínimo, diâmetro médio, diâmetro médio de Sauter, bem como o valor do Diâmetro de Sauter médio e desvio padrão (σ) de cada cinco fotos escolhidas de cada ensaio realizado.

Tabela 13 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 5 L/h, pH 3 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter (mm) Médio	σ
0	3	5	IMG 7242	142	2.755	0.590	1.297	1.505	1.715	0.341
			IMG 7243	141	4.956	0.582	1.377	2.213		
			IMG 7244	131	4.593	0.604	1.295	1.929		
			IMG 7245	204	3.769	0.596	1.222	1.492		
			IMG 7247	137	2.693	0.565	1.193	1.434		
100	3	5	IMG 7254	124	4.345	0.572	1.56	2.032	1.960	0.118
			IMG 7255	154	4.282	0.621	1.485	2.018		
			IMG 7256	153	4.104	0.569	1.458	1.909		
			IMG 7257	141	4.546	0.570	1.499	2.064		
			IMG 7258	124	3.118	0.594	1.474	1.775		
200	3	5	IMG 7357	198	3.361	0.566	1.182	1.548	1.606	0.038
			IMG 7358	204	3.748	0.566	1.234	1.619		
			IMG 7359	214	2.806	0.570	1.258	1.589		
			IMG 7360	129	2.421	0.572	1.420	1.639		
			IMG 7361	220	2.910	0.566	1.294	1.634		
300	3	5	IMG 7419	98	3.648	0.602	1.665	2.154	2.227	0.097
			IMG 7420	87	3.374	0.566	1.628	2.225		
			IMG 7421	82	3.431	0.569	1.567	2.156		
			IMG 7422	92	3.644	0.574	1.779	2.348		
			IMG 7423	94	4.241	0.581	1.618	2.252		

Tabela 14 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 10 L/h, pH 3 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter (mm) Médio	σ
0	3	10	IMG 7539	42	4.261	0.643	2.251	3.015	3.128	0.079
			IMG 7540	40	5.207	0.569	1.932	3.133		
			IMG 7541	53	5.210	0.570	2.153	3.225		
			IMG 7542	41	4.390	0.716	2.338	3.171		
			IMG 7543	37	4.007	0.870	2.466	3.099		
100	3	10	IMG 7628	17	5.915	0.676	3.066	4.593	3.902	0.434
			IMG 7629	14	5.450	0.570	3.079	3.980		
			IMG 7631	19	5.639	0.960	2.722	3.857		
			IMG 7632	21	5.056	0.582	2.644	3.590		
			IMG 7633	26	4.759	0.566	1.799	3.490		
200	3	10	IMG 7472	57	3.892	0.619	1.968	2.739	3.300	0.349
			IMG 7473	55	5.766	0.566	2.115	3.402		
			IMG 7474	57	5.480	0.579	1.999	3.208		
			IMG 7475	35	5.107	0.579	2.464	3.575		
			IMG 7476	32	5.501	0.581	2.200	3.577		
300	3	10	IMG 7649	57	4.759	0.569	1.910	2.810	2.836	0.070
			IMG 7651	64	3.955	0.576	1.841	2.743		
			IMG 7652	65	4.682	0.566	1.967	2.936		
			IMG 7653	74	4.119	0.590	1.927	2.853		
			IMG 7654	96	4.373	0.572	1.665	2.839		

Tabela 15 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 20 L/h, pH 3 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter (mm) Médio	σ
0	3	20	IMG 7579	34	4.233	0.569	2.219	3.368	3.699	0.277
			IMG 7580	30	4.755	0.572	2.550	3.648		
			IMG 7581	34	5.413	0.576	2.451	3.563		
			IMG 7582	29	5.368	0.665	2.907	4.106		
			IMG 7583	31	5.426	0.576	2.582	3.808		
100	3	20	IMG 7756	21	5.637	0.576	2.062	3.826	4.205	0.359
			IMG 7757	25	5.936	2.081	3.840	4.429		
			IMG 7760	12	5.523	0.576	2.473	4.571		
			IMG 7761	10	5.007	0.569	1.964	3.813		
			IMG 7763	14	5.775	0.570	2.604	4.385		
200	3	20	IMG 7783	19	6.120	0.586	3.701	4.806	4.409	0.308
			IMG 7784	16	5.614	0.581	3.024	4.443		
			IMG 7785	11	5.183	0.591	2.864	4.121		
			IMG 7786	16	6.132	0.576	2.153	4.590		
			IMG 7787	15	4.726	0.576	1.711	4.085		
300	3	20	IMG 7842	20	5.786	0.574	2.895	4.372	3.758	0.399
			IMG 7844	34	5.309	0.569	2.282	3.621		
			IMG 7845	28	4.892	0.574	2.332	3.679		
			IMG 7847	24	4.260	0.591	2.223	3.282		
			IMG 7850	31	5.606	0.646	2.856	3.837		

Tabela 16 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 5 L/h, pH 5 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter (mm) Médio	σ
0	5	5	IMG 7270	218	2.922	0.570	1.220	1.435	1.602	0.106
			IMG 7271	215	2.964	0.582	1.297	1.638		
			IMG 7272	222	3.672	0.566	1.303	1.632		
			IMG 7273	227	3.684	0.596	1.318	1.582		
			IMG 7274	216	4.365	0.569	1.304	1.723		
100	5	5	IMG 7282	150	3.621	0.654	1.396	1.863	1.996	0.120
			IMG 7283	150	3.666	0.619	1.417	2.008		
			IMG 7284	126	3.426	0.629	1.432	2.030		
			IMG 7285	131	4.365	0.598	1.473	2.171		
			IMG 7286	128	3.418	0.574	1.445	1.907		
200	5	5	IMG 7370	323	2.255	0.581	1.104	1.318	1.364	0.055
			IMG 7371	300	3.835	0.586	1.153	1.439		
			IMG 7372	380	2.756	0.569	1.118	1.337		
			IMG 7373	348	2.795	0.569	1.109	1.321		
			IMG 7374	358	2.491	0.582	1.217	1.404		
300	5	5	IMG 7433	118	3.222	0.584	1.473	1.944	2.055	0.097
			IMG 7434	129	3.154	0.566	1.457	1.913		
			IMG 7435	105	4.569	0.588	1.592	2.106		
			IMG 7436	102	3.396	0.570	1.596	2.028		
			IMG 7437	79	4.082	0.576	1.552	2.284		

Tabela 17 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 10 L/h, pH 5 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter (mm) Médio	σ
0	5	10	IMG 7552	40	4.176	0.606	2.114	2.923	3.304	0.370
			IMG 7553	40	5.310	0.637	2.563	3.818		
			IMG 7554	38	5.472	0.574	2.184	3.324		
			IMG 7555	36	5.345	0.572	2.393	3.479		
			IMG 7556	39	4.303	0.581	2.118	2.976		
100	5	10	IMG 7662	23	5.899	0.704	3.233	4.342	4.032	0.418
			IMG 7663	16	5.735	0.574	2.593	4.273		
			IMG 7671	21	5.465	0.566	2.963	4.367		
			IMG 7672	18	4.973	0.592	2.212	3.449		
			IMG 7677	26	4.819	0.566	2.167	3.728		
200	5	10	IMG 7484	41	4.724	0.586	2.276	3.304	3.571	0.283
			IMG 7485	35	4.809	0.570	1.971	3.587		
			IMG 7486	36	4.619	0.623	2.440	3.332		
			IMG 7487	32	5.140	0.579	2.579	3.627		
			IMG 7490	24	5.767	0.566	2.939	4.005		
300	5	10	IMG 7640	43	4.945	0.569	1.815	2.819	2.819	0.125
			IMG 7641	67	4.909	0.598	2.011	2.766		
			IMG 7642	70	4.660	0.576	2.107	3.015		
			IMG 7643	37	3.796	0.686	1.984	2.672		
			IMG 7644	56	4.664	0.610	1.970	2.820		

Tabela 18 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 20 L/h, pH 5 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter (mm) Médio	σ
0	5	20	IMG 7299	17	6.018	0.612	3.832	4.543	4.308	0.152
			IMG 7300	15	5.618	0.569	3.582	4.356		
			IMG 7301	13	6.141	0.579	3.421	4.285		
			IMG 7302	11	4.915	2.058	3.725	4.162		
			IMG 7303	17	5.477	0.615	3.548	4.194		
100	5	20	IMG 7768	16	4.325	0.566	1.686	3.509	4.084	0.386
			IMG 7769	16	5.722	0.566	1.875	4.523		
			IMG 7770	12	5.368	0.569	1.866	3.975		
			IMG 7774	13	5.586	0.570	1.858	4.330		
			IMG 7780	19	5.608	0.569	1.884	4.082		
200	5	20	IMG 7802	35	4.775	0.581	2.145	3.577	3.862	0.432
			IMG 7803	40	4.592	0.576	2.174	3.305		
			IMG 7804	31	5.290	0.594	2.938	3.897		
			IMG 7806	25	6.053	0.572	2.484	4.140		
			IMG 7813	16	5.918	0.572	2.707	4.389		
300	5	20	IMG 7824	44	5.366	0.566	2.546	3.590	3.387	0.221
			IMG 7825	46	4.896	0.566	2.311	3.431		
			IMG 7826	45	4.975	0.603	2.909	3.596		
			IMG 7827	26	4.099	0.594	2.582	3.109		
			IMG 7829	23	4.477	0.582	2.363	3.210		

Tabela 19 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 5 L/h, pH 7 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter (mm) Médio	σ
0	7	5	IMG 7299	206	3.892	0.572	1.187	1.454	1.681	0.165
			IMG 7300	158	3.973	0.566	1.258	1.653		
			IMG 7301	168	3.318	0.574	1.395	1.772		
			IMG 7302	162	2.896	0.584	1.350	1.631		
			IMG 7303	164	4.473	0.606	1.424	1.894		
100	7	5	IMG 7311	176	2.878	0.591	1.268	1.69	1.761	0.094
			IMG 7312	173	2.941	0.570	1.179	1.654		
			IMG 7313	171	3.054	0.591	1.304	1.779		
			IMG 7314	165	4.203	0.648	1.308	1.895		
			IMG 7315	165	3.293	0.569	1.312	1.787		
200	7	5	IMG 7392	59	3.993	0.606	1.604	2.529	2.491	0.240
			IMG 7393	77	5.498	0.592	1.599	2.659		
			IMG 7394	61	5.746	0.656	1.659	2.773		
			IMG 7395	45	3.455	0.783	1.611	2.211		
			IMG 7396	54	3.870	0.574	1.589	2.284		
300	7	5	IMG 7447	81	4.572	0.686	1.893	2.614	2.552	0.108
			IMG 7448	57	3.881	0.576	1.705	2.447		
			IMG 7449	65	3.905	0.579	1.844	2.566		
			IMG 7450	69	4.589	0.574	1.878	2.692		
			IMG 7451	56	3.759	0.643	1.702	2.442		

Tabela 20 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 10 L/h, pH 7 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter (mm) Médio	σ
0	7	10	IMG 7519	23	5.377	0.896	2.618	3.820	3.602	0.310
			IMG 7520	31	5.377	0.612	2.449	3.910		
			IMG 7521	28	4.897	0.586	2.853	3.736		
			IMG 7522	33	4.548	0.680	2.400	3.319		
			IMG 7523	37	5.134	0.576	2.209	3.224		
100	7	10	IMG 7681	26	6.089	0.566	2.66	4.316	4.006	0.424
			IMG 7683	21	5.137	0.859	2.326	3.574		
			IMG 7688	27	4.695	0.824	2.315	3.514		
			IMG 7689	26	5.596	0.572	2.688	4.269		
			IMG 7693	17	6.098	0.665	2.573	4.359		
200	7	10	IMG 7496	24	4.847	0.808	2.533	3.387	3.628	0.468
			IMG 7497	30	4.594	0.955	2.481	3.380		
			IMG 7498	25	4.134	0.570	2.120	3.135		
			IMG 7500	35	5.147	0.594	2.561	3.992		
			IMG 7503	29	5.642	0.596	2.730	4.244		
300	7	10	IMG 8189	42	4.737	0.588	2.360	3.221	3.237	0.105
			IMG 8190	60	4.510	0.569	2.108	3.065		
			IMG 8191	44	4.833	0.600	2.440	3.263		
			IMG 8192	51	4.814	0.566	2.346	3.336		
			IMG 8193	48	4.558	0.588	2.621	3.301		

Tabela 21 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 20 L/h, pH 7 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter (mm) Médio	σ
0	7	20	IMG 7593	21	5.848	0.621	3.110	4.568	4.015	0.459
			IMG 7594	29	6.054	0.663	3.516	4.118		
			IMG 7597	13	6.040	0.938	3.378	4.173		
			IMG 7599	13	4.062	0.702	2.983	3.317		
			IMG 7601	17	4.769	0.566	2.755	3.899		
100	7	20	IMG 7910	7	4.982	0.588	1.272	4.573	4.137	0.320
			IMG 7911	35	5.033	0.574	1.784	3.694		
			IMG 7920	11	5.219	0.600	2.682	4.106		
			IMG 7922	14	5.216	0.566	1.929	4.256		
			IMG 7926	11	5.216	0.576	2.302	4.057		
200	7	20	IMG 7854	19	4.552	0.591	2.052	3.465	3.972	0.488
			IMG 7856	20	4.867	0.574	2.719	3.552		
			IMG 7858	24	5.749	0.566	1.721	4.524		
			IMG 7860	21	5.506	0.570	2.113	4.427		
			IMG 7861	22	5.030	0.576	2.271	3.894		
300	7	20	IMG 7872	17	5.258	0.566	2.298	3.989	4.073	0.324
			IMG 7873	30	4.777	0.581	2.298	3.553		
			IMG 7876	20	5.719	0.566	2.667	4.365		
			IMG 7877	50	5.795	0.574	1.762	4.294		
			IMG 7878	35	5.888	0.572	2.348	4.165		

Tabela 22 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 5 L/h, pH 9 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter (mm) Médio	σ
0	9	5	IMG 7328	224	3.603	0.569	1.226	1.741	1.551	0.114
			IMG 7329	232	3.942	0.569	1.147	1.535		
			IMG 7330	252	3.488	0.582	1.129	1.473		
			IMG 7331	213	2.790	0.569	1.132	1.456		
			IMG 7332	235	4.328	0.566	1.136	1.551		
100	9	5	IMG 7341	228	3.338	0.572	1.062	1.459	1.510	0.130
			IMG 7342	215	3.896	0.566	1.088	1.660		
			IMG 7343	257	3.092	0.570	1.024	1.346		
			IMG 7344	267	3.665	0.569	1.046	1.459		
			IMG 7345	301	3.463	0.57	1.088	1.626		
200	9	5	IMG 7406	67	4.693	0.569	1.727	2.929	2.595	0.292
			IMG 7407	84	4.240	0.572	1.592	2.292		
			IMG 7408	68	3.426	0.566	1.699	2.285		
			IMG 7409	69	4.342	0.574	1.730	2.692		
			IMG 7410	64	4.624	0.621	1.613	2.777		
300	9	5	IMG 7461	83	3.829	0.569	1.689	2.438	2.460	0.193
			IMG 7462	89	5.303	0.581	1.578	2.507		
			IMG 7463	83	4.099	0.608	1.645	2.279		
			IMG 7464	72	4.760	0.617	1.828	2.763		
			IMG 7465	88	3.569	0.572	1.635	2.313		

Tabela 23 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 10 L/h, pH 9 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter (mm) Médio	σ
0	9	10	IMG 7530	41	5.404	0.566	2.409	3.723	3.455	0.482
			IMG 7531	25	5.681	0.637	2.788	3.994		
			IMG 7532	43	4.517	0.566	1.983	2.765		
			IMG 7533	39	4.760	0.576	2.332	3.189		
			IMG 7534	32	5.054	0.569	2.540	3.602		
100	9	10	IMG 7711	56	5.351	0.566	1.533	3.447	3.831	0.371
			IMG 7712	30	4.987	0.586	2.467	3.606		
			IMG 7713	17	5.033	0.584	2.419	3.865		
			IMG 7714	16	6.128	0.917	3.420	4.424		
			IMG 7715	20	5.069	0.588	2.507	3.812		
200	9	10	IMG 7507	46	4.370	0.570	1.897	2.999	3.344	0.263
			IMG 7508	36	5.263	0.685	2.081	3.212		
			IMG 7509	40	5.098	0.614	2.063	3.35		
			IMG 7510	45	5.927	0.626	2.274	3.458		
			IMG 7511	33	5.035	0.617	1.930	3.700		
300	9	10	IMG 7743	66	4.931	0.579	2.072	3.213	3.317	0.240
			IMG 7744	82	5.686	0.576	1.725	3.177		
			IMG 7745	43	5.116	0.621	2.507	3.521		
			IMG 7746	43	4.301	0.715	2.237	3.058		
			IMG 7747	41	4.728	0.570	2.168	3.620		

Tabela 24 – Diâmetros médios de Sauter das bolhas para vazão de ar de 20 L/h, pH 9 com biomassa de *Rhodococcus opacus*

Conc (mg/L)	pH	Vazão Ar (L/h)	Imagem	Nº de Bolhas	Diâmetro Máx (mm)	Diâmetro Mín (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Diâmetro Sauter (mm)	Diâmetro Sauter Médio (mm)	σ
0	9	20	IMG 7606	17	4.819	0.630	3.169	3.917	3.885	0.153
			IMG 7607	17	5.556	0.576	3.014	3.892		
			IMG 7610	29	4.971	0.569	2.767	3.633		
			IMG 7612	19	5.489	0.608	3.379	4.046		
			IMG 7613	31	5.208	0.566	2.385	3.937		
100	9	20	IMG 7930	29	5.548	0.623	2.489	3.943	4.299	0.524
			IMG 7935	16	4.697	0.584	2.408	3.572		
			IMG 7936	9	5.113	3.485	4.351	4.473		
			IMG 7941	9	6.048	0.581	2.281	4.756		
			IMG 7942	9	5.800	2.871	4.259	4.751		
200	9	20	IMG 7883	31	5.507	0.584	2.888	4.032	3.935	0.393
			IMG 7884	24	5.532	0.574	2.459	4.182		
			IMG 7885	23	4.214	0.566	2.123	3.264		
			IMG 7886	28	5.707	0.582	2.158	3.951		
300	9	20	IMG 7887	16	5.943	0.570	2.994	4.245	3.638	0.260
			IMG 7894	37	5.168	0.572	2.109	3.299		
			IMG 7895	34	4.326	0.581	2.445	3.513		
			IMG 7896	39	5.293	0.570	2.726	3.763		
			IMG 7897	30	5.618	0.584	2.720	3.622		
			IMG 7898	24	5.847	0.574	2.617	3.991		

6.1.1.1.

Efeito do pH e da concentração de surfatante

As Figuras 45, 46 e 47 mostram gráficos com o efeito do pH e concentração de biomassa de *Rhodococcus opacus* no diâmetro das bolhas, mantendo constantes as vazões de ar em 5, 10 e 20 L/h respectivamente.

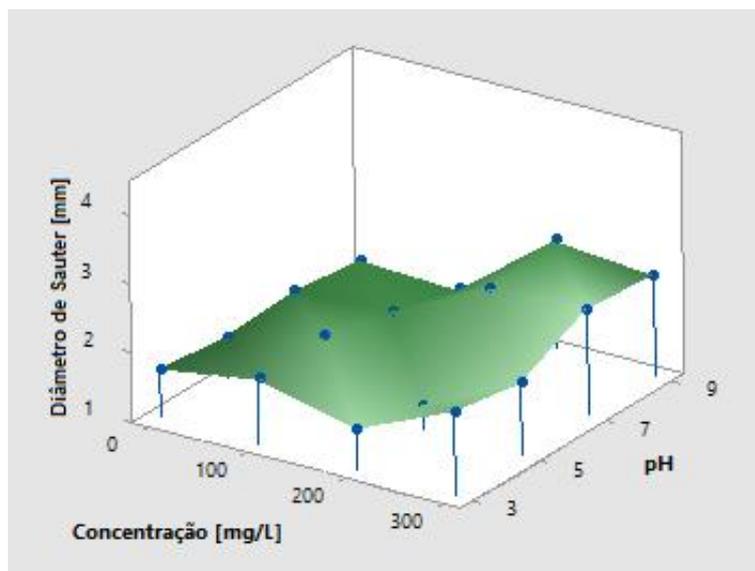


Figura 45 – Efeito do pH e da concentração de biomassa no diâmetro das bolhas, com Vazão de ar: 5 L/h

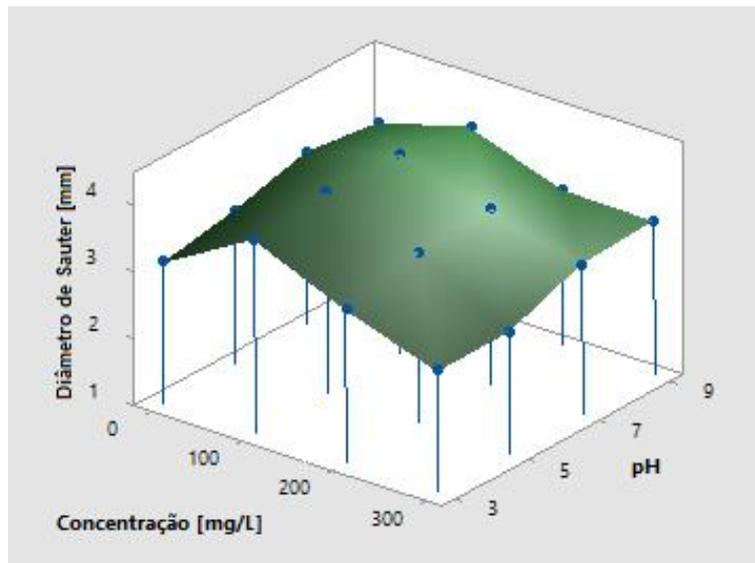


Figura 46 – Efeito do pH e da concentração de biomassa no diâmetro das bolhas, com Vazão de ar: 10 L/h

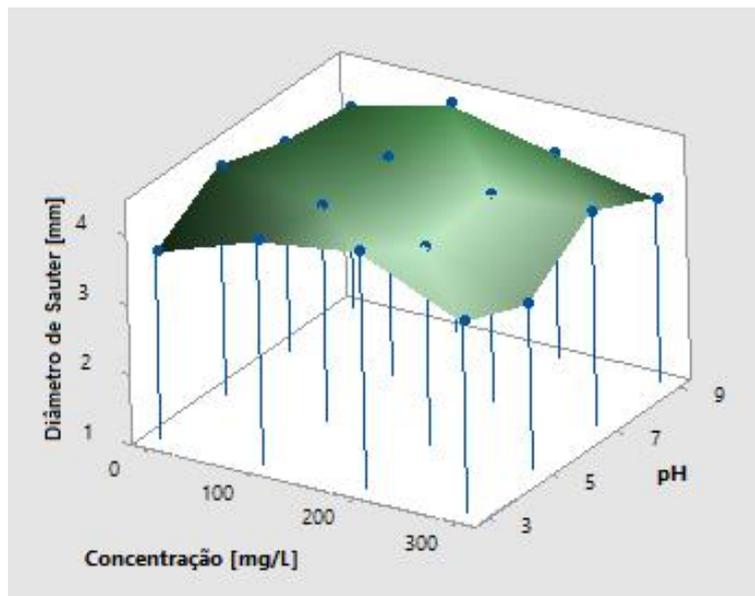


Figura 47 – Efeito do pH e da concentração de biomassa no diâmetro das bolhas, com Vazão de ar: 20 L/h

Destes gráficos das Figuras 45, 46 e 47 se pode concluir que em se mantendo constante a vazão de ar em cada um dos gráficos respectivamente 5, 10 e 20 L/h, o pH influi no diâmetro das bolhas, um incremento de pH faz aumentar o diâmetro das bolhas. A concentração de biomassa também influi no diâmetro das bolhas, um incremento na concentração de biomassa reduz o diâmetro das bolhas; este efeito do diâmetro de bolhas ser inversamente proporcional à concentração de surfatante foi notado por diversos autores como

Filippov, Joussemet & Houot (2000); Laskowski, Cho & Ding (2003); Asari & Hormozi (2013); Liombas et al. (2015). Estes efeitos podem ser explicados pelo fato de que o aumento da concentração de surfatante reduz a tensão superficial e diminui a coalescência de bolhas conforme Shaw (2000); Rao (2004); Myers, (2006); Rosen (2004); Hiemenz & Rajagopalan (1997). Na formação das bolhas nos orifícios da placa porosa, bolhas com menor quantidade de gás são liberadas mais facilmente, mais rapidamente, assim bolhas de menor diâmetro são produzidas; o aumento de pH da solução faz a tensão superficial aumentar e com isto há o aumento do tamanho de bolhas conforme observado por Filippov, Joussemet & Houot (2000) e Azgomi et al. (2007).

6.1.1.2.

Efeito da vazão de ar

A Figura 48 mostra gráficos do diâmetro das bolhas para as vazões de ar de 5, 10 e 20 L/h, mantendo constantes as concentrações de 0, 100, 200, e 300 mg/L de biomassa de *Rhodococcus opacus* respectivamente.

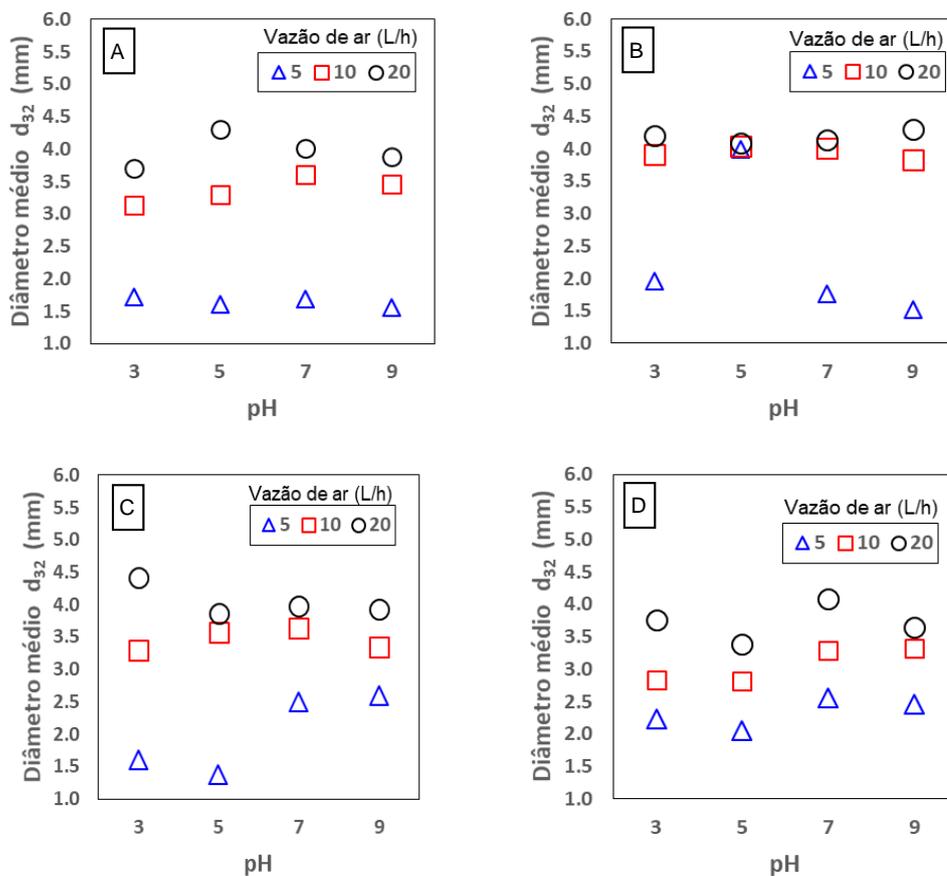


Figura 48 – Diâmetro das bolhas para as vazões de ar de 5, 10 e 20 L/h .

Concentração de biomassa: [A] 0 mg/L; [B] 100 mg/L; [C] 200 mg/L; [D] 300 mg/L.

Destes gráficos da Figura 48 se pode concluir que o diâmetro médio das bolhas aumenta com a vazão, conforme também reportado por Cho (1993) e Samaras et al. (2014), isto se explica pois com maior vazão, a formação da bolha se dá em menor tempo, assim até se desprender a bolha da placa porosa, ela adquire um maior tamanho.

A Figura 49 mostra gráficos com o efeito da vazão de ar no diâmetro das bolhas para as concentrações de biomassa de *Rhodococcus opacus* de 0, 100, 200 e 300 mg/L, mantendo constantes os pHs das soluções em pH 3, 5, 7 e 9 respectivamente.

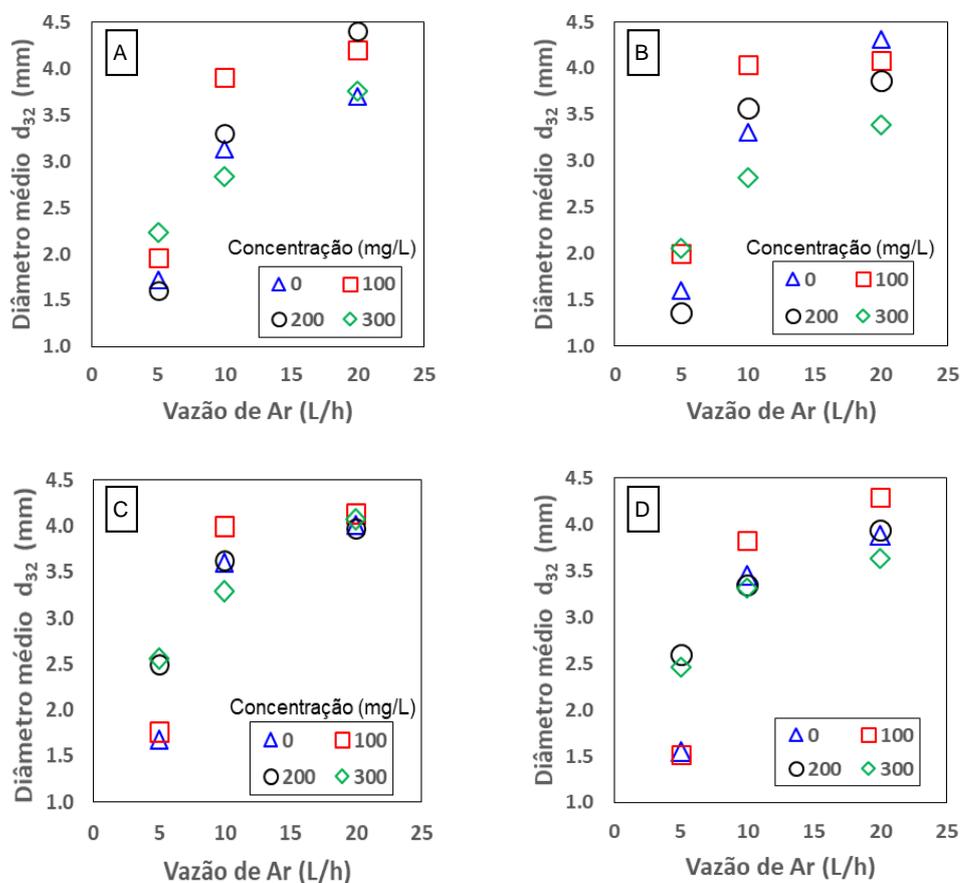


Figura 49 – Efeito da vazão de ar no diâmetro das bolhas. [A] pH da solução: 3; [B] pH da solução: 5; [C] pH da solução: 7; [D] pH da solução: 9.

Os gráficos da Figura 49 também são bastante convincentes em se mostrar que o tamanho de bolha é função direta da vazão de ar neste caso independentemente da concentração do surfatante (biomassa de *Rhodococcus opacus*), também reportado por diversos autores como Gorain et al. (1995); Alkhalidi & Amano (2014).

6.2. Medição da velocidade superficial

Conforme o método descrito no item 5.4 Velocidade superficial, a mesma foi calculada através de cronometragem do rebaixamento do nível de fluido do reservatório no equipamento *Bubble Sizer*.

A Tabela 26 apresenta os resultados de velocidade (mm/s) superficial encontrados para os tempos cronometrados nos ensaios.

Tabela 26 – Velocidade superficial (mm/s) para bolhas produzidas por biomassa de *Rhodococcus opacus*.

		Velocidade superficial do gás (mm/s)			
Vazão	Conc	pH			
5 L/h	mg/L	3	5	7	9
	0	1.378	1.405	1.374	1.397
	100	1.796	1.747	1.822	1.450
	200	1.258	1.488	1.479	2.053
	300	2.070	1.437	2.593	2.553
10 L/h		3	5	7	9
	0	3.754	3.593	4.024	4.057
	100	2.528	3.782	3.376	4.451
	200	3.899	3.992	4.089	3.726
	300	3.331	3.245	2.858	3.593
20 L/h		3	5	7	9
	0	7.085	6.707	7.397	6.449
	100	6.891	7.508	6.288	6.449
	200	7.397	6.707	7.508	7.186
	300	7.984	7.621	7.739	7.397

As Figuras 50, 51 e 52 mostram gráficos com o efeito da concentração de biomassa de *Rhodococcus opacus* e do pH da solução na velocidade superficial para as vazões de ar de 5, 10 e 20 L/h, respectivamente.

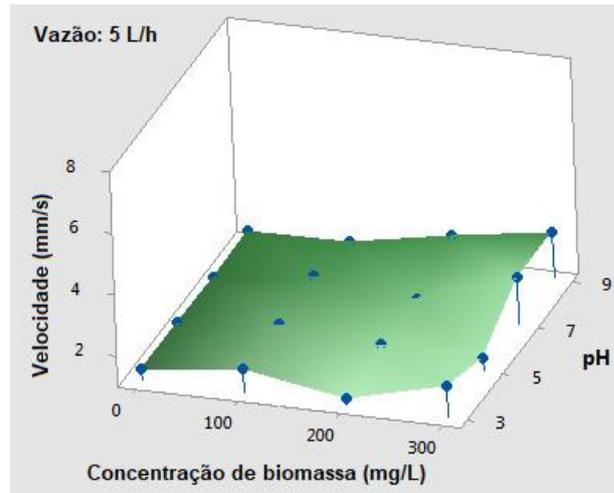


Figura 50 – Efeito da concentração de biomassa *Rhodococcus opacus* e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 5 L/h.

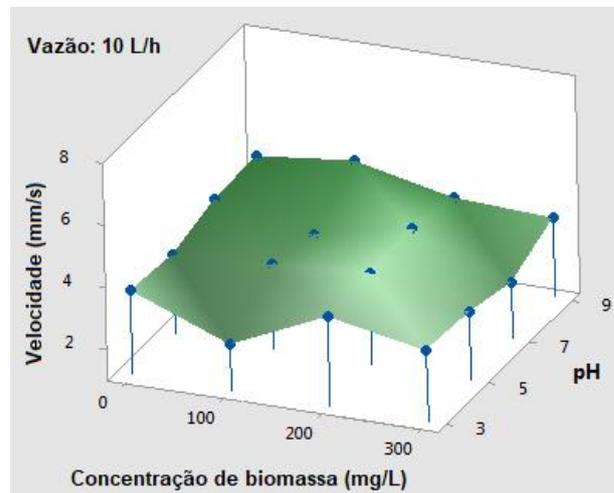


Figura 51 – Efeito da concentração de biomassa *Rhodococcus opacus* e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 10 L/h.

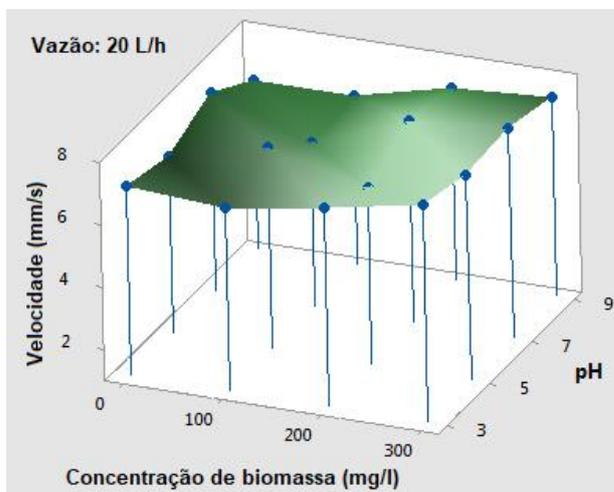


Figura 52 – Efeito da concentração de biomassa *Rhodococcus opacus* e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 20 L/h.

Conforme pode ser observado nas Figuras 50 e 52, a velocidade superficial é crescente com o aumento da concentração de biomassa, principalmente nos pHs mais altos, isto também foi observado por Asari & Hormozi (2013), que pode provavelmente ser explicado pois o aumento da concentração de surfatante resulta no aumento do número de bolhas e decresce o diâmetro médio de Sauter D_{32} , que pode ser atribuído ao aumento da tendência de inibição da coalescência e à diminuição da tensão superficial.

A Figura 53 mostra gráficos com o efeito da vazão de ar na velocidade superficial para soluções com pH 3, 5, 7 e 9, mantendo constantes as concentrações de biomassa de *Rhodococcus opacus* em 0, 100, 200 e 300 mg/L, respectivamente.

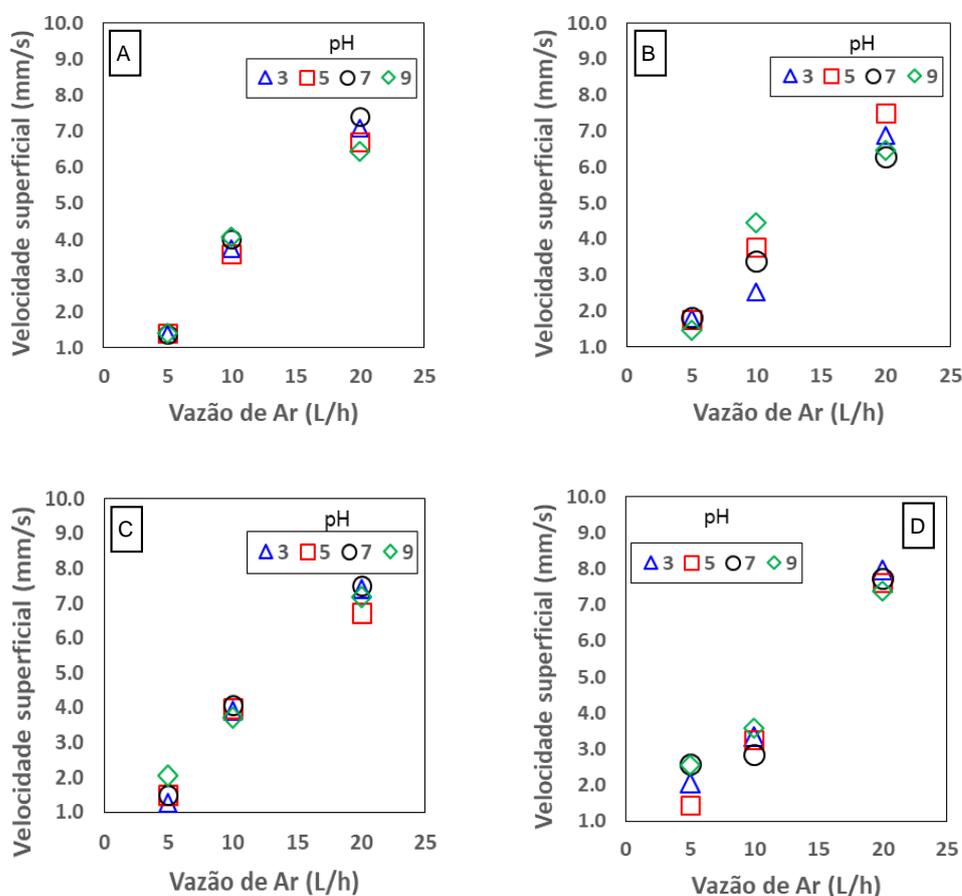


Figura 53 – Efeito da vazão de ar na velocidade superficial. Concentração de biomassa: [A] 0 mg/L; [B] 100 mg/L; [C] 200 mg/L; [D] 300 mg/L.

Os diagramas da Figura 53 mostram que a velocidade superficial é função direta da vazão de ar, o que está coerente com o conceito de ser proporcional à vazão conforme exposto na revisão bibliográfica (Stone Three, 2017). Como justificado anteriormente (item 6.1.1.2), para uma maior vazão, os diâmetros de

bolhas são maiores, e com maior diâmetro a bolha recebe maior força empuxo, elevando a sua velocidade ascensional da bolha. O aumento de pH da solução faz a tensão superficial aumentar e com isto há o aumento do tamanho de bolhas conforme observado por Filippov, Joussemet & Houot (2000) e Azgomi et al. (2007), e assim há um aumento na velocidade superficial.

6.3. Medição da tensão superficial

Conforme o método descrito no item 5.5 Medição de tensão superficial, os ensaios foram realizados num tensiômetro K-10T da marca Krüss pertencente ao CETEM – Centro de Tecnologia Mineral, em uma sala com ar condicionado em temperatura controlada a 23° C, foram realizadas medidas de tensão superficial em soluções dos surfatantes: biomassa de *Rhodococcus opacus*, nas concentrações previstas na Tabela 8.

Foram obtidos os seguintes valores de tensão superficial e seus respectivos desvios padrões, para soluções de biomassa de *Rhodococcus opacus* conforme a Tabela 27.

Tabela 27 – Tensão superficial de soluções de biomassa de *Rhodococcus opacus* a 23° C.

Conc. BM (mg/L)	pH 3		pH 5		pH 7		pH 9	
	Tensão Superficial (mN/m)	Desvio Padrão (mN/m)						
0	68.24	0.324	70.87	0.481	71.35	0.309	69.75	0.627
1	53.22	0.824	54.85	0.569	59.33	0.371	56.63	0.749
3	52.28	0.756	54.44	0.734	57.09	0.268	54.82	0.185
5	51.42	1.638	54.38	0.190	56.84	0.271	54.54	0.354
10	52.38	1.400	53.57	0.550	56.49	2.436	52.87	0.688
20	51.19	1.202	53.29	2.012	53.97	0.280	52.71	0.305
100	49.66	0.207	48.70	1.440	49.78	1.882	49.14	0.172
200	51.14	1.018	48.99	0.726	49.87	0.757	50.21	0.906
300	51.49	0.965	48.19	0.398	49.02	0.586	48.01	0.991
1000	42.82	1.488	39.17	1.810	46.22	1.316	46.23	0.907

A Figura 54 apresenta as curvas da tensão superficial de soluções com biomassa de *Rhodococcus opacus* para os pH das soluções 3, 5, 7 e 9.

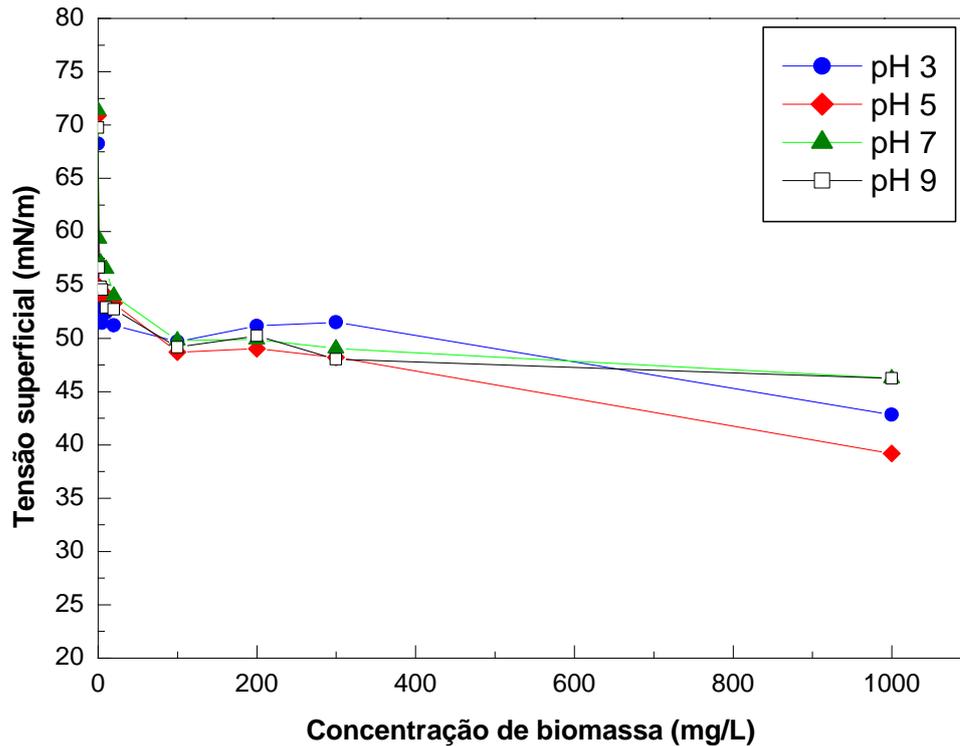


Figura 54 – Tensão superficial de solução de biomassa de *Rhodococcus opacus*.
Temperatura: 23°C

O gráfico da Figura 54 demonstra que a tensão superficial é decrescente com o aumento da concentração do surfatante (biomassa de *Rhodococcus opacus*), até atingir um patamar mínimo, ao redor de 100 mg/L, permitindo visualizar o que deve ser a CMC - Concentração Micelar Crítica, coincidindo com o reportado por diversos autores como: Hiemenz & Rajagopalan (1997), Shaw (2000); Rao (2004); Myers, (2006); Rosen (2004); os valores obtidos além deste ponto, provavelmente devem ser devido a pequenas quantias de impurezas no surfatante, devido ao surfatante obtido ser natural, como observado por Evans (1956), o que dificulta a visualização do efeito da CMC.

6.4. Volume de espuma

Conforme o método descrito no item 5.6.1 Medição do volume de espuma, os ensaios foram realizados numa coluna de Bikerman, foram realizadas medidas do volume de espuma em soluções do surfatante: biomassa de

Rhodococcus opacus, nas concentrações previstas na Tabela 9. Foram obtidos os volumes conforme a Tabela 28.

Tabela 28 – Volume de espuma (L) gerada por biomassa de *Rhodococcus opacus* após 1 min. de aeração.

Vazão	Conc mg/L	Volume de espuma (L)			
		pH			
		3	5	7	9
5 L/h	0	0,011	0,012	0,011	0,014
	100	0,049	0,058	0,059	0,059
	200	0,059	0,068	0,067	0,069
	300	0,066	0,073	0,075	0,078
10 L/h	0	0,014	0,021	0,019	0,019
	100	0,088	0,094	0,107	0,103
	200	0,108	0,104	0,112	0,105
	300	0,121	0,113	0,119	0,124
20 L/h	0	0,020	0,024	0,024	0,020
	100	0,132	0,138	0,124	0,122
	200	0,151	0,171	0,159	0,154
	300	0,171	0,167	0,161	0,166

As Figuras 55, 56 e 57 mostram o efeito da concentração de biomassa de *Rhodococcus opacus* e pH no volume de espuma gerado numa célula de Bikerman mantendo a vazão constante em 5, 10 e 20 L/h, respectivamente, após 1 minuto de aeração.

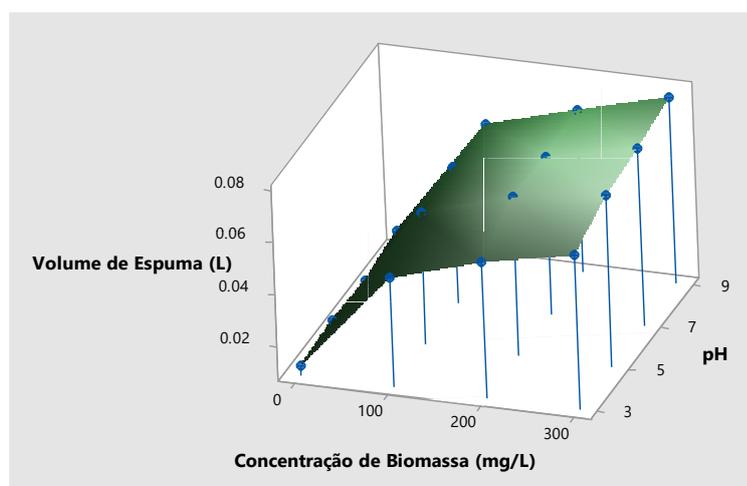


Figura 55 – Efeito da concentração de biomassa *Rhodococcus opacus* e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 5 L/h.

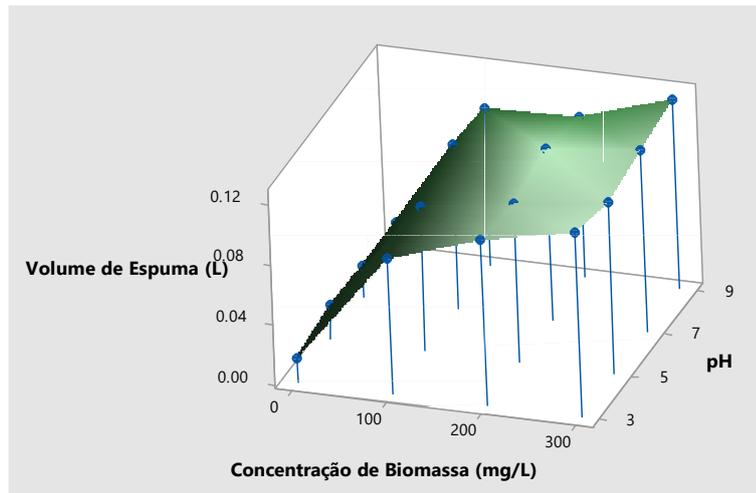


Figura 56 – Efeito da concentração de biomassa *Rhodococcus opacus* e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 10 L/h.

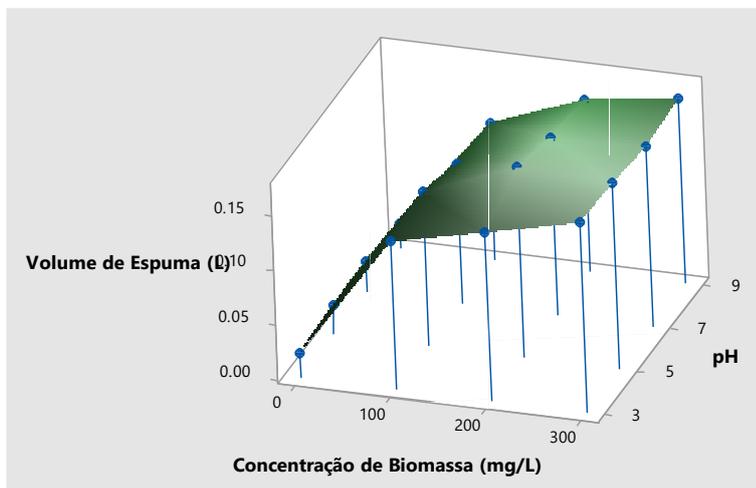


Figura 57 – Efeito da concentração de biomassa *Rhodococcus opacus* e pH da solução na velocidade superficial com vazão de ar constante em 20 L/h.

Das Figuras 55, 56 e 57 pode-se supor que o volume de espuma gerado após 1 minuto de aeração é muito influenciado pela e diretamente proporcional à concentração de biomassa de *Rhodococcus opacus* utilizada, e pouco influenciado pelo pH da solução, como reportado pelos pesquisadores Prud'homme & Khan (1996) e Pugh (2016).

Isto provavelmente pode ser explicado pelo fato de que quando a concentração do agente espumante aumenta, a viscosidade da camada superficial normalmente aumenta, o que faz aumentar a estabilidade da espuma (Bikerman, 1973), com isto aprisionando as bolhas de ar e gerando um maior volume de espuma, também observado por Azgomi, Gomez & Finch (2007).

6.5. Medição do tempo de meia vida da espuma

Conforme o método descrito no item 5.6.2 Medição do tempo de meia vida da espuma, os ensaios foram realizados numa coluna de Bikerman, foram realizadas medidas de meia vida da espuma em soluções do surfatante: biomassa de *Rhodococcus opacus*, nas concentrações previstas na Tabela 10, e foram obtidos as meias vidas conforme a Tabela 29.

Tabela 29 – Meia vida da espuma (s) gerada por biomassa de *Rhodococcus opacus* após 1 min. de aeração.

		Meia vida da espuma (s)			
Vazão	Conc	pH			
5 L/h	mg/L	3	5	7	9
	0	0	0	0	0
	100	10	4	2	2
	200	8	6	10	10
	300	12	14	15	18
	400	14	16	17	20
	500	16	18	20	21
	1000	22	30	32	33
10 L/h		3	5	7	9
	0	0	0	0	0
	100	14	8	9	10
	200	15	14	14	16
	300	16	18	19	19
	400	16	19	20	21
	500	18	21	21	21
	1000	27	30	32	33
20 L/h		3	5	7	9
	0	0	0	0	0
	100	18	17	16	17
	200	19	19	17	17
	300	21	23	20	21
	400	21	21	22	23
	500	23	24	22	23
	1000	24	26	30	28

As Figuras 58, 59 e 60 mostram o efeito da concentração de biomassa de *Rhodococcus opacus* e pH na meia vida da espuma gerada numa célula de Bikerman mantendo a vazão constante em cada gráfico em 5 , 10 e 20 L/h respectivamente, após 1 minuto de aeração.

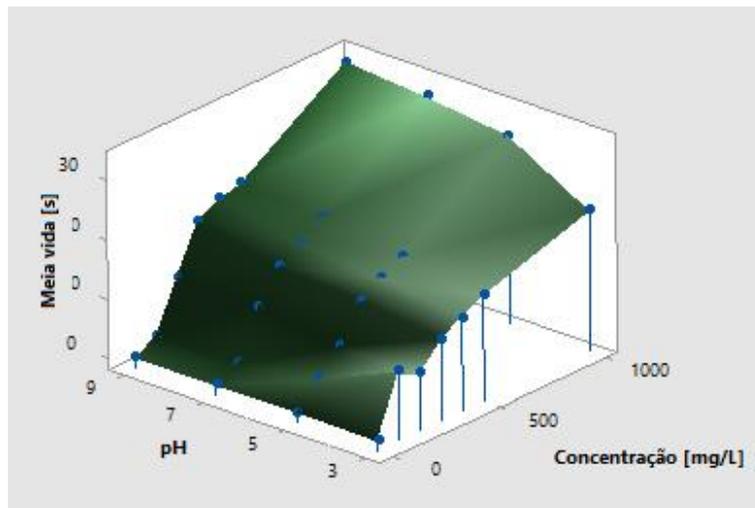


Figura 58 – Efeito da concentração de biomassa *Rhodococcus opacus* e pH da solução na meia vida da espuma, após 1 minuto com vazão de ar constante em 5 L/h.

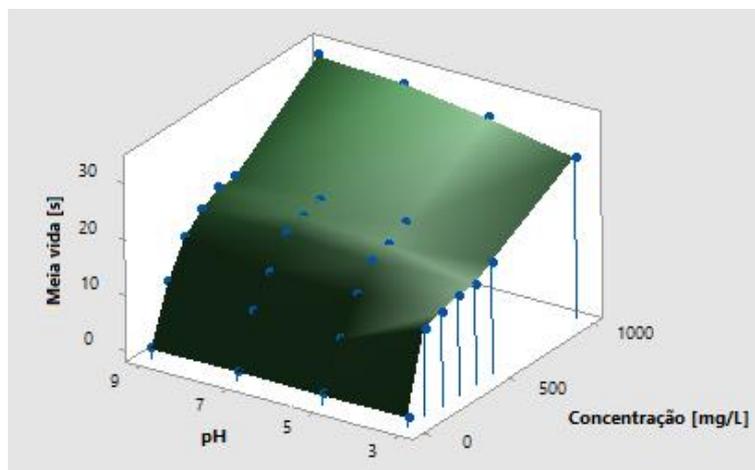


Figura 59 – Efeito da concentração de biomassa *Rhodococcus opacus* e pH da solução na meia vida da espuma, após 1 minuto com vazão de ar constante em 10 L/h.

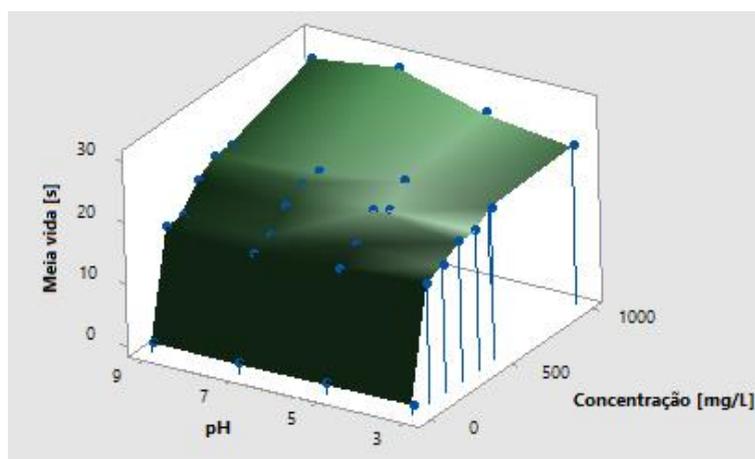


Figura 60 – Efeito da concentração de biomassa *Rhodococcus opacus* e pH da solução na meia vida da espuma, após 1 minuto com vazão de ar constante em 20 L/h.

Das Figuras 58, 59 e 60 pode-se supor que a meia vida da espuma gerada após 1 minuto de aeração é muito influenciada pela e diretamente proporcional à concentração de biomassa de *Rhodococcus opacus* utilizada; conforme evidenciado anteriormente o aumento de concentração aumenta a estabilidade da espuma, e com isto a meia vida é aumentada. A meia vida é pouco influenciada pelo pH da solução, como reportado por Iglesias et al. (1995), apesar disto denota-se nestes gráficos uma tendência a maior meia vida para valores maiores de pH da solução, o que pode ser explicado também pelo aumento da tensão superficial, com isto aumentando a viscosidade da espuma e assim a meia vida.

6.6. Medição da quantidade de líquido na espuma

Conforme o método descrito no item 5.6.3 Medição da quantidade de líquido na espuma, os ensaios foram realizados numa coluna de Bikerman, foram realizadas medidas de alturas e calculadas as porcentagens de líquido nas espumas dos ensaios com soluções do surfatante: biomassa de *Rhodococcus opacus*, nas concentrações previstas na Tabela 11.

Foram obtidos os conteúdos de líquido na espuma para soluções de pH 3, 5, 7 e 9, com concentrações 0, 100, 200, 300 e 1000 de biomassa de *Rhodococcus opacus*, nas vazões de ar de 5, 10 e 20 L/h, conforme a Tabela 30.

Tabela 30 – Quantidade de líquido na espuma (%) gerada por biomassa de *Rhodococcus opacus* após 1 min de aeração.

Vazão	Conc mg/L	Conteúdo de líquido na espuma (%)			
		pH			
		3	5	7	9
5 L/h	0	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	100	1.6%	1.8%	2.8%	1.9%
	200	1.5%	1.5%	2.5%	1.7%
	300	1.5%	1.4%	1.8%	1.6%
	1000	1.1%	1.0%	1.0%	0.9%
10 L/h	0	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	100	1.8%	1.9%	2.0%	2.0%
	200	1.7%	1.6%	1.8%	1.8%
	300	1.6%	1.8%	1.7%	1.8%
	1000	1.4%	1.4%	1.5%	1.5%
20 L/h	0	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	100	1.7%	2.0%	1.7%	1.8%
	200	1.7%	1.7%	1.8%	1.8%
	300	1.8%	1.7%	1.6%	1.8%
	1000	1.6%	1.6%	1.4%	1.4%

As Figuras 61, 62 e 63 mostram o conteúdo de líquido na espuma gerada numa célula de Bikerman por biomassa de *Rhodococcus opacus* e função da concentração de biomassa e do pH da solução nas vazões de ar de 5, 10 e 20 L/h, respectivamente, após 1 minuto de aeração.

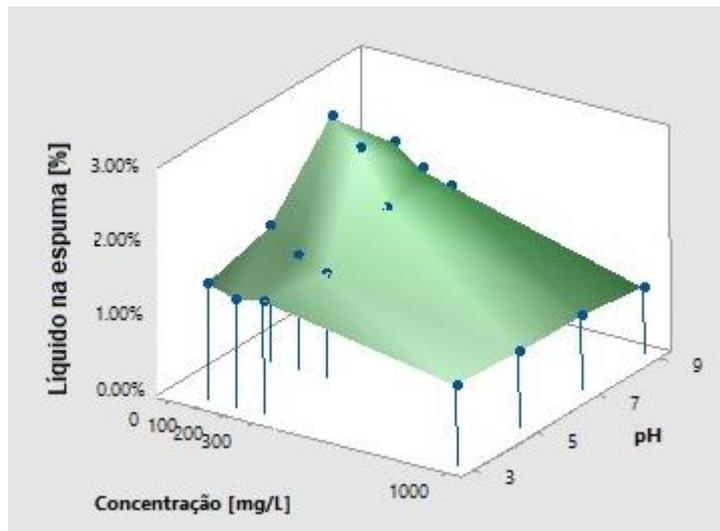


Figura 61 – Conteúdo de líquido na espuma gerada por biomassa *Rhodococcus opacus*, após 1 minuto com vazão de ar constante em 5 L/h.

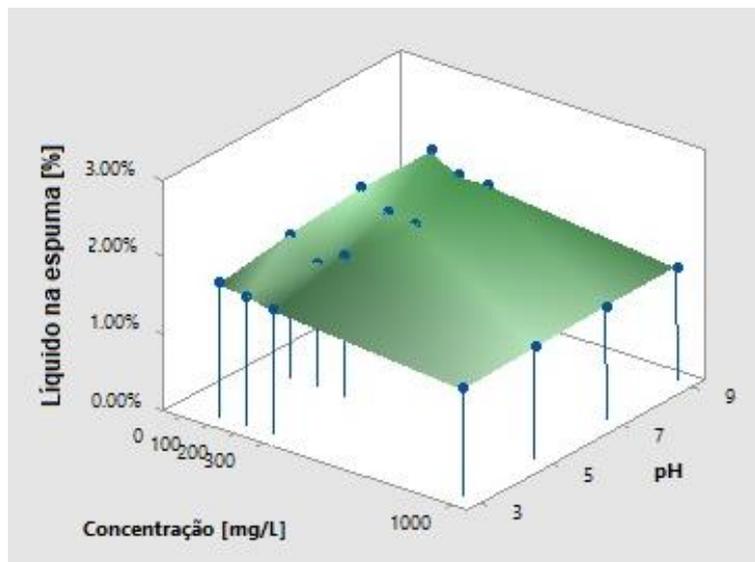


Figura 62 – Conteúdo de líquido na espuma gerada por biomassa *Rhodococcus opacus*, após 1 minuto com vazão de ar constante em 10 L/h.

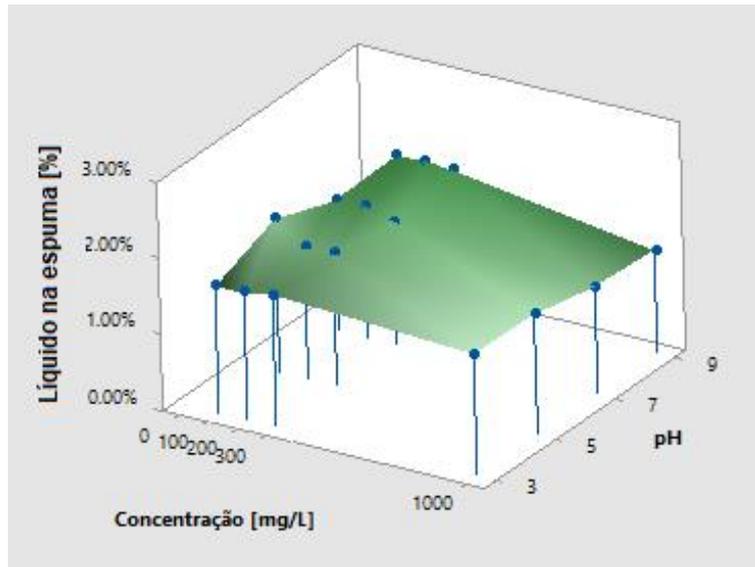


Figura 63 – Conteúdo de líquido na espuma gerada por biomassa *Rhodococcus opacus*, após 1 minuto com vazão de ar constante em 20 L/h.

Das Figuras 61, 62 e 63 pode-se observar que o conteúdo de líquido na espuma gerada numa célula de Bikerman após 1 minuto de aeração é influenciado inversamente proporcional à concentração de biomassa de *Rhodococcus opacus* utilizada, isto pode ser explicado pois se num determinado volume de espuma como mostrado na Figura 64 cabem “n” bolhas de um determinado tamanho, se as bolhas diminuírem de tamanho por acréscimo da concentração de surfatante, caberão mais bolhas neste mesmo volume de espuma, e se a concentração aumentar, as bolhas reduzirão mais ainda, cabendo mais bolhas, até um ponto hipotético em que as bolhas seriam tão pequenas e próximas que seria como se só houvesse bolhas naquele volume de espuma e quase nenhuma quantidade de líquido entre as bolhas, assim em maior concentração teremos menor quantidade de líquido aprisionado entre as bolhas, conseqüentemente, em menor concentração de surfatante teremos maior tamanho de bolhas e maior quantidade de líquido aprisionado entre bolhas.

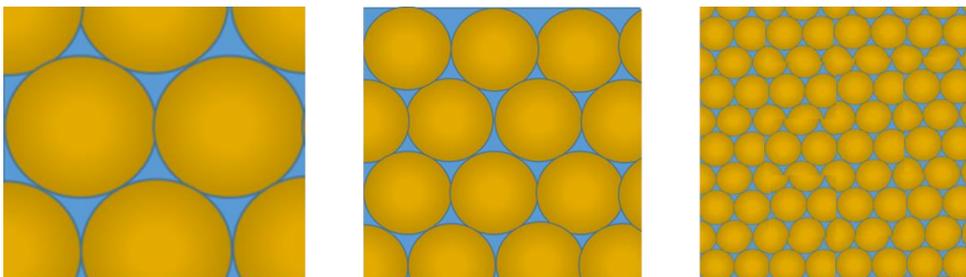


Figura 64 – Quantidade de líquido entre bolhas.

O pH da solução também influencia no conteúdo de líquido da espuma, isto é mais evidente na vazão de 5 L/h (Figura 61) e menos evidente nas vazões mais altas de 10 L/h e 20 L/h, respectivamente Figuras 62 e 63, semelhante ao que foi observado por Bikerman (1973). O aumento de pH da solução faz a tensão superficial aumentar e com isto há o aumento do tamanho de bolhas conforme observado por Filippov, Joussemet & Houot (2000) e Azgomi, Gomez & Finch (2007), este aumento de tamanho de bolhas causa maior quantidade de líquido entre as bolhas, como explicado anteriormente. A maior quantidade de água quando se tem bolhas maiores, também, foi observada por Finch, Gélinas & Moyo (2006).

6.7. Medição da estabilidade da espuma

Conforme o método descrito no item 5.6.4 Medição da estabilidade da espuma, os ensaios de “*shake test*” foram realizados em balões volumétricos com soluções do surfatante: biomassa de *Rhodococcus opacus*, nas concentrações previstas na Tabela 12.

Na Tabela 31 podem ser vistos os tempos de estabilidade da espuma nas nas soluções com pH 3, 5, 7 e 9, com concentrações 0, 100, 200 e 300 mg/L de biomassa de *Rhodococcus opacus*., e plotados nos gráficos da Figura 65.

Tabela 31 – Estabilidade – Tempo (s) para aparecer a superfície limpa no centro da espuma.

Conc. BM (mg/L)	pH 3		pH 5		pH 7		pH 9	
	Tempo (s)	Desvio Padrão (s)	Tempo (s)	Desvio Padrão (s)	Tempo (s)	Desvio Padrão (s)	Tempo (s)	Desvio Padrão (s)
0	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00
100	11,35	1,19	11,30	1,00	12,15	1,56	12,25	1,25
200	15,10	1,55	15,75	1,30	15,65	2,20	15,15	1,96
300	16,45	1,40	16,55	1,72	15,45	2,13	16,60	1.36

Na Figura 65 podem ser vistos gráficos do efeito da concentração de biomassa de *Rhodococcus opacus* na estabilidade de espumas produzidas a partir de soluções em pH 3, 5, 7 e 9 respectivamente.

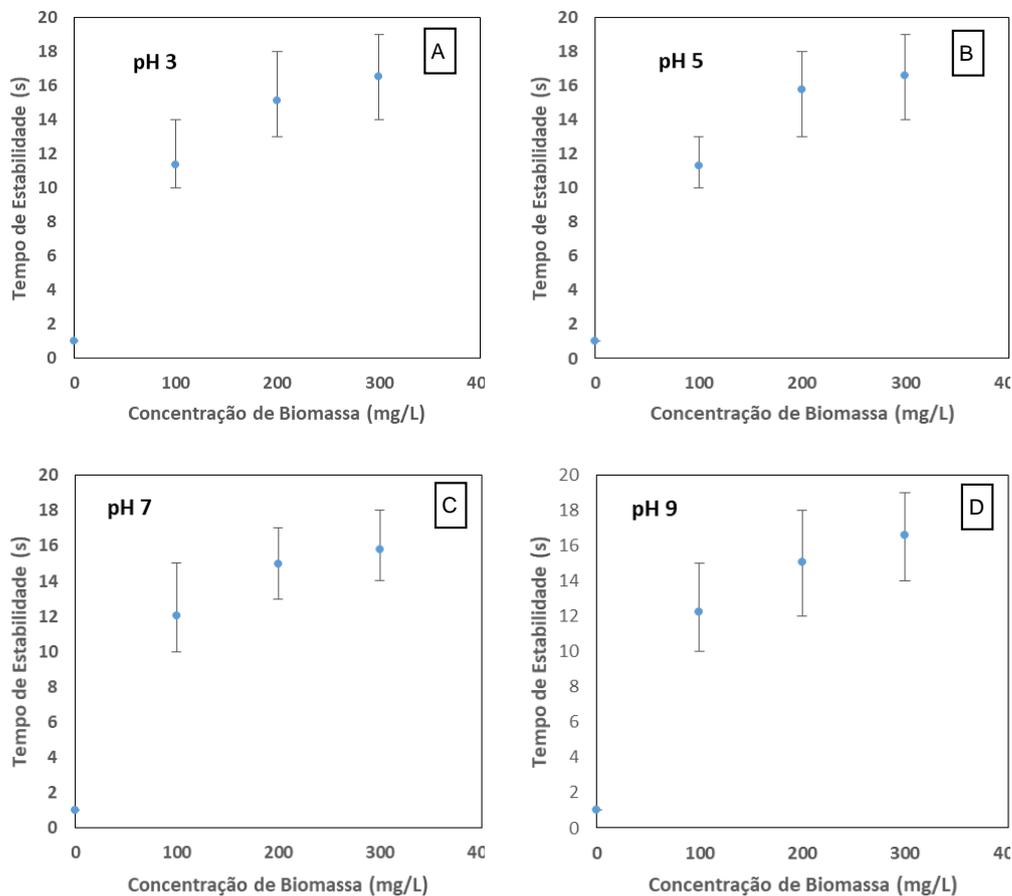


Figura 65 – Efeito da concentração de biomassa *Rhodococcus opacus* na estabilidade da espuma com solução: [A] pH 3 ; [B] pH 5 ; [C] pH 7 ; [D] pH 9 .

Dos diagramas [A], [B], [C] e [D] da Figura 65 pode-se observar que o tempo de estabilidade da espuma gerada no “shake test” é diretamente proporcional e crescente com o incremento da concentração de biomassa de *Rhodococcus opacus* utilizada. Este tempo deve ser crescente para os espumantes como observado por diversos autores como: Huang et al. (1986), Guitián & Joseph (1996), Waltermo et al. (1996), Wang & Yoon (2006). Isto é explicado pelo incremento da concentração de surfatante que produz o aumento de viscosidade da espuma, fazendo crescer o tempo que leva para aparecer a superfície líquida no centro da espuma nos ensaios de “shake test”.

6.8. Espectroscopia no Infravermelho - FTIR da biomassa da *Rhodococcus opacus*

Os espectros no infravermelho foram realizados com o intuito de avaliar os grupos funcionais da *Rhodococcus opacus*.

A bactéria *Rhodococcus opacus* é um micro-organismo que apresenta características similares a alguns surfatantes; é possível observar estas características mediante os espectros de FTIR. A Figura 66 apresenta os principais picos característicos da *Rhodococcus opacus*. Inicialmente, observa-se a banda de absorção em torno de 3289 cm^{-1} que corresponde à vibração de estiramento dos grupos O-H e N-H dos polissacarídeos e das proteínas (Deo & Natarajan, 1988; Schmitt & Fleming, 1998; Santhiya, 2002; Banyay et al., 2003; Bueno et al., 2008; Garip et al., 2009; El-Midany & Abdel-Kalek, 2014; Hacha, 2016; Merma et al., 2017). Também é possível observar as bandas de menor intensidade de 2925 e 2852 cm^{-1} oriundas das vibrações assimétricas e simétricas dos radicais CH_2 que estão presentes nos lipídeos, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos (Deo & Natarajan, 1988; Schmitt & Fleming, 1988; Melin et al., 2004; Robert et al., 2005; Bueno et al., 2008; Hacha, 2016; Merma et al., 2017). Em seguida, a banda de absorção próxima a 1742 cm^{-1} corresponde à vibração do estiramento do grupo funcional C=O encontrado em lipídeos e triglicerídeos (Deo & Natarajan, 1988; Garip et al., 2009). Além disso, é possível observar uma região entre 1631 e 1538 cm^{-1} associada à vibração dos grupos amida I e amida II (Deo & Natarajan, 1988; Rigas et al., 1990; Stuart, 1997; Bueno et al., 2008; Hacha, 2016).

A banda de absorção 1464 cm^{-1} pertence à vibração simétrica dos radicais CH_2 (Garip et al., 2009; El-Midany & Abdel-Kalek, 2014; Merma et al., 2017). Por outro lado, a banda de absorção 1400 cm^{-1} corresponde à vibração assimétrica do grupo COO^- (Deo & Natarajan, 1988; Merma et al., 2017). As bandas de absorção 1235 e 1061 cm^{-1} representam as vibrações assimétricas do PO_2^- presentes nos fosfolipídios e ácidos nucleicos (Helm e Naumann, 1995; Robert et al., 2005; Bueno et al., 2008; Garip et al., 2009, Hacha, 2016; Merma et al., 2017). A banda de absorção de 698 cm^{-1} corresponde ao ácido dipicolínico (DPA) e vibrações de flexão do do grupo COO^- . Finalmente, a banda de absorção de vibração de $567,94\text{ cm}^{-1}$ representa o grupo PO_4^{3-} (Koroleva et al., 2012; Hacha, 2016).

A presença destes grupos funcionais detectados na biomassa da *Rhodococcus opacus* e relatados na Tabela 2, também são características em

alguns espumantes sintéticos como mostrado por Crozier (1992); Bulatovic (2007) e Khoshdast & Sam (2011).

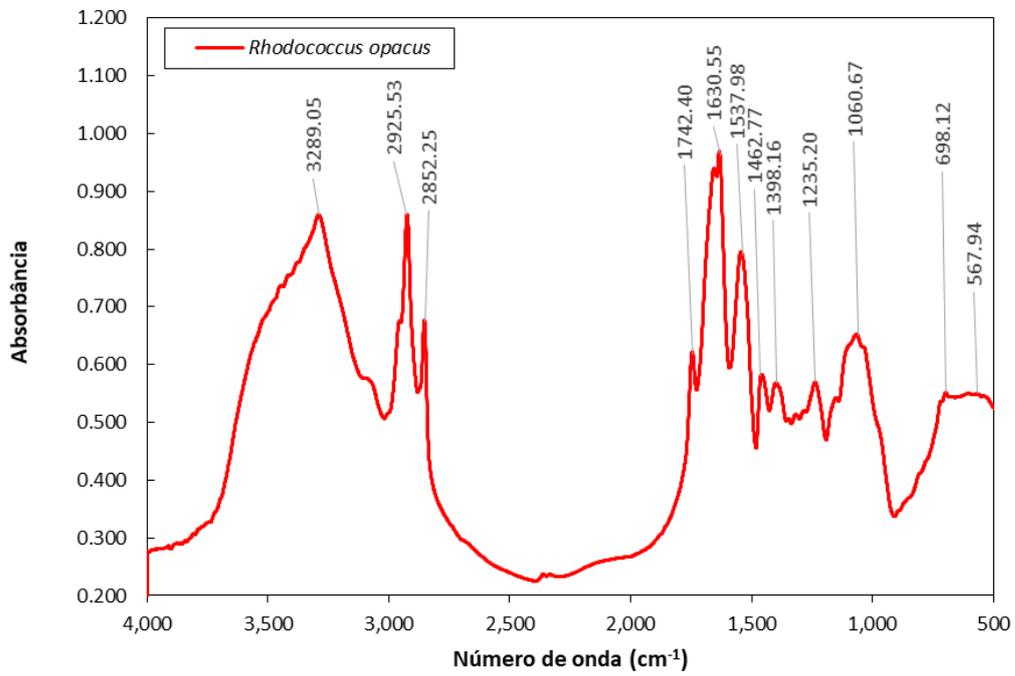


Figura 66 – Espectro FTIR de absorvância da biomassa da *Rhodococcus opacus*.

7 Conclusões

Este bioespumante permitiu controlar o tamanho de bolhas, produzindo bolhas de tamanho até 1,3 mm em ampla faixa de pH, e pode reduzir a tensão superficial até 39 mN/m, mesmo em concentração como 100 mg/L promove o decréscimo da tensão superficial para 50 mN/m das soluções em todos os pHs testados. Além disso, produz um crescente volume de espuma com o aumento da concentração de biomassa; também, as espumas produzidas apresentaram boa estabilidade.

Os resultados obtidos permitiram concluir que a eficiência do bioespumante está relacionada à sua pureza, na *Rhodococcus opacus*, a composição da parede celular e envoltório apresentam diversos componentes não homogêneos com características surfatantes (peptideoglicano, polissacarídeos, ácidos orgânicos, EPS, proteínas e lipídeos) que conferem uma ação espumante. A eficiência deste biorreagente pode ser aprimorada mediante a separação e a obtenção de biosurfatantes de interesse. Desta forma, a utilização de um biosurfatante com alta pureza irá aumentar a performance e desta forma poderá ser utilizado no processamento mineral em escala industrial.

Os resultados obtidos indicaram a viabilidade técnica na espumação em processo de flotação com biomassa de *Rhodococcus opacus*, pois para uma concentração de 300 mg/L de bioespumante obteve-se meia vida na faixa de 10 a 20 seg.

Os resultados (tamanho de bolha, velocidade superficial, volume de espuma, meia vida, estabilidade e tensão superficial) atingidos nos ensaios de caracterização das espumas obtidas com biomassa de *Rhodococcus opacus* permitiram concluir que esta biomassa tem grande potencial de ser utilizada como biorreagente (bioespumante) em flotação.

8

Referências bibliográficas

ABBOTT, S. **Surfactant Science: Principles and Practice**. Ipswich, UK: Steven Abbott TCNF Ltd, 2015.

ALKHALIDI, A. A. T.; AMANO, R. S. Factors affecting fine bubble creation and bubble size for activated sludge. **Water and Environment Journal**, v. 29 p. 105-113, 2014.

ALVAREZ, H. M. et al. Physiological and morphological responses of the soil bacterium *Rhodococcus opacus* strain PD630 to water stress. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 50, n. 2, p. 75-86, 2004.

ALVAREZ, H. M. **Biology of Rhodococcus**. Berlin: Springer-Verlag, 2010.

AHMED, N.; JAMESON, G.J. The effect of bubble size on the rate of flotation of fine particles. **International Journal of Mineral Processing**, v.14, p. 195—215, 1985.

ASARI, M.; HORMOZI, F. Effects of surfactant on bubble size distribution and gas hold-up in a bubble column. **American Journal of Chemical Engineering** vol 1(2), p. 50-58, 2013.

AZGOMI, F., GOMEZ, C. O., FINCH, J. A. Correspondence of gas holdup and bubble size in presence of different frothers. **International Journal of Mineral Processing**, v. 83, p. 1-11, 2007.

BASHFORTH, F.; ADAMS, J. C. **An Attempt to Test the Theories of Capillary Action**. Cambridge, UK: Cambridge University Press, (1883).

BANYAY, M.; SARKAR, M.; GRASLUND, A. A library of IR bands of nucleic acids in solution. **Biophysical chemistry**, v. 104, n. 2, p. 477-488, 2003.

BEVERIDGE, T. J. Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles. **Journal of bacteriology**, v. 181, n. 16, p. 4725-4733, 1999.

BIKERMAN, J. J. **Foams**. New York: Springer-Verlag New York Inc. 337 p, 1973.

BIRDI, K. S. **Handbook of Colloid and Surface Chemistry**, 4 ed. Boca Raton, USA: CRC Press, 2016.

BELL, K.S. et al. The genus *Rhodococcus*. **Journal of Applied Microbiology** 1998, v.85, p 195-210, 1998.

BOGDANOV, O. S.; KIZEVALTER, B. V.; MASLOVA, S. G. The effects of frothers on the content of air in a flotation pulp, **Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR Tech. Sci. Sec.** n.3, p. 412-416, 1950.

BOOTH, R.B. **Frothing agents for the flotation of ores and coal**. US Patent 2,675,101, 1954.

BORISOVA, R. B. **Isolation of a Rhodococcus Soil Bacterium that Produces a Strong Antibacterial Compound**. Tennessee, 85p. Tese - Faculty of the Department of Health Sciences, East Tennessee State University, 2011.

- BOTERO, A. E. C.; TOREM, M. L.; MESQUITA, L. M. S. Fundamental studies of *Rhodococcus opacus* as a biocollector of calcite and magnesite. **Minerals Engineering**, v. 20, p. 1026–1032, 2007.
- BUENO, B. Y. M. et al. Biosorption of lead (II), chromium (III) and copper (II) by *R. opacus*: Equilibrium and kinetic studies. **Minerals Engineering**, v. 21, n. 1, p. 65-75, 2008.
- BUENO, B. Y. M. et al. Fundamental aspects of biosorption of lead (II) ions onto a *Rhodococcus opacus* strain for environmental applications. **Minerals Engineering**, v. 24, n. 14, p. 1619-1624, 2011.
- BULATOVIC, S.M. **Handbook of Flotation Reagents (Chemistry, Theory and Practice: Flotation of Sulfide Ores)**, vol. 1. Amsterdam: Elsevier Science & Technology Books, 2007.
- CHAVES, A.P. **Flotação: o estado da arte no Brasil** (Coleção Teoria e prática do tratamento de minérios, vol. 4). São Paulo: Signus Editora, 2006.
- CHEN, F.; GOMEZ, C.O.; FINCH, J.A. Bubble size measurement on flotation machines. **Minerals Engineering**, v. 14, n. 4, p. 427-432, 2001.
- CONCEIÇÃO, F. R. **Morfologia e Citologia Bacteriana**. Curso de Biotecnologia, Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2010.
- CHANDRAPRABHA, M.N.; NATARAJAN, K.A. Surface chemical and flotation behaviour of chalcopyrite and pyrite in the presence of *Acidithiobacillus thiooxidans*. **Hydrometallurgy**, Vol. 83, Issues 1–4, p. 46-152, 2006.
- CHO, Y.S. **Effect of flotation frothers on bubble size and foam stability**. Tese de mestrado, University of British Columbia, 1993.
- CHO, Y. S.; LASKOWSKI, J. S. Effect of flotation frothers on bubble size and foam stability. **International Journal of Mineral Processing**, v. 64, p. 69–80, 2002.
- COUTO, H. J. B. et al. Micro-bubble size distribution measurements by laser diffraction technique. **Minerals Engineering**, v.22, p 330-335, 2009.
- CROZIER, R.D. **Flotation: Theory, Reagents and Ore Testing**. Oxford, UK: Pergamon Press, 1992.
- CYTEC. **Mining Chemicals Handbook**, USA: Cytec Industries Inc. 2002.
- DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2011.
- DAVENPORT, W. et al. **Extractive metallurgy of copper, 4 ed.** Oxford, UK: Pergamon, 2002.
- DEO, N.; NATARAJAN, K. A. Studies on interaction of *Paenibacillus polymyxa* with iron ore minerals in relation to beneficiation. **International Journal of Mineral Processing**, v. 55, n. 1, p. 41-60, 1988.
- DEO, N., NATARAJAN, K. A. Interaction of *Bacillus polymyxa* with some oxide minerals with reference to mineral beneficiation and environmental control. **Minerals Engineering**. v. 10, n. 12, p. 1339-1354, 1997.
- DEO, N.; NATARAJAN, K. A.; SOMASUNDARAN, P. Mechanisms of adhesion of *Paenibacillus polymyxa* onto hematite, corundum and quartz. **International Journal of Mineral Processing**. 62: pp 27–39, 2001.

DERRICK, M. R.; STULIK, D.; LANDRY, J. M. **Infrared Spectroscopy in Conservation Science**. Los Angeles, USA: The Getty Conservation Institute, 1999.

DOBBY, G. S.; FINCH, J. A. Particle collection in columns – Gas and bubble size effects. **Canadian Metallurgical Quarterly**, v. 25, p. 9-13, 1986.

DBBST - Dortmund Data Bank Software & Separation Technology GmbH - <http://ddbonline.ddbst.de/DIPPR106SFTCalculation/DIPPR106SFTCalculationC GI.exe> acesso em: 18 jan. 2018, 14:08:12.

DUDENKOV, S.V.; GALIKOV, A.A., **Theory and Practice of Application of Flotation Reagents**. Moscow, Russia: Nedra Publishers, 1969.

DUBEL, J., et al. Micro-organisms as chemical reagents: the hematite system. 1992 **Minerals Engineering** v. 5, p. 547–556

EL-MIDANY, A. A.; ABDEL-KALEK, M. A. Reducing sulfur and ash from coal using *Bacillus subtilis* and *Paenibacillus polymyxa*. **Fuel**. Vol. 115, pp 589-595, 2014.

EVANS, H. C. Alkyl Sulphates. Part I. Critical Micelle Concentrations of the Sodium Salts. **Journal of Chemical Society**, p. 579–586, 1956.

EXEROWA, D.; KRUGLYAKOV, P. M. **Foam and Foam Films - Theory, Experiment, Application**. Studies in Interface Science Series, Vol.5. Amsterdam: Elsevier Science, 1998.

FAZAEIPOOR, M. H.; KHOSHDAST, H.; RANJBAR, M. Coal flotation using a biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* as a frother. **Korean Journal Chemical Engineering**. v.27(5), p. 1527-1531. 2010

FERREIRA, A. B. H. **Dicionário Aurélio da Língua Portuguesa**, 5 ed. Curitiba: Editora Positivo, 2014.

FERREIRA, T.; RASBAND, W. **ImageJ User Guide IJ 1.46r**. Maryland, USA: National Institute of Mental Health, 2012.

FILIPPOV, L.O.; JOUSSEMET, R.; HOUOT, R. Bubble spargers in column flotation: Adaptation to precipitate flotation. **Minerals Engineering**, v. 13, n. 1, p. 37-51, 2000.

FINCH, J. A.; DOBBY, G. S. **Column Flotation**. Oxford, UK: Pergamon Press, 1990.

FINCH, J. A.; GÉLINAS, S.; MOYO, P. Frother-related research at McGill University. **Minerals Engineering**, v. 19, p. 726–733, 2006.

FUERSTENAU, D. **The froth flotation century**. In: Advances in flotation technology. Littleton, CO, USA: SME, p. 321. 1999.

FUERSTENAU, M. C.; JAMESON, G. J.; YOON, R. H. **Froth flotation: a century of innovation**, Littleton, CO, USA. SME 2007

GARIP, S.; GOZEN, A. C.; SEVERCAN, F. Use of Fourier transform infrared spectroscopy for rapid comparative analysis of *Bacillus* and *Micrococcus* isolates. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1301-1307, 2009.

GIBBS, W. **Collected Works. Vol. I. Thermodynamics**. VII. Electrochemical Thermodynamics, Yale University Press. New Haven. Connecticut, USA, 1878-1928.

GOODFELLOW, M.; WEAVER, C. R.; MINNIKIN, D. E. Numerical Classification of Some *Rhodococci*, *Corynebacteria* and Related Organisms. **Journal of General Microbiology**, v. 128, p.731-745, 1982.

GORAIN, B.K.; FRANZIDIS, J.-P.; MANLAPIG, E.V. Studies on impeller type, impeller speed and air flow rate in an industrial scale flotation cell – Part 1: Effect on bubble size distribution. **Minerals Engineering**, Vol. 8, No. 6, pp. 615--635, 1995.

GORDIYCHUK, A. et al. **Size distribution and Sauter mean diameter of micro bubbles for a Venturi type bubble generator**. Experimental Thermal and Fluid Science, 2015

GRAU, R. A. et al. Effect of frothers on bubble size. **International Journal of Mineral Processing** v. 76, p. 225– 233, 2005.

GUITIÁN, J.; JOSEPH, D. **Foaminess measurements using a shaker bottle**. University of Minnesota. www.aem.umn.edu/people/faculty/joseph/archive/docs/shakerbottle.pdf, acesso em: 10 jan. 2018, 10:22:15.

HACHA, R. R. **Eletroflotação de partículas finas de hematita em célula modificada de Partridge Smith usando *Rhodococcus opacus* como biorreagente**, Tese de doutorado, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2016.

HELM, D.; NAUMANN, D. Identification of some bacterial cell components by FT-IR spectroscopy. **FEMS Microbiology Letters**, v. 126, n. 1, p. 75-79, 1995.

HIEMENZ, P. C.; RAJAGOPALAN, R. **Principles of Colloids and Surface Chemistry**, 3 ed. New York, USA: Marcel Dekker, 1997.

HIRAJIMA, T. et al. Effect of microorganisms on flocculation of quartz.. **International Journal of Mineral Processing**, Vol. 102–103, p. 107-111, 2012

HOGG, S. **Essential microbiology**. West Sussex, UK: John Wiley & Sons, 2005

HOSSEINI, T.R. et al. Bioflotation of Sarcheshmeh copper ore using *Thiobacillus ferrooxidans* bacteria. **Minerals Engineering**, v. 18 (n.3), p. 371–374, 2005.

HU, W. **Flotation Circuit Optimization and Design**. London: Imperial College London, Department of Earth Science and Engineering, 2014.

HUANG, D. D.; NICOLOV, A.; WASAN, D. T. Foams: Basic Properties with Application to Porous Media. **Langmuir**, v. 2, p. 673-677, 1986.

IGLESIAS, E. et al. A new method to estimate the stability of short-life foams. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. Vol. 98, p. 167-174, 1995.

IVES, K. J. **The scientific basis of flotation**. The Hague, Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1984.

JAMESON, G. J.; NAM, S.; YOUNG, M. M. Physical factors affecting recovery rates in flotation. **Minerals Science and Engineering**, v. 9, p. 103, 1977.

JIA, C. Y. et al. Selective adsorption of *Mycobacterium Phlei* on pyrite and sphalerite. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 83, Issue 2, p 214-219, 2011.

JOHANSSON, G.; PUGH, R. J. The influence of particle size and hydrophobicity on the stability of mineralized froths. **International Journal of Mineral Processing** v. 34, p. 1–21, 1992.

JONES, A. L.; GOODFELLOW, M. **Genus II. *Rhodococcus*** (Zopf 1891) emend Goodfellow et al. 1998. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 4, 2nd edn. Springer, Berlin, p. 1–65, 2010.

KARAKASHEV, S. I.; GEORGIEV, P.; BALASHEV, K. Foam production – Ratio between foaminess and rate of foam decay. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 379, n. 1, p. 144-147, 2012.

KELLY, E.G.; SPOTTISWOOD, D.J. **Introduction to mineral processing**. New York: Wiley, 1982.

KITCHENER, J. A. Capter 2 - Foams and Free Liquid Films, In: Danielli, J. F.; PANKHURST, K. G. A.; RIDDIFORD, A. C. **Recent Progress in Surface Science**, v. 1, p. 56-98, 1964.

KITCHENER, J. A.; COOPER, C. F. Current concepts in the theory of foaming. **Quarterly Reviews, Chemical Society**, v.13, p 71-79, 1959.

KLATTE, S.; KROPPESTEDT, R. M.; RAINEY, F. A. *Rhodococcus opacus* sp. nov., An Unusual Nutritionally Versatile *Rhodococcus*-species. **Systematic and Applied Microbiology**, v.17, p. 355-360, 1994.

KING, R. P. **Principles of Flotation**. Johannesburg: South African Institute of Mining and Metallurgy, 1982. (Nomograph Series No. 3).

KHOSHDAST, H. et al. The use of rhamnolipid biosurfactants as a frothing agent and a sample copper ore response. **Minerals Engineering**: v.26, p 41–49, 2012.

KHOSHDAST, H.; SAM, A. Flotation frothers: Review of their classifications, properties and preparation. **The Open Mineral Processing Journal**, Vol. 4, 2011

KHOSHDAST, H.; SAM, A. An efficient evaluation of iron concentrates flotation using Rhamnolipid biosurfactants as a frothing reagent. **Environmental Engineering Research**: v. 17(1), p. 9-15, 2012.

KHOSHDAST, H.; SHOJAEI, V. Ash Removal from a Sample Coal by Flotation Using Rhamnolipid Biosurfactants. **Journal of Mining World Express**, v. 1, n. 2, p. 39-45, 2012,

KOROLEVA, L. F.; LARIONOV, L. P.; GORBUNOVA, N. P. Biomaterial based on doped calcium carbonate-phosphate for Active Osteogenesis. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 3, n. 02, p. 226, 2012.

LANGEVIN, D. Influence of interfacial rheology on foam and emulsion properties. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 88, p. 209–222, 2000.

LANGEVIN, D. **Aqueous foams and foam films stabilized by surfactans. Gravity-free studies**. Paris: Comptes Rendus Mecanique, Académie des Sciences, 2016.

LANGWALDT, J.; KALAPUDAS, R. Bio-beneficiation of multimetal black shale ore by flotation. **Physicochemical Problems of Mineral Processing**, v.41: p. 291-299, 2007.

LARKIN, M.J. et al. Biodegradation by Members of the Genus *Rhodococcus*: Biochemistry, Physiology, and Genetic Adaptation. **Advances in applied microbiology**, v.59, Elsevier Inc., 2006.

LASKOWSKI, J. S.; CHO, Y. S.; DING, K. Effect of Frothers on Bubble Size and Foam Stability in Potash Ore Flotation Systems. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 81, 2003.

LASKOWSKI, J.S. Testing Flotation Frothers. **SME Annual Meeting**, Feb. 23–25, Denver, Colorado. preprint 04-66, 2004.

LEVICH, V. G. Motion of bubbles at high Reynolds'numbers. **Journal of Experimental and Theoretical Physics Mosow** v. 19 (1), p. 79-83, 1949.

LIEBERMANN, L. Air bubbles in water. **Journal of Applied Physics**, v. 28, p. 205-211, 1957.

LIUMBAS, J. S. et al. Foam free drainage and bubbles size for surfactant concentrations below the CMC. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 487, p. 92-103, 2015.

LOPEZ, L. Y. et al. Fundamental aspects of hematite flotation using the bacterial strain *Rhodococcus ruber* as bioreagents. **Minerals Engineering**: v. 75, p. 63-69, 2015.

LYNCH, A. et al. **Mineral and coal flotation circuits: their simulation and control**. Developments in mineral processing. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Scientific Publishing Co., 1981.

MEHRABANI J. V. et al. Depression of pyrite in the flotation of high pyrite low-grade lead–zinc ore using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. **Minerals Engineering**, v. 23, p. 10–16, 2010.

MELIN, A. -M. et al. Fourier transform infrared spectroscopy as a new tool for characterization of mollicutes. **Journal of Microbiological Methods**, v. 56, n. 1, p. 73-82, 2004.

MELO, F. **Fundamental properties of flotation frothers and their effect on flotation**. Vancouver, Canada: University of British Columbia, 2005

MERMA, A. G. **Aspectos Fundamentais da Bioflotação do Sistema Apatita Quartzo usando a bactéria *Rhodococcus opacus* como Biorreagente**. Rio de Janeiro, 2012. 145p. Tese de Doutorado – Departamento de Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

MERMA, A. G.; HACHA, R. R.; TOREM, M. L. Cellular Adaptation: Culture conditions of *R. opacus* and bioflotation of apatite and quartz. **REM - International Engineering Journal**. V. 70(1), p. 67-76, 2017.

MESNAGE, S. et al. The capsule and S-layer: two independent and yet compatible macromolecular structures in *Bacillus anthracis*. **Journal of bacteriology**, v. 180, n. 1, p. 52-58, 1998.

MESQUITA, L. M.; LINS, F. F.; TOREM, M. L. Interaction of a hydrophobic bacterium strain in a hematite–quartz floatation system. **International Journal of Mineral Processing**, v.71, p. 31–44, 2003.

MEIJER, W. G.; PRESCOTT, J. F. *Rhodococcus equi*. **Veterinary research**, v. 35, n. 4, p. 383-396, 2004.

MIAGKOVA, T. M. **The effect of frothers on the dispersion of air and effectiveness of flotation**. Leningrad: Leningrad Mining Institute. 1955.

MONTEUX, C.; FULLER, G. G.; BERGERON, V. Shear and dilational surface rheology of oppositely charged polyelectrolyte/surfactant microgels adsorbed at the air–water interface. Influence on foam stability. **The Journal of Physical Chemistry B**. v. 108, p. 16473–16482, 2004.

MYERS, D. **Surfactant Science and Technology**, 3 ed. Wiley – Hoboken, USA: Interscience, 2006

OLIVEIRA, C. A. C. et al. On the fundamentals aspects of hematite bioflotation using a Gram positive strain. **Minerals Engineering**: v. 106, p. 55-63, 2017.

OLIVEIRA, C. A. C.; MARINHO, L. **Metodologia experimental para obtenção de biomassa e extração de biossurfatante**. PUC-Rio, Grupo de Tecnologia Mineral e Ambiental, 2017.

PECINA, E. T. et al. Effect of *Leptospirillum ferrooxidans* on the flotation kinetics of sulphide ores. **Minerals Engineering**, v. 22, Issue 5, p. 462-468, 2009.

PERES, A. C. C.; ARAUJO, A. C. A flotação como operação unitária no tratamento de minérios. In: CHAVES, A. P. (Org.). **Flotação: o estado da arte no Brasil** (Coleção Teoria e prática do tratamento de minérios, vol. 4). São Paulo: Signus Editora, 2006. p. 1-29.

PRINS, A. Stagnant surface behaviour and its effect on foam and film stability. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.149 p. 467–473, 1999.

PRUD'HOMME, R.K.; KHAN, S.A. **Foams: Theory, Measurements, and Applications**. Surfactant Science Series, Vol 57. New York, USA: Marcel Dekker, 1996.

PUGH, R. J. Chapter 2 – Foams and Foaming. in HOLMBERG, K. **Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry – vol 2**, West Sussex, England: John Wiley & Sons, 2002.

PUGH, R. J. **Bubble and Foam Chemistry**. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2016.

RAICHUR, A. M. et al. Flocculation and flotation of coal by adhesion of hydrophobic *Mycobacterium phlei*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** v. 8, p. 13-24, 1996.

RAO, S. R. **Surface chemistry of froth flotation**. 2 ed. (edição revisada de Leja, Jan. Surface chemistry of froth flotation. 1982), v. 2, 2004.

RIGAS, B. et al. Human colorectal cancers display abnormal Fourier-transform infrared spectra. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 20, p. 8140-8144, 1990.

ROBERT, P. et al. FT-IR investigation of cell wall polysaccharides from cereal grains. Arabinoxylan infrared assignment. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 18, p. 7014-7018, 2005.

ROSEN, M. J. **Surfactants and Interfacial Phenomena**, 3 ed. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, 2004.

RYBCZYNSKI, W. Ueber die Fortschreitende Bewegung einer Fluessigen Kugel in einem Zachen Medium, **Bulletin of Academy of Science of Poland**. Cracovie Ser. A, 40-46, 1911.

SALKIELD, L. U. **A technical history of the Rio Tinto mines: some notes on exploitation from pre-Phoenician times to the 1950s**. London, UK: Institution of Mining and Metallurgy, 1987.

SAMARAS, K. et al. Effect of adding glycerol and Tween 80 on gas holdup and bubble size distribution in an aerated stirred tank. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, v. 441, p. 815-824, 2014.

SANTHIYA, D., SUBRAMANIAN'S. NATARAJAN, K.A. Surface chemical studies on sphalerite and galena using extracellular Polysaccharides isolated from *Bacillus polymyxa*. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 256, n. 2, p. 237-248, 2002.

SCHAECHTER, M. **Encyclopedia of microbiology**. Academic Press, 2009.

SCHMITT, J.; FLEMING, H. -C. FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 41, p. 1-11, 1998.

SHARMA, P. K. et al. Surface chemical characterisation of *Paenibacillus polymyxa* before and after adaptation to sulfide minerals. **International Journal of Minerals Processing**, v. 62, p. 3-25, 2001.

SHAW, D. J. **Introduction to Colloid and Surface Chemistry 4 ed.** Oxford UK: Butterworth-Heinemann, 2000.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds.** Hoboken, USA: John Wiley & Sons, 2005.

SMITH, R. W.; MIETTINEN, M. Microorganisms in flotation and flocculation: Future technology or laboratory curiosity? **Minerals Engineering** v.19, p. 548–553, 2006.

STOKES, G. C. On the effect of the internal friction of fluids on the motion of pendulums. **Proceedings of Cambridge Philosophy Society I**, 1843-63, 104-106; **Transactions Cambridge Philosophy Society IX**, Part II, 8-106, 1851.

STONE THREE. **Anglo Platinum Bubble Sizer MK4 – Operations Guide.** Rev 7.3, Somerset West, South Africa, 2017.

STRATTON, H. M. et al. Cell surface hydrophobicity and mycolic acid composition of *Rhodococcus* strains isolated from activated sludge foam. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 264-267, 2002.

STREETER, V. L. et al. **Fluid Mechanics**, 9 ed. New York, USA: McGraw Hill, 2010

STUART, B. **Biological applications of infrared spectroscopy: Analytical chemistry by open learning**, Chichester, UK: John Wiley & Sons, p. 114, 1997.

STUART, B. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications.** Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2004.

STUBENRAUCH, C.; MILLER, R. Stability of foam films and surface rheology: an oscillating bubble study at low frequencies. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 108, p. 6412–6421, 2004.

SUTCLIFFE, I. C.; BROWN, A. K.; DOVER, L. G. The *rhodococcal* cell envelope: composition, organization and biosynthesis. In: **Biology of Rhodococcus.** Springer Berlin Heidelberg, p. 29-71, 2010.

TAGGART, A. F. **A manual of flotation processes.** New York, USA: John Wiley & Sons, 1921.

TAN, S. N. et al. Marangoni effects in aqueous polypropylene glycol foams. **Journal of Colloids and Interface Science**, v. 286, p. 719-729, 2005.

TOREM, M. L.; CASQUEIRA, R. G. **Flotação aplicada à remoção de metais pesados.** Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2003.

TVETER, E.C. **Frothers for the flotation of sulfide ores.** US Patent 2,611,485, 1952

U.S. Geological Survey. **Mineral commodity summaries 2017.** Reston, Virginia, USA: U.S. Department of the Interior, 2017.

VAN DER GEIZE, R.; DIJKHUIZEN, L. Harnessing the catabolic diversity of *rhodococci* for environmental and biotechnological applications. **Current Opinion in Microbiology**, v.7, p255-261, 2004.

VAN DER WAL, A. et al. A determination of the total charge in the cell walls of gram-positive bacteria. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** 9, 81–100. 1997.

VERAS, M. M. **Influência do tipo de espumante nas características de espuma produzida na flotação**. Recife, 2010. 79p. Dissertação de Mestrado – Centro de Tecnologia e Geociências da Universidade Federal de Pernambuco.

VIJAYALAKSHMI, S. P.; RAICHUR, A. M. The utility of *Bacillus subtilis* as a bioflocculant for fine coal. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** v.29, p. 265–275, 2003.

VOET, D.; VOET, J. G. **Bioquímica**, 4 ed.. Porto Alegre: Artmed, 2013.

VOLESKY, B. Biosorption and me. **Water research**, v. 41, n. 18, p. 4017-4029, 2007.

WALTERMO, Å. et al. Foam and thin-liquid-film studies of alkyl glucoside systems. **Langmuir**, v. 12, p. 5271–5278, 1996.

WANG, L.; YOON, RH. Role of hydrophobic force in the thinning of foam films containing a nonionic surfactant. **Colloids and Surfaces A, Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 282–283, p. 84–91, 2006.

WANG, L.; YOON, RH. **Effects of surface forces and film elasticity on foam stability**. *International Journal of Mineral Processing*, v. 85, p.101–110. 2008.

WESER, C. Measurement of Interfacial Tension and Surface Tension – General Review for Practical Man. **Fachzeitschrift für das Laboratorium**, v. 24, p. 642-648 und 734-742, 1980.

WILLS, B. A.; FINCH, J. A. **Wills' Mineral Processing Technology**. 8th ed. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann, Elsevier, 2016

XU, W. et al. Foam film rheology and thickness stability of foam-based food products. **Colloids and Surfaces A: Physicochemistry Engineering Aspects**, v. 214, p. 13-21. 2003.

YANG, H.; ZHANG, Q.; JIANG, Z. Adsorbability of *Mycobacterium phlei* on hematite surface. **Journal of University of Science and Technology Beijing**. v. 14, Number 2, p. 103-106, 2007.

YOON, RH.; LUTTELL, G. H. The effect of bubble size on fine particle flotation. In: LASKOWSKI, J. S. (ed). **Frothing in Flotation**. Gordon and Breach Science Publishers p. 101-122, 1989.

9 Anexos

9.1. Anexo 1 – Cultura de micro-organismos

Existem diversas formas e metodologias de meios de cultura de bactérias e extração de biomassa e biorreagentes. A metodologia adotada pelo Grupo de Tecnologia Mineral e Ambiental do Departamento de Engenharia Química e de Materiais da PUC-Rio tem sido utilizada há vários anos, foi testada e comprovada por vários mestrandos e doutorandos em diversos projetos.

As espécies microbianas empregadas neste estudo foram obtidas da Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria – CBMAI - UNICAMP.

9.1.1. Preparação do meio de cultivo

O meio de cultura utilizado para o crescimento da bactéria *Rhodococcus opacus* é o YMG (*Yeast, Malt, Glucose*), com a composição apresentada na Tabela A1-1

Tabela A1-1 – Composição dos meios de cultura

Componente	Cultura em	Cultura em
	Meio Sólido	Meio Líquido
	(g/L)	(g/L)
Glicose	10	10
Peptona	5	5
Extrato de Malte	3	3
Extrato de Levedura	3	3
Agar	20	-
pH	7.2	7.2

9.1.2. Propagação e crescimento das células bacterianas

A multiplicação das colônias bacterianas é feita de duas formas, cultura em meio sólido e cultura em meio líquido. A cultura em meio sólido dura mais tempo e é feita para se criar e propagar as cepas e se manter armazenada. A cultura em meio líquido é feita com o objetivo de se produzir bactérias em grande escala para produzir biomassa e biosurfatante. A seguir são descritas as técnicas de cultura em meio sólido e em meio líquido:

9.1.2.1. Cultura em meio sólido

a) Utiliza-se Erlenmeyer de 250 mL, e a quantidade de solução a preparar depende do número de placas de Petri a usar, sabendo-se como referência que em cada placa de Petri é usado 20 mL de solução.

b) Os Erlenmeyer (com solução) devidamente fechados com tampões de algodão e bonés feitos de papel kraft, junto com as placas de Petri também forradas com papel kraft, são colocados dentro da autoclave (ver procedimento de manipulação da autoclave) para serem submetidos a um processo de esterilização mediante calor úmido (autoclavação), a 1,1 kgf/cm² (107,9 Kpa ; 1,06 atm) de pressão e 105 °C durante 20 min.

c) Retirar o material da autoclave e esperar esfriar por 5 minutos para depois ser levado para a capela (câmara de fluxo laminar) (ver procedimento de manipulação da capela) devidamente esterilizada, onde a solução será colocada dentro das placas de Petri antes que ela comece a solidificar. (Obs.: Se a solução esfriar muito, ela se solidificará ou formará grumos no material vertido nas placas de Petri). Antes de manusear as placas de Petri esterilizadas, lavar bem as mãos e braços, e esterilizar as mãos com álcool etílico a 70%..

d) Após solidificar-se o meio de cultivo, as placas de Petri devem ser levadas perto do fogo baixo (Bico de Bunsen) para consumir o vapor úmido gerado durante a solidificação.

e) Colocar na capela junto as placas de Petri preenchidas tampadas, o isqueiro, a alça de platina, e quantidade suficiente de tiras de parafilme (prever quantidade extra, caso necessário). Apagar a luz branca e ligar a luz ultravioleta da capela. Esterilizar por 15 minutos.

f) Desligar a luz ultravioleta e ligar a luz branca

g) Posteriormente, é realizado o processo de inoculação a partir dos slants (gelose inclinada) ou outras placas doadoras com colônias de bactérias. Limpar com álcool etílico a 70% o lado externo da placa doadora com colônia de bactérias, aproveitar para esterilizar as mãos também. Utilizando uma alça de platina esterilizada ao fogo baixo (até a ponta de platina ficar rubra). Esfriar a ponta de platina no gel que está na placa de Petri doadora, com a ponta de platina remover uma pequena quantidade de bactérias da placa doadora, e esfregar a ponta de platina no gel da placa de Petri receptora, fazendo um movimento em zigzag. Após isso, as placas de Petri inoculadas são tampadas e vedadas com parafilme.

h) Esterilizar a ponta de platina da alça no fogo, a cada placa de Petri.

i) Fechar a placa doadora e vedá-la com parafilme. Uma vez concluído as inoculações as placas de Petri inoculadas devem ser deixadas em um lugar seguro, a temperatura ambiente para evidenciar o crescimento bacteriano. E a placa de Petri doadora deve voltar para a geladeira.

j) O crescimento será evidente a partir das 24 horas e após transcorrer dois dias, estas placas de Petri (ver Figura A1-1) deverão ser guardadas na geladeira a 4°C.



Figura A1-1 – Colonia de Bactérias *Rhodococcus opacus* em placa de Petri

9.1.2.2.

Cultura em meio líquido

a) Utiliza-se Erlenmeyer de 500 mL, e a quantidade de solução a preparar depende do número de Erlenmeyers a usar, sabendo-se como referência que em cada Erlenmeyer são vertidos 125 mL de solução (ou seja, o 25% do volume total do Erlenmeyer). Para ter um crescimento bacteriano homogêneo para a extração de biossurfatante, recomenda-se cultivar dois Erlenmeyer para multiplicação.

b) Os dois Erlenmeyer (com solução) devidamente fechados com tampões de algodão e bonés feitos de papel kraft são colocados dentro da autoclave (Figura A1-2) (ver procedimento de manipulação da autoclave) para serem submetidos a processo de esterilização mediante calor úmido (autoclavação), a $1,1 \text{ kgf/cm}^2$ (107,9 Kpa ; 1,06 atm) de pressão e $105 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 20 min.



Figura A1-2 – Autoclave vertical CS Prismatec

c) Despressurizar e retirar o material da autoclave e deixar esfriar para depois ser levado para a capela (ver procedimento de manipulação da capela) devidamente esterilizada. Colocar na capela os Erlenmeyers preenchidos tampados, o isqueiro, a alça de platina, e quantidade suficiente de tiras de parafilme (prever quantidade extra, caso necessário). Apagar a luz branca e ligar a luz ultravioleta da capela. Esterilizar por 15 minutos.

d) Desligar a luz ultravioleta e ligar a luz branca

e) Posteriormente, é realizado o processo de inoculação a partir dos slants (gelose inclinada) ou outras placas doadoras com colônias de bactérias. Limpar com álcool etílico a 70% o lado externo da placa doadora com colônia de bactérias, aproveitar para esterilizar as mãos também. Utilizando uma alça de platina esterilizada ao fogo baixo (até a ponta de platina ficar rubra). Esfriar a ponta de platina no gel que está na placa de Petri doadora, com a ponta de platina remover uma pequena quantidade de bactérias da placa doadora, e mergulhar a ponta de platina com bactérias no líquido do Erlenmeyer receptor,

transferindo as bactérias para o líquido. Após isso, os Erlenmeyers inoculados são fechados com seus tampões de algodão e bonés de papel Kraft.

f) Esterizar a ponta de platina da alça no fogo, a cada Erlenmeyer.

g) Fechar a placa doadora e vedá-la com parafilme.

h) Colocar os dois Erlenmeyer na incubadora *shaker* oscilatório por 24 horas, a uma temperatura de 28 °C e 150 rpm.

i) Transcorridas 24 horas de crescimento bacteriano, os dois Erlenmeyer são levados para a capela (ver procedimento de manipulação da capela) devidamente esterilizada. Este caldo de fermentação servirá para inocular o número de Erlenmeyers preparados (seguir os itens a, b e c de cultura em meio líquido).

j) A inoculação é feita utilizando uma pipeta de Pasteur devidamente esterilizada. A quantidade de solução a inocular é variável (1,5 mL para cada Erlenmeyer). Após isso, os Erlenmeyers inoculados são fechados com seus tampões de algodão e bonés de papel Kraft.

k) Depois de realizada a inoculação, os Erlenmeyer são colocados no incubador *shaker* oscilatório durante 6 dias, a uma temperatura de 28 °C e 150 rpm. (ver Figura A1-3).

l) O Erlenmeyer doador deverá ser fechado com seu tampão de algodão e boné de papel Kraft, e guardado na geladeira a 4 °C.



Figura A1-3 – Incubador *shaker* oscilatório termoccontrolado Cientec CT-712

9.1.3. Obtenção da biomassa

A biomassa é obtida a partir de três dias de crescimento bacteriano transcorridos, mas para a extração do biosurfatante recomenda-se no sexto dia. Sua obtenção é realizada por centrifugação (ver procedimento de manipulação da centrífuga), conforme procedimento a seguir:

a) Utilizam-se tubos Falcon de 50 mL, e o processo de separação é realizada por centrifugação entre 3500 - 4500 rpm durante 15 minutos. (utilizar tubos de Falcon sempre cheios a 50 mL e em número suficiente para manter a centrífuga equilibrada) (ver Figuras A1-4).



Figura A1-4 – Centrífuga Cientec CT-5000. [A] Vista da centrífuga aberta; [B] Rotor com tubos de Falcon em número para equilibrar a centrífuga.

b) Após a centrifugação o líquido sobrenadante é descartado em um becker de 5 L, e após todos os descartes, o líquido acumulado será esterilizado com hipoclorito de sódio, e jogado no esgoto.

c) Em cada tubo Falcon com precipitado da centrifugação constituído pelas células bacterianas, colocar 5 mL de água destilada e deionizada, fechar o tubo. Efetuar o desprendimento e resuspensão do precipitado por intensa vibração num agitador tipo Vortex. Completar o tubo Falcon até 50 mL com água destilada e deionizada para ser feita nova centrifugação. Este processo é realizado duas ou três vezes até liberar o meio de cultura.

d) À biomassa precipitada final da centrifugação constituído pelas células bacterianas é acrescido 5 mL de água destilada e deionizada, fechar o

tubo Falcon. Efetuar o desprendimento e ressuspensão do precipitado por intensa vibração num agitador tipo Vortex. Transferir o conteúdo em suspensão com utilização de água destilada e deionizada (ou solução de eletrólito indiferente 10^{-3} mol/L de NaCl para melhorar sua conservação) a um vidro 1 L com tampa. Acumular o conteúdo de todos os tubos Falcon, mas não passar mais da metade da capacidade do vidro, devido tranbordamento por ebulição quando da autoclavação (ver Figura A1-5). Usar mais de um vidro se necessário. Fechar o(s) vidro(s) mas não apertar a tampa, de fato, deixá-la bem solta para evitar romper por pressão quando da autoclavação.



Figura A1-5 – Vidro de 1 L contendo biomassa.

e) Colocar os frascos de vidro dentro da autoclave (ver procedimento de manipulação da autoclave) para serem submetidos a um processo de esterilização mediante calor úmido (autoclavação), a $1,1 \text{ kgf/cm}^2$ ($107,9 \text{ Kpa}$; $1,06 \text{ atm}$) de pressão e $105 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 20 min.

f) Posteriormente, os frascos de vidro contendo a biomassa são esfriado para determinar sua concentração utilizando um filtro de membrana millipore ou cadinhos de porcelana e guardado na geladeira a $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

g) Em balança de 0,001 de precisão, pesar 1 papel filtro milipore de membrana de celulose de $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ e anotar peso.

h) Colocar o papel filtro no dispositivo filtro de membrana e com pipeta automática, colocar 1 mL de biomassa no papel filtro, drenando o líquido com bomba de vácuo conforme a Figura A1-6. Colocar para secar em estufa a $45 \text{ }^\circ\text{C}$. Evitar deixar a temperatura subir acima de $45 \text{ }^\circ\text{C}$ pois a biomassa poderá caramelizar e apresentar peso errado.

i) Repetir o processo com um segundo papel filtro.

j) Por diferenças de peso, peso com a biomassa seca menos o peso do papel limpo, calcular o peso seco, calcular a média dos dois papéis filtros e a média será a concentração da biomassa do vidro em mg/mL, pois este peso é para 1 mL.



Figura A1-6 – Dispositivo filtro de membrana e bomba de vácuo.

9.1.4. Extração do biossurfatante

O procedimento é parecido ao procedimento detalhado anteriormente, com algumas diferenças:

- a) O processo de centrifugação é realizado a 5000 rpm durante 8 minutos, utilizando-se tubos Falcon de 50 mL.
- b) Após a centrifugação o líquido sobrenadante é descartado em um becker de 5 L, e após todos os descartes, o líquido acumulado será esterilizado com hipoclorito de sódio, e jogado no esgoto.
- c) Em cada tubo Falcon com precipitado da centrifugação constituído pelas células bacterianas, colocar 5 mL de água destilada e deionizada, fechar o tubo. Efetuar o desprendimento e ressuspensão do precipitado por intensa vibração num agitador tipo Vortex. Completar o tubo Falcom até 50 mL com água destilada e deionizada para ser feita nova centrifugação. Este processo é realizado duas ou três vezes até liberar o meio de cultura.
- d) A biomassa obtida é ressuspensa em álcool etílico a 95%. Esta ressuspensão é referenciada na quantidade de meio de cultura que foi

preparado, ou seja, para a quantidade de biomassa obtida de 1000 ml de fermentação vamos utilizar 100 ml de álcool (proporção 10:1).

- e) O frasco com biomassa ressuspenso em álcool etílico de 95% é colocado dentro da autoclave (ver procedimento de manipulação da\\) para ser submetido a um processo de esterilização mediante calor úmido (autoclavação), a $1,1 \text{ kgf/cm}^2$ (107,9 Kpa ; 1,06 atm) de pressão durante 20 min.
- f) Logo, a solução esfriada é centrifugada a 5000 rpm em tubos Falcon de 50 mL durante 10 minutos. A solução sobrenadante é vertida em copos de Becker para ser submetida ao processo de evaporação numa estufa, a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 horas (tomar cuidado com explosões pois o vapor desprendido é de álcool). O precipitado da centrifugação é descartado.
- g) Após a evaporação, o precipitado obtido é o biossurfatante. Esse biossurfatante é pesado e diluído em água destilada e deionizada para separar a parte solúvel pelo processo de centrifugação a 5000 rpm durante 10 minutos. A parte insolúvel (precipitado) é descartada e a parte solúvel (sobrenadante) é filtrada para assegurar a remoção dos compostos insolúveis.
- h) A massa do biossurfatante solúvel é calculada pela diferença da massa do biossurfatante insolúvel e da massa do biossurfatante bruto.
- i) A concentração do biossurfatante é calculada com a massa solúvel dividida pelo volume que foi diluído como mostrado no item (g).
- j) Armazenar a solução de biossurfatante em geladeira ($4 \text{ }^\circ\text{C}$).

9.2. Anexo 2 – Medição do diâmetro de bolhas

9.2.1. Uso do *Bubble Sizer* para obtenção de fotos de bolhas

A Figura A2-1 mostra uma montagem do *Anglo American Bubble Sizer* com uma coluna de flotação de laboratório.

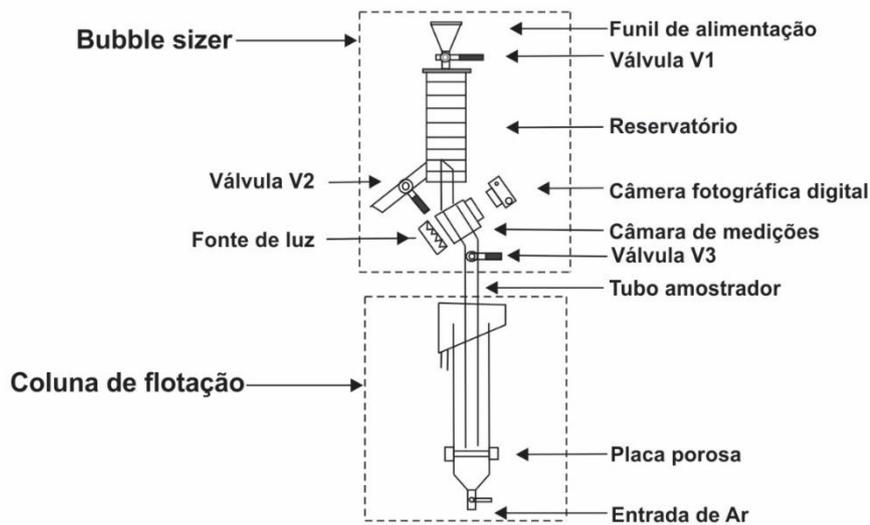


Figura A2-1 – Bubble Sizer montado com coluna de flotação de laboratório

Procedimento para uso do *Bubble Sizer* com uma coluna de flotação de laboratório em acrílico:

1. Montar o circuito de ar comprimido, instalando a Válvula Reguladora de Ar e o Rotômetro interligando-os com um tubo flexível de alta pressão;
2. Instalar a bateria do *Bubble sizer* devidamente carregada (ver procedimento para carregar a bateria), conectar o cabo de energia da bateria;
3. Instalar a Câmara Fotográfica Canon com a bateria previamente carregada, colocando-a no modo TV;
4. Preparar 2300 mL de solução a testar, medir o pH inicial da água e da solução;
5. Interligar o rotômetro até o bico “entrada de ar” embaixo da coluna de flotação;
6. Abrir a Válvula de Ar e ajustar a Válvula Reguladora para a pressão de 2 kgf/cm² .
7. Colocar 100 mL de solução a testar na coluna de flotação com auxílio de um funil para que o fluido se posicione no tubo central sobre a placa porosa;

8. Posicionar a coluna sob o *bubble sizer*, colocando o tubo amostrador dentro do tubo central da célula de flotação (este tubo do *bubble sizer* deve ser calculado para ter comprimento tal que não permita tocar na placa porosa dentro da coluna de flotação);
9. Fechar a válvula V2 e V3 e abrir a válvula V1, colocar os restantes 2200mL dentro do reservatório do *Bubble Sizer*;
10. Fechar a válvula V1;
11. Anotar o nível que ficou no reservatório (deve ficar em 1,8 L;
12. Posicionar um becker de 2 L embaixo da mangueira de saída da coluna de flotação (*Overflow*);
13. Abrir a válvula V3, o nível de fluido deve descer e se posicionar em 2,3 L, e assim será criado vácuo no reservatório do *bubble sizer*;
14. Abrir a válvula do rotâmetro e regular na vazão desejada;
15. Ligar o botão da bateria, isto fará acender os *leds* da fonte de luz atrás da placa inclinada que iluminará o campo de imagem permitindo fotografar as bolhas;
16. Pressionar o botão Liga/Desliga (Figura A2-2) que ligará a Câmara Fotográfica;
17. Apertar o botão Tipo de Foto da câmara fotográfica para aparecer o tipo de foto, aperte outra vez este mesmo botão até selecionar o modo *close up*, com ícone correspondente a uma florzinha;

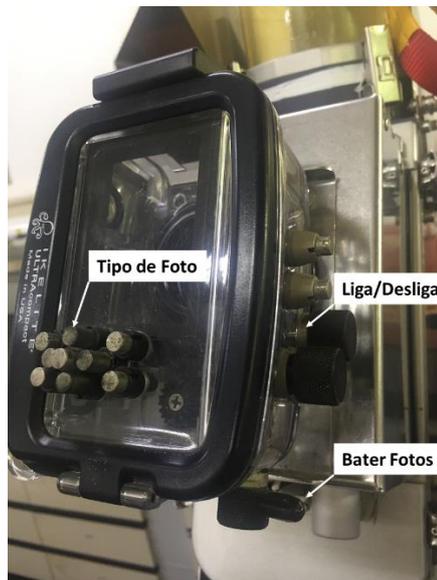


Figura A2-2 – Compartimento da Câmara Fotográfica

18. Anote a hora de início das fotos;
19. Tire as fotos girando o botão Bater Fotos, umas 10 fotos são suficientes para análise;
20. Ao mesmo tempo, observar o nível de fluido no tubo reservatório do *Bubble Sizer*, quando chegar em 2,4 L iniciar o cronômetro
21. Desligar o cronômetro quando chegar em 2,6 L, anotar o tempo registrado;
22. Desligue o botão da bateria;

23. Tire mais 2 fotos (escuras) para permitir dividir as sessões fotográficas de cada fluido
24. Anote a hora final das fotos desta sessão (isto permitirá saber quais fotos correspondem a qual fluido);
25. Fechar o rotâmetro;
26. Fechar a válvula V3 do *bubble sizer*;
27. Remover o tripé da coluna de flotação e abaixar a coluna até que o nível fique abaixo da extremidade do tubo amostrador do *bubble sizer*, o fluido sairá em golfadas. Após isso deitar a coluna e verter o fluido em um becker de 4 L;
28. Apoiar a coluna novamente no tripé, fora do *bubble sizer*;
29. Posicionar o becker com o fluido abaixo do tubo amostrador e abrir a válvula V3, aguardar drenar tudo;
30. Posicionar um becker na saída do tubo lateral e abrir a válvula V2 coletando o fluido remanescente, juntar todos os fluidos num mesmo becker e homogeneizar;
31. Medir o pH final do fluido e anotar;
32. Lavar o interior do *Bubble Sizer*.

9.2.2. Processamento de Imagens

O processamento de imagens é feito com o *software* de domínio público ImageJ, criado no *National Institutes of Health (NIH)*, baixado gratuitamente no site <https://imagej.nih.gov/ij/index.html> .

Procedimento de análise das fotos de bolhas

- Abrir foto com o *software* ImageJ:
 - *File >> Open*
 - A foto aparecerá como na Figura A2-3:

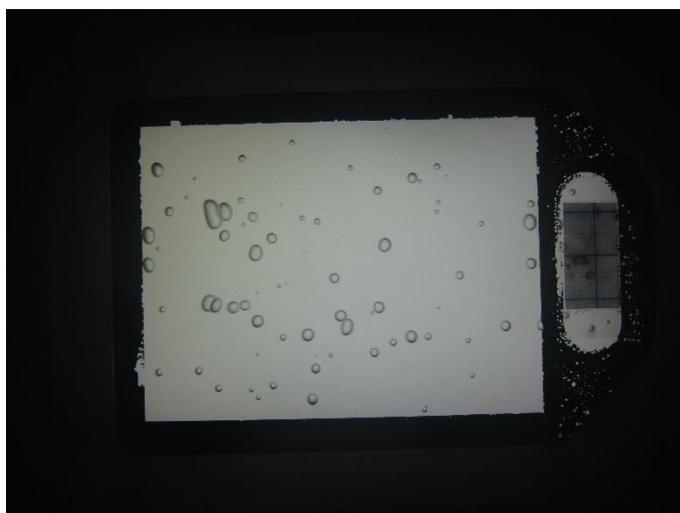


Figura A2-3 – Foto tirada no *Bubble Sizer*

- Ampliar a foto:

- Usar a lupinha  Figura A2-4, usando o botão esquerdo do *mouse* para aumentar e o direito para diminuir, posicionar a imagem sobre a escala que está do lado direito da foto;

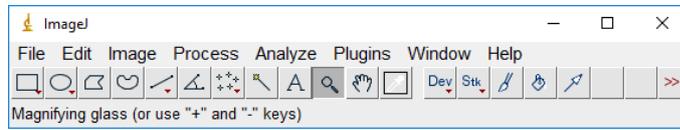


Figura A2-4 – Ícone Lupinha

- Ajustar a escala de medida:

- Usar o ícone de linha  Figura A2-5, e marcar uma linha sobre a escala do ponto superior ao inferior, são 20 mm;



Figura A2-5 – Ícone Linha e linha sobre a escala

- Marcar a escala:

- *Analyze* >> *Set Scale* como na Figura A2-6.

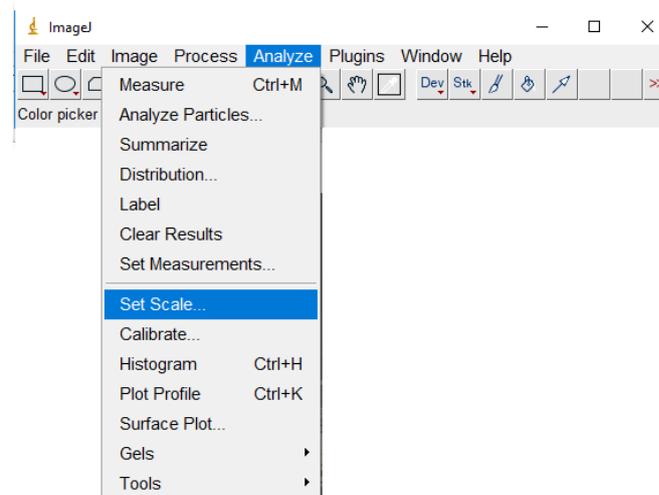


Figura A2-6 – Definição de escala (*Analyze* >> *Set Scale*).

Distance 468.25

Known Distance: 20.00

Unit: mm

A escala deve ficar como Scale : 23.412 (Figura A2-7)

- ✓ Marcar a caixa *Global*, isto permite usar em todas as fotos se não fechar o software

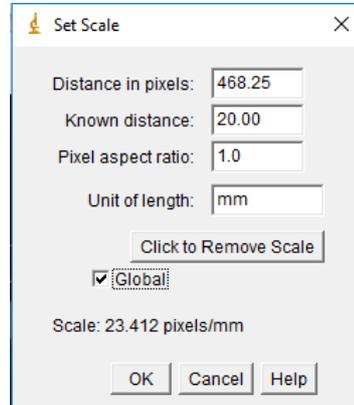


Figura A2-7 – Definição de escala (*Set Scale*)

- Remover o *Zoom*, usando o icone lupinha e o botão direito do *mouse*;
- Marcar a área que se quer analisar:
 - Usar o icone retângulo  Figura A2-8 , e



Figura A2-8 – Demarcação da área a ser processada.

- Cortar a imagem:
 - *Image >> Crop* (Figura A2-9)

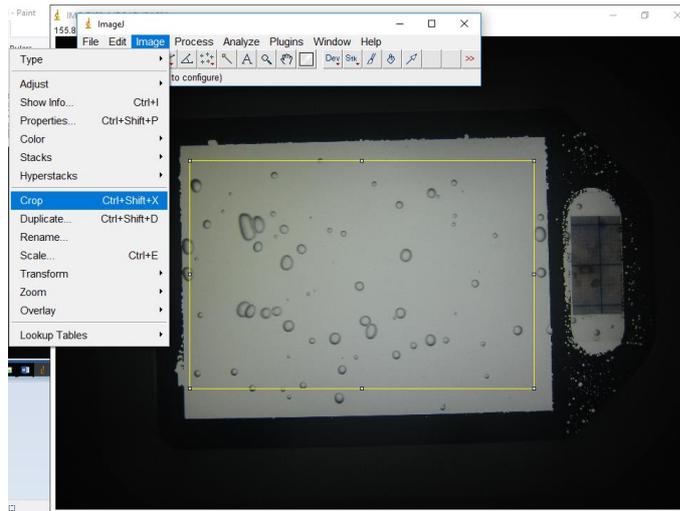


Figura A2-9 – Corte da área a ser processada (*Crop*).

Fica como na Figura A2-10:



Figura A2-10 – Área a ser processada

- Converter para 8 bits
 - *Image >> Type >> 8 bit* (Figura A2-11)

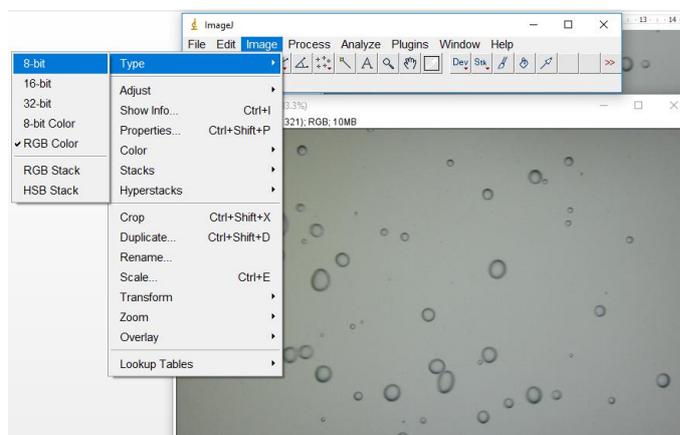


Figura A2-11 – Conversão da imagem para 8 bit

- Processar a imagem
 - *Process >> FFT >> BandPassFilter* (Figura A2-12)
 - Verifique os valores abaixo:
 - *Filter Large* : 40 pixels
 - *Filter Small* : 3 pixels
 - *Supress Stripes* : None
 - *Tolerance* : 5 %
 - Na caixa abaixo devem estar setadas
 - ✓ *Autoscale*
 - ✓ *Saturate*
 - Pressione >> OK
 - Ver que a barrinha de tempo está processando a imagem, e a imagem mudará de cor

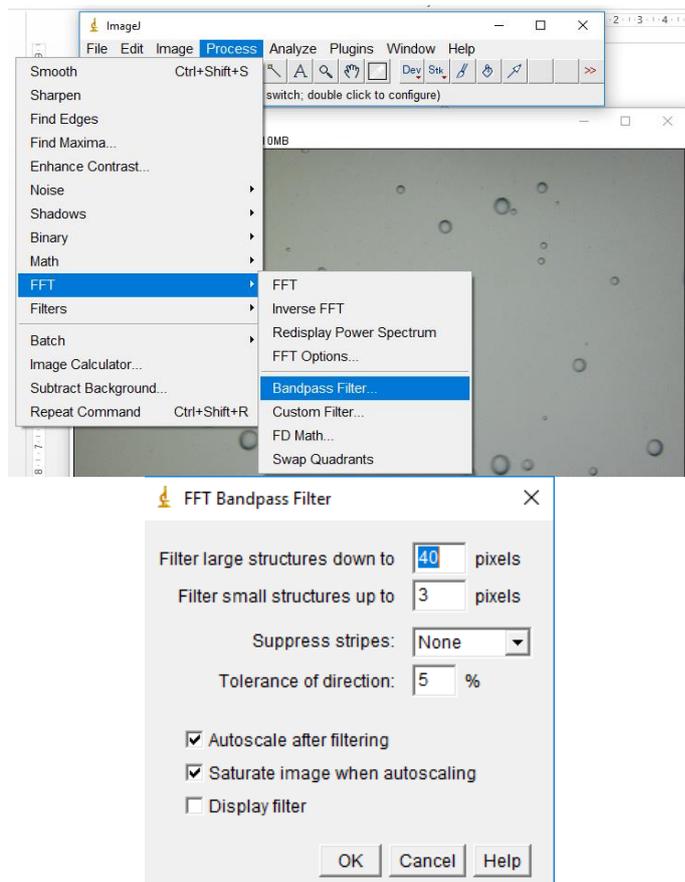


Figura A2-12 – Definição do filtro para processar a imagem (FFT *Bandpass Filter*).

A imagem fica como na Figura A2-13::

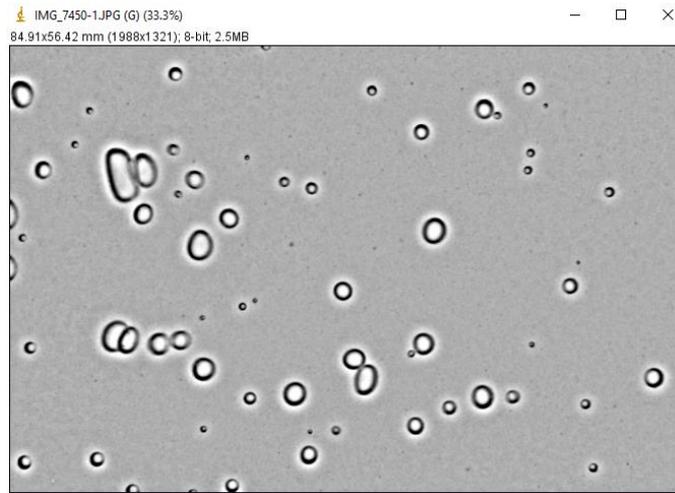


Figura A2-13 – Imagem processada FFT

- Ajustar o *Threshold*:
 - *Image >> Adjust >> Threshold* (Figura A2 14)

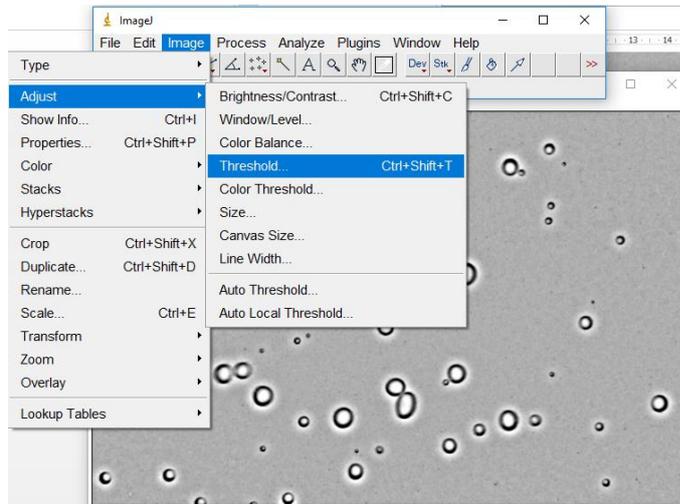


Figura A2- 14 – Ajuste dos limites das bolhas (*Adjust >> Threshold*).

- Observar o gráfico e ajustar a segunda barra de rolagem para a linha ficar em cima ou próxima do pico do gráfico (Figura A2-15)
- Pode-se tentar automático pelo modelo:
 - Huang <<< usar preferencialmente
 - *Mean*
 - *Moments*
- Pressionar o botão *Apply*

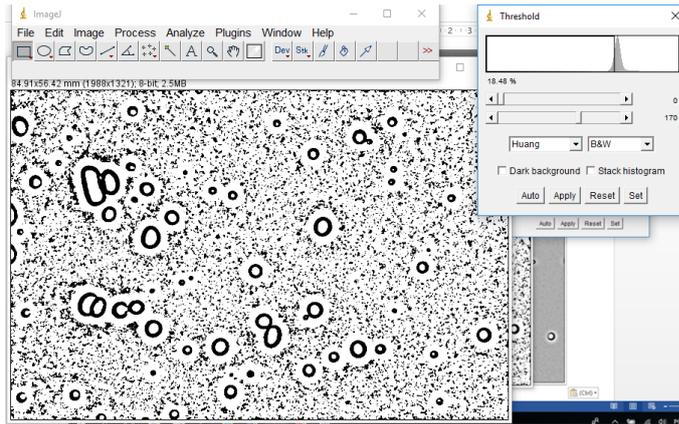


Figura A2-15 – Imagem com os limites definidos.

- Preencher as bolhas
 - *Process >> Binary >> Fillholes* (Figura A2-16)

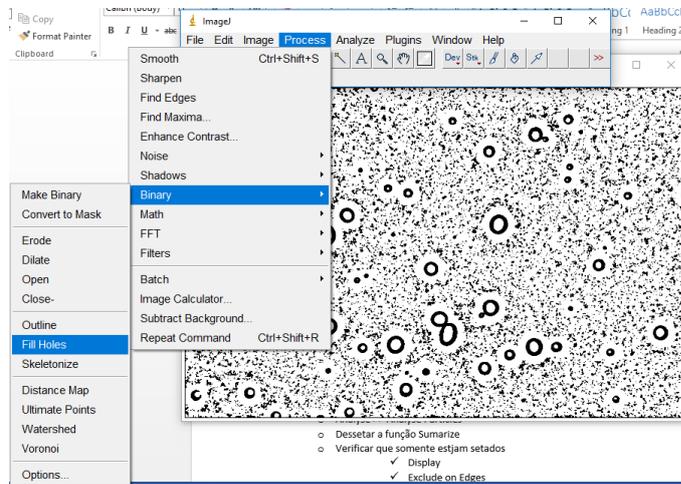


Figura A2-16 – Processamento da imagem (*Fillholes*).

A foto ficará com as bolhas preenchidas de preto, como na Figura A2-17::

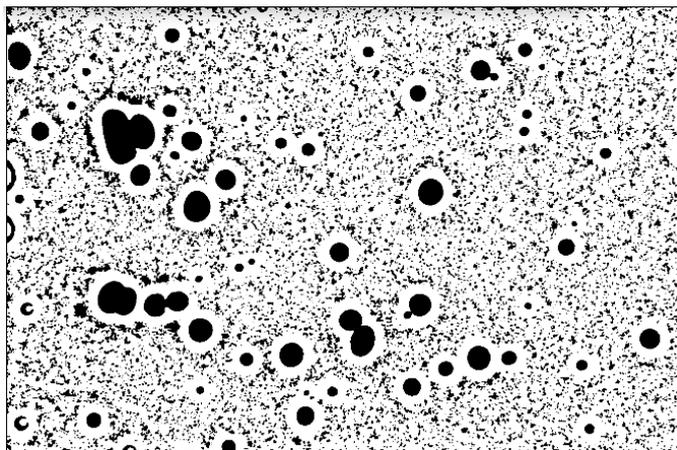


Figura A2-17 – Processamento da imagem (preenchimento da área das bolhas).

- *Process >> Binary >> Watershed* (Figura A2-18)

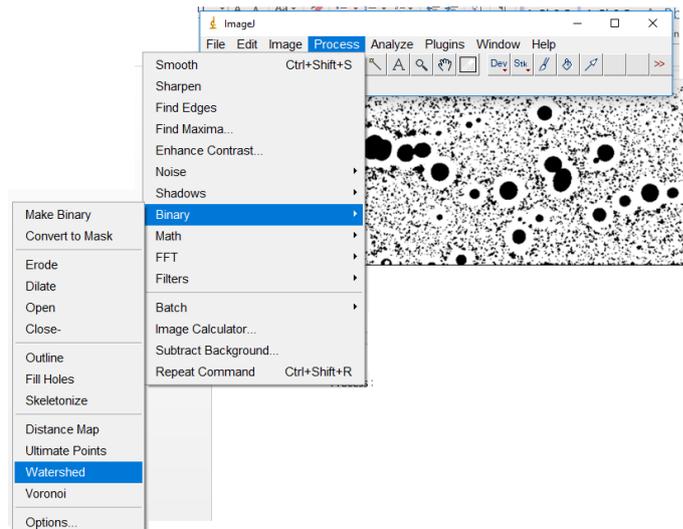


Figura A2-18 – Processamento da imagem (separação das bolhas).

As bolhas grudadas serão separadas, com uma fina linha branca, como na Figura A2-19:

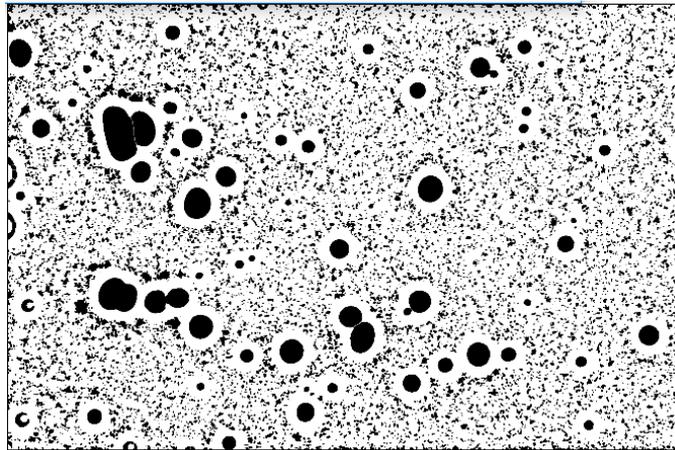


Figura A2-19 – Imagem processada com bolhas separadas.

- Analisar
 - *Analyse >> Analyse Particles* (Figura A2-20)
 - Dessejar a função *Sumarize*
 - Verificar que somente estejam setados
 - ✓ *Display*
 - ✓ *Exclude on Edges*
 - ✓ *Clear*
 - *Show: Outlines*
 - *Size: 0,25 – 30.00 mm²*
 - *Circularity: 0.80 – 1.00*
 - Pressionar o botão OK

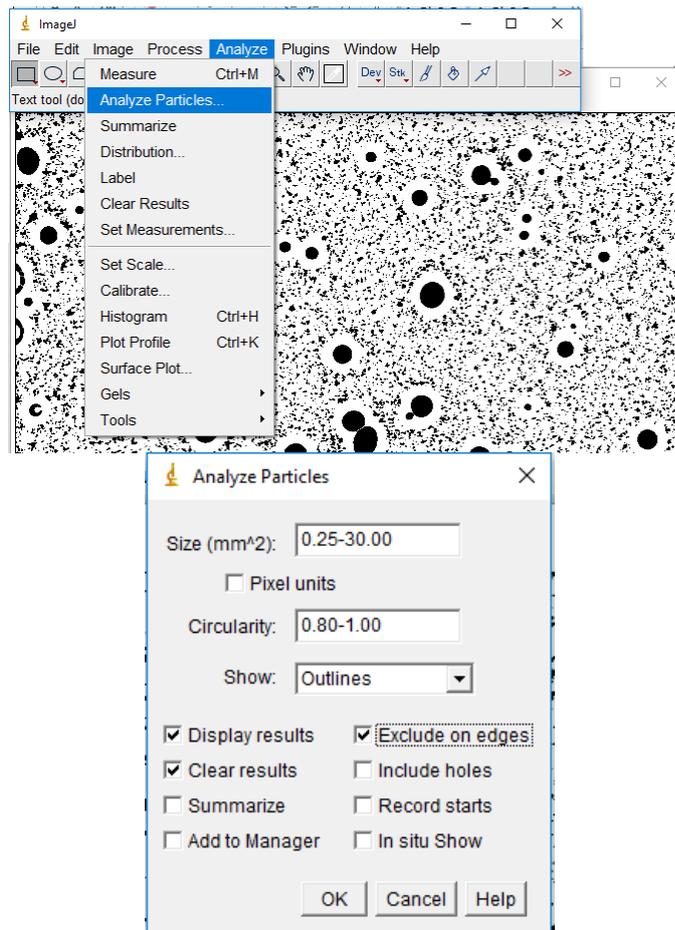


Figura A2-20 – Definição de tamanho e circularidade.

- Salvar a foto analisada com as bolhas numeradas em JPEG e em TIFF (Figura A2-21)

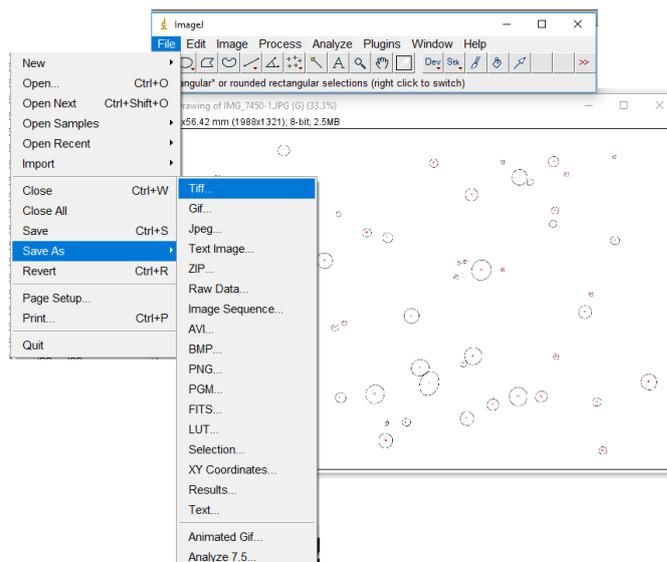
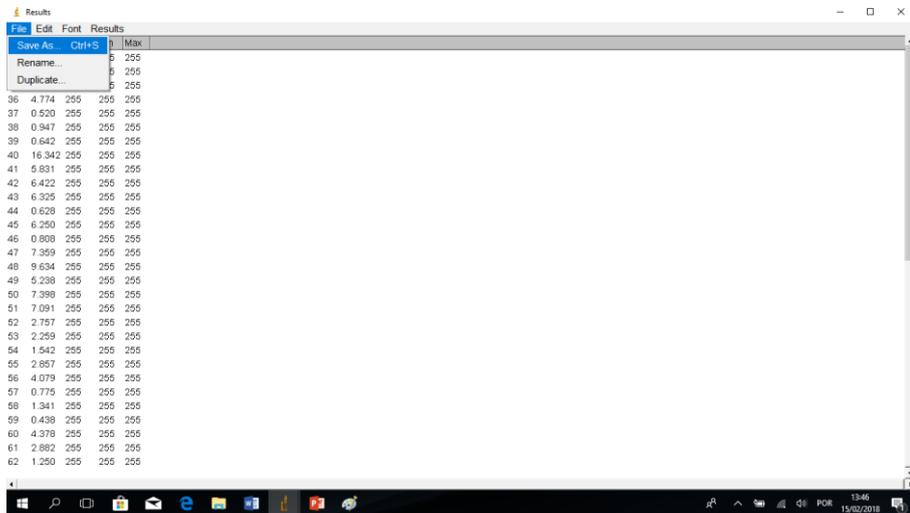


Figura A2-21 – Salvando imagem final processada.

Cada bolha será numerada, observar números na foto acima.

- Salvar a tabela com as medidas de cada bolha, (1ª coluna é medida de área da bolha) (Figura A2-22)

Deve ser dado um nome pois aparece somente *Results*, sugestão **Results img_7450.xls**



	Max			
Save As... Ctrl+S	5	255		
Rename...	5	255		
Duplicate...	5	255		
36	4.774	255	255	255
37	0.520	255	255	255
38	0.947	255	255	255
39	0.642	255	255	255
40	16.342	255	255	255
41	5.831	255	255	255
42	6.422	255	255	255
43	6.325	255	255	255
44	0.628	255	255	255
45	6.250	255	255	255
46	0.808	255	255	255
47	7.359	255	255	255
48	9.634	255	255	255
49	5.238	255	255	255
50	7.398	255	255	255
51	7.091	255	255	255
52	2.767	255	255	255
53	2.259	255	255	255
54	1.542	255	255	255
55	2.857	255	255	255
56	4.079	255	255	255
57	0.775	255	255	255
58	1.341	255	255	255
59	0.438	255	255	255
60	4.378	255	255	255
61	2.882	255	255	255
62	1.290	255	255	255

Figura A2-22 – Lista das áreas bolhas numeradas.

- Salvar a foto processada TIFF (acrescentar **proc** ao nome para evitar matar a foto original) (Figura A2-23)

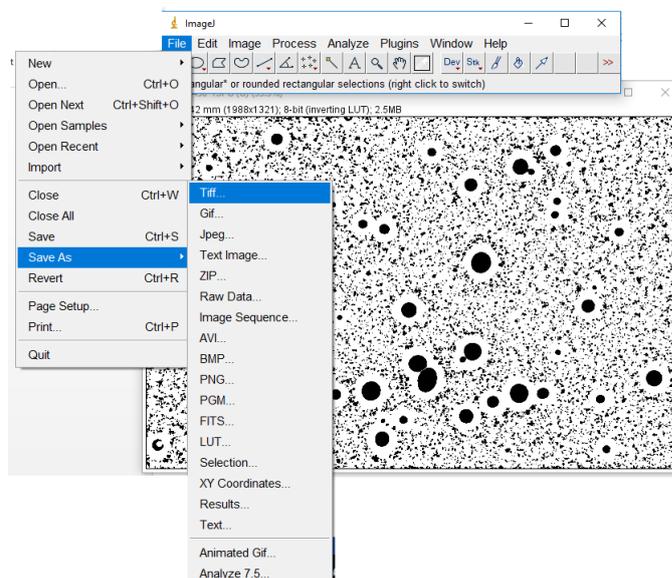


Figura A2-23 – Salvando a imagem processada

- Abrir planilha com o *software* Excel e copiar a 1ª coluna (área das bolhas) para outra planilha Excel para calcular o diâmetro médio de Sauter das bolhas da foto processada.

9.3. Anexo 3 – Medição da velocidade superficial

A velocidade superficial do gás é medida com o uso do equipamento *Bubble Sizer* conforme os seguintes procedimentos:

- 1- Ela pode ser medida em ação conjunta quando se está obtendo fotos das bolhas conforme o procedimento descrito no Anexo 2, tópico 9.2.1 Uso do *Bubble Sizer* para obtenção de fotos de bolhas, principalmente os itens 20 e 21.
- 2- Se não se pretende tirar fotos das bolhas, pode-se cumprir o procedimento descrito no Anexo 2, tópico 9.2.1 Uso do *Bubble Sizer* para obtenção de fotos de bolhas, deixando de se executar os itens: 2, 3, e de 15 a 19, assim não tirando as fotos, somente medindo o tempo para baixar o volume de 200 mL no reservatório.

Deve-se medir D , o diâmetro interno do tubo amostrador, e calcular a velocidade superficial conforme a teoria desenvolvida na Pesquisa Bibliográfica.

A medidas de Jg são feitas em vazão volumétrica, mas as unidades são [L/s] ou [dm³/s]. Para converter Q_{BS} para Jg é necessário saber a A_c que é a área da seção interna do tubo amostrador em m², de fato aquela medida é feita em L e não em m³. Então Jg é calculado conforme a Equação (A3-1):

$$Jg = \frac{Q_{BS}}{A_c \times 1000} \quad [\text{m/s}] \quad (\text{A3-1})$$

onde, Q_{BS} é a vazão medida no bubble sizer (mL/s) e A_c é a área do tubo amostrador (m²).

Reescrevendo a equação (A3-1), fica:

$$Jg = \frac{4000 \cdot V_{BS}}{\pi \cdot D^2 \cdot t_{BS}} \quad [\text{m/s}] \quad (\text{A3-2})$$

onde D é o diâmetro interno do tubo amostrador em (mm), V_{BS} é o volume rebaixado no Bubble Sizer (mL) e t_{BS} é o tempo para rebaixar em (s).

Neste caso específico de 0,2 L a fórmula (A3-2) fica desenvolvida na Equação (A3-3):

$$Jg = \frac{800}{\pi \cdot D^2 \cdot t_{BS}} \quad [\text{m/s}] \quad (\text{A3-3})$$

9.4. Anexo 4 – Medição da tensão superficial

A tensão superficial é medida com o uso do equipamento Tensiômetro K10T da marca Krüss (Figura A4-1).

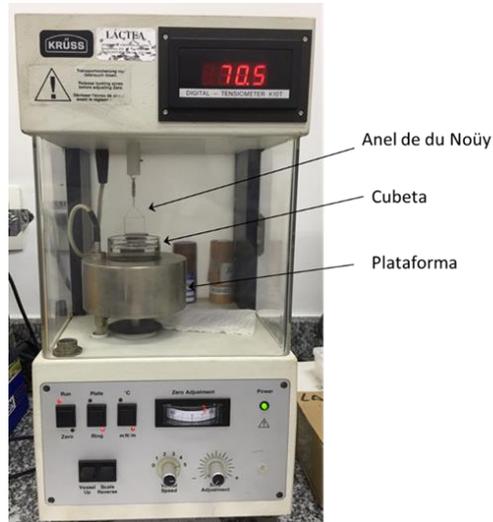


Figura A4-1 – Tensiômetro K10T

Conforme os seguintes procedimentos:

1. Ligar o equipamento no botão Liga/Desliga atrás do equipamento, e esperar aquecer o equipamento por 30 minutos;
2. Anotar a temperatura da sala;
3. Preparar as soluções para se medir a tensão superficial;
4. Travar a balança girando o botão B1, para apertar (Figura A4-2);

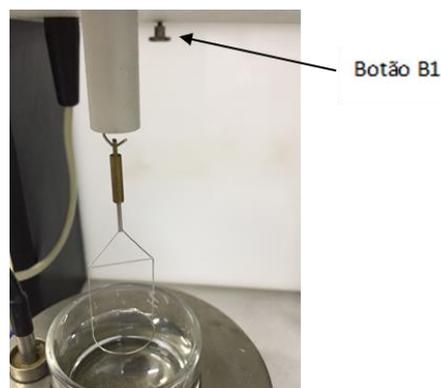


Figura A4-2 – Botão B1 (travando balança)

5. Limpar a cubeta e o anel de du Noüy com álcool isopropílico;
6. Encher a cubeta com solução a medir até 5 mm da borda, e colocá-la no seu receptáculo na plataforma;
7. Instalar com cuidado o anel no gancho da balança;
8. Destruar a balança girando o botão B1 em sentido contrário, até o final;
9. Fechar a porta do instrumento;
10. Zerar pressionando o botão *Run/Zero* (Figura A4-3);



Figura A4-3 – Botão *Run/Zero*

11. Levantar a plataforma girando o botão B2 do lado esquerdo inferior (Figura A4-4) lentamente com cuidado até que o anel esteja mergulhado no líquido, não entrar muito no líquido;

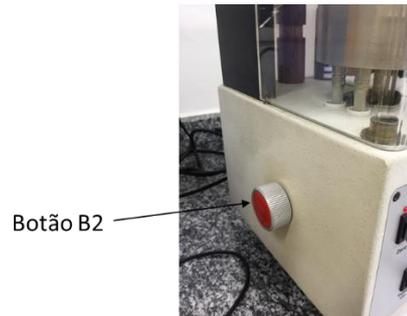


Figura A4-4 – Botão B2 (Ajuste da altura da plataforma).

12. Zerar girando o botão B3 do lado direito até zerar o display (Figura A4-5):

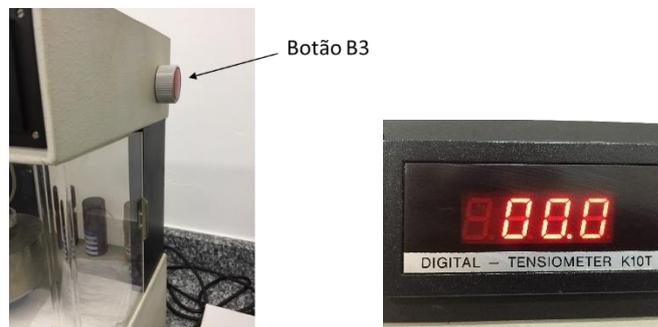


Figura A4-5 – Botão B3 e *Display* Digital

13. Zerar girando o botão B4 do lado esquerdo superior (Figura A4-6), de ajuste fino, até zerar o ponteiro vermelho, o equipamento produz um som característico de cigarra quando passa do positivo para o negativo e vice-versa.



Figura A4-6 – Botão B4 e Ponteiro vermelho de *Zero Adjustment*

14. Pressionar o botão *Run/Zero*, para iniciar Run;
15. Esperar a plataforma abaixar automaticamente, o equipamento produz um som característico de cigarra quando está perto de romper o filme de líquido;
16. Anote o maior valor atingido, não necessariamente é preciso romper o filme lamelar produzido entre o anel e a superfície do fluido, o valor no display está em mN/m;
17. Zerar pressionando o botão *Run/Zero* (Figura A4-3);
18. Repetir os passos 10 a 16 por 3 a 5 ciclos, anotando as tensões atingidas;
19. Zerar pressionando o botão *Run/Zero* (Figura A4-3)
20. Abrir a tampa do instrumento;
21. Travar a balança, girando o botão B1, para apertar (Figura A4-2);
22. Baixar a plataforma girando o botão B2 (Figura A4-4);
23. Remover o anel de du Noüy;
24. Limpar o anel com álcool isopropílico;
25. Secar e guardar o anel na sua embalagem de madeira;
26. Remover a cubeta, descartar o líquido e lavar a cubeta com água;
27. Limpar a cubeta com álcool isopropílico;
28. Reinstalar a cubeta no seu receptáculo na plataforma.
29. Fechar a porta do instrumento;
30. Desligar o equipamento.

Observação.: Deve-se iniciar medindo uma amostra de água Milli-Q ou água destilada e deionizada, que em temperatura ambiente (25°C) deve dar um valor de tensão superficial ao redor de 72 mN/m, para checar a acuracidade do equipamento. A água pura teoricamente tem o valor de 71,9948 mN/m @ 25 °C,. Para outras temperaturas ver Tabela A4-1

Tabela A4-1 – Tensão superficial da água pura em várias temperaturas

Temperatura (°C)	Tensão Superficial (mN/m)
20	72,8270
21	72,6609
22	72,4946
23	72,3281
24	72,1616
25	71,9948
26	71,8279
27	71,6608
28	71,4936
29	71,3262
30	71,1586

Fonte: DBBST, 2018