

FLOTAÇÃO MINERAL USANDO A BACTÉRIA *R. OPACUS* ADAPTADA A SUBSTRATO MINERAL¹

Antonio Gutiérrez Merma²
Maurício Leonardo Torem²

Resumo

Este trabalho tem como objetivo de estudo o uso da bactéria *Rhodococcus opacus*, adaptada à presença de substrato mineral, na bioflotação de quartzo e apatita. Sendo usados estudos de potencial zeta, tensão superficial e microflotação. Os estudos eletroforéticos mostraram uma pequena mudança no ponto isoelétrico (PIE) da bactéria após a adaptação. A apatita mostrou uma flotabilidade em torno de 45% num pH 5, usando 0,15 g L⁻¹ de bactéria após 2 min. de flotação. Enquanto que o quartzo alcançou 14%. O uso da bactéria adaptada mostrou um incremento na flotabilidade de ambos minerais. Sendo que a flotabilidade da apatita incrementou quando foi usada a bactéria adaptada à apatita, o mesmo aconteceu com o quartzo, a sua flotabilidade foi incrementada quando foi usada a bactéria adaptada a quartzo.

Palavras-chave: Bioflotação; Apatita; Quartzo; Adaptação bacteriana.

MINERAL BIOFLOTATION USING *R. OPACUS* BACTERIA ADAPTED TO MINERAL SUBSTRATE

Abstract

The goal of this work was to study the effect of bacteria adaptation – to the presence of a mineral substrate – in apatite and quartz bioflotation. The zeta potential studies, surface tension measurements and microflotation were used to evaluate the performance of the microorganism. The electrophoretic studies showed a little change in the isoelectric point (IEP) value of the bacteria after the adaptation. At the beginning, the greatest flotability of the apatite achieved 45% at pH around 5, with 0.15 g/L of bacteria after 2 min. of flotation. On contrast, quartz achieved only 14%. Moreover, when the adapted bacteria was use, an improvement in mineral flotability values was observed. The apatite flotability increased when apatite-adapted *R. opacus* was used, furthermore the same behavior was observed in the case of quartz flotability. This effect was more pronounced in acidic pH range.

Key words: Bioflotation; Apatite; Quartz; Bacterial adaptation.

¹ Contribuição técnica ao 68^o Congresso Anual da ABM - Internacional, 30 de julho a 2 de agosto de 2013, Belo Horizonte, MG, Brasil.

² Departamento de Engenharia de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rua Marques de São Vicente, 225, Gávea, Rio de Janeiro, Brasil.

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda mundial por fosfatos, devido principalmente a produção de fertilizantes, força as indústrias de fosfatos explorarem depósitos minerais de baixo teor. Esse fato associado com as rigorosas especificações dos concentrados, as regulações ambientais e a necessidade de reduzir custos de operação, promovem: A pesquisa de novas técnicas capazes de processar esse tipo de matéria prima e o uso de reagentes químicos menos agressivos ao meio ambiente.^(1,2) Neste contexto, a biotecnologia se apresenta como um processo atrativo devido a que podem ser utilizados no processamento de diversos minerais⁽³⁻¹⁵⁾ e por apresentar baixos custos de operação.⁽¹⁾ A bactéria *Rhodococcus opacus* é um microrganismo unicelular, do tipo gram positiva. Apresenta na sua parede celular, diferentes compostos, principalmente, polissacarídeos, ácidos carboxílicos, grupos lipídeos e ácido micólico, os que fornecem uma comportamento anfotérico à bactéria,^(9,16,17) devido aos grupos funcionais presentes nela. Segundo Natarajan,⁽¹⁶⁾ a presença desses grupos torna seletiva a bactéria. Mais do que isso, a taxa de produtos metabólicos, produzidos pelos microrganismos, pode ser modificada, tornando o microrganismo mais seletivo e inclusive mais hidrofóbico. Tal modificação pode ser realizada através de uma adaptação bacteriana a substrato mineral ou por modificações genéticas. Portanto, este trabalho objetiva estudar a adaptação da bactéria *Rhodococcus opacus* a presença de apatita e quartzo e o seu emprego como biorreagente na flotação desses minerais.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Amostras Minerais

Neste estudo foram usadas amostras puras de apatita e quartzo. Ambas as amostras foram fornecidas por fornecedores de Minas Gerais. As amostras foram reduzidas de tamanho até um tamanho menor a 3 mm. Posteriormente, foi usado um morteiro de porcelana para obter menores tamanhos de partículas. O quartzo foi lavado varias vezes com (0,1 M) até que um sobrenadante foi visto. Depois, esse material foi lavado varias vezes com agua destilada até que o pH da suspensão mineral foi o mesmo que no inicio do procedimento. Finalmente, o quartzo obtido foi seco a temperatura ambiente. Todas as amostras, após redução de tamanho foram guardadas num dissecador.

Tabela 1. Tamanho de Partícula (d_{80}) para procedimento experimental

Ensaio	Tamanho de partícula (μm)
Potencial Zeta	< 20 μm
Microflotação	(105 – 75) μm

2.2 Microrganismo: Cultura e Adaptação

A espécie microbiana empregada neste trabalho foi a bactéria *Rhodococcus Opacus*. O uso da Bactéria *R. Opacus* no processo de bioflotação deve-se as características hidrofóbicas que apresenta a sua superfície, além da sua facilidade em produzir espuma quando em suspensão aquosa, fatos comprovados em trabalhos prévios realizados pelo nosso grupo de pesquisa. A cepa bacteriana foi cultivada num meio de cultura líquido (glucosa, 10.0 g L⁻¹, Peptona, 5.0 g L⁻¹, Extrato

de malta, 3.0 g L^{-1} e extrato de levedura 3.0 g L^{-1}) em balões de Erlenmeyer num shaker rotatório a 28°C e durante 72 horas. Após o crescimento, a suspensão celular foi centrifugada com $3300\times g$ durante 8 minutos, o concentrado da centrifugação constituído pelas células da bactéria, foi lavado três vezes com água deionizada, e re-suspenso numa solução de 1mM de NaCl. Finalmente a suspensão concentrada obtida foi esterilizada na autoclave para inativar as bactérias presentes. A concentração celular foi determinada por meio da densidade ótica num espectrofotômetro UV/Vis (UV-Spectrophotometer, UV-1800, Shimadzu) a comprimentos de onda específica para a bactéria ($\lambda=620\text{nm}$).

A adaptação da cepa *R. opacus* a presença de amostras minerais (quartzo e apatita) foi realizado através da cultura da bactéria sob as mesmas condições da cultura inicial, em presença do mineral com uma concentração de 5% (p/v) em 3 subculturas consecutivas.

2.3 Estudos de Potencial Zeta

As medidas de potencial zeta das células bacterianas foram determinadas num equipamento de micro eletroforese do tipo Zeta sizer nano da Malvern. As medidas foram realizadas empregando-se como eletrólito indiferente NaCl (1 mM). Preparou-se suspensões com concentração de $0,1 \text{ g L}^{-1}$ e o valor de pH foi ajustado com alíquotas de HCl e NaOH. A avaliação do potencial zeta foi realizada antes e após adaptação da bactéria a substrato mineral, com o intuito de identificar alguma mudança na parede celular da bactéria.

2.4 Medidas de Tensão Superficial

As medidas de tensão superficial foram realizadas usando o método de anel num tensiômetro digital Kruss K10, com precisão de $\pm 0.1 \text{ mN m}^{-1}$. As medidas foram realizadas antes e após adaptação da bactéria ao substrato mineral.

2.5 Ensaio de Microflotação

Os ensaios de microflotação foram realizados num Tubo de Hallimond modificado. Foram usados 1.0 g de mineral ($+75-105 \mu\text{m}$) em 0.16 L de suspensão bacteriana (concentração conhecida). O mineral foi pré-condicionado com a suspensão bacteriana dentro do tubo sob agitação constante durante 5 min. e depois o pH desejado foi ajustado com alíquotas de NaOH e HCl. Finalmente, os ensaios foram realizados usando um fluxo de ar de 15 ml/min durante 2 min. As frações flotadas e não flotadas foram cuidadosamente separadas, lavadas e pesadas. Para assim determinar o grau de flotabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSÃO

3.1 Estudos de Potencial Zeta

Esta parte do trabalho, objetiva mostrar qualquer mudança superficial (comportamento eletroforetico) da bactéria *R. opacus* após adaptação ao substrato mineral. As mudanças nas cargas superficiais podem ser relacionadas com modificações nos grupos funcionais presentes na parede celular da bactéria.

A Figura 1 apresenta os resultados das medidas de potencial zeta da bactéria antes e após adaptação em função do pH. A bactéria tem uma superfície carregada negativamente em quase toda a faixa de pH. Apresentando um ponto isoelétrico (PIE) em torno do pH 2.8. em conforme com outros estudos.^(4,9) O valor ácido do PIE pode ser associado à presença de grupos aniônicos na parede celular da bactéria os que dominam sobre os grupos catiônicos. A presença desses grupos aniônicos e catiônicos fornecem um comportamento anfotérico à bactéria além de propriedades hidrofóbicas, o que implica que a carga superficial seja dependente do pH da suspensão.^(1,7,16-18) Após a adaptação bacteriana, foi observada uma pequena mudança nos valores de potencial zeta da bactéria, mostrando valores mais positivos. O que poderia ser devido a um incremento dos grupos catiônicos presentes na superfície celular ou nos produtos metabólicos. Segundo Natarajan,⁽¹⁶⁾ uma maior de bioproteínas são produzidas durante o processo de adaptação da bactéria *Paenibacillus polymyxa* a quartzo. O autor também que essa modificação afeta a hidrofobicidade da bactéria.

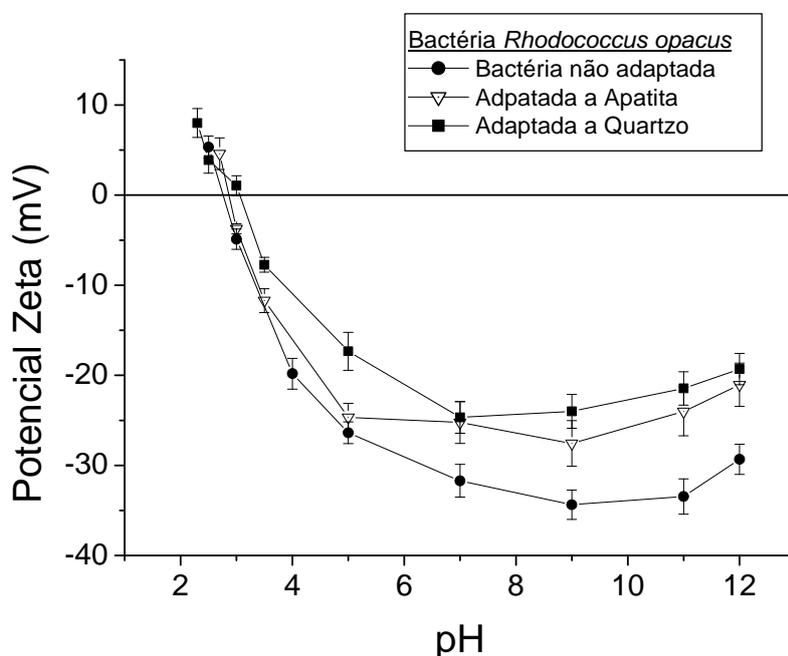


Figura 1. Potencial zeta da bactéria *Rhodococcus opacus*, antes e após adaptação.

3.2 Medidas de Tensão Superficial

Na Figura 2 pode ser observado que a tensão interfacial da bactéria não adaptada decresce rapidamente com valores inferiores a pH 7, alcançando seu mínimo valor num pH 3, valor próximo do PIE. Segundo Lambert et al.⁽¹⁹⁾ uma das melhores condições para formar espuma é apresentada no valor do PIE da celulosa e celobiase. Assim, considerando que o menor valor de tensão superficial foi encontrado próximo do PIE da bactéria, pode ser esperado uma formação de espuma nesse valor de pH. Assim é evidenciado que os baixos valores de tensão superficial são relacionados com a formação de espuma. Desta forma, é observada uma formação de espuma estável na faixa de pH entre 3 e 7, enquanto que acima de pH 7, a espuma formada foi menos estável, colapsando facilmente. Após a adaptação bacteriana, foi observada uma modificação nas medidas de tensão superficial da suspensão. Apresentando um incremento na faixa ácida e neutra, o

que foi confirmado com uma queda substancial da formação de espuma. No entanto, na região básica, foi observada uma diminuição da tensão superficial, favorecendo a formação de espuma. Esse efeito pode ser relacionado com uma maior produção de componentes, capazes de reduzir a tensão superficial da suspensão, formados durante o processo de adaptação.

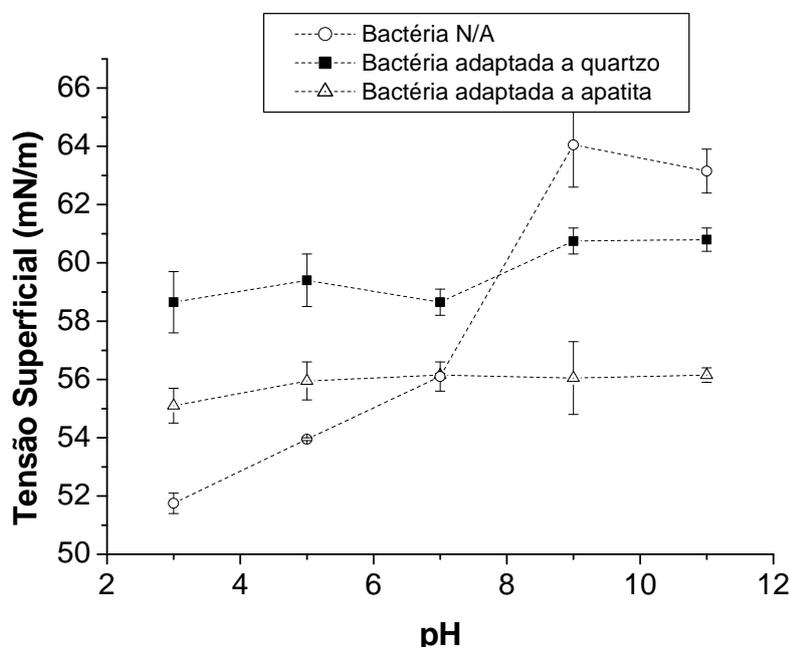


Figura 2. Tensão superficial da suspensão bacteriana. Bactéria: 0,15 g/L.

3.3 Ensaio de Microflotação

Os estudos de flotabilidade foram desenvolvidos para avaliar o potencial uso da bactéria *R. opacus* (adaptada e sem adaptação) como biocoletor de apatita e quartzo. Na ausência de qualquer reagente, foram observadas insignificantes valores de flotabilidade para apatita (6.1%) e quartzo (3.3%). O que era esperado desde que são minerais naturalmente hidrofílicos na ausência de um coletor hidrofóbico. Antes da adaptação, foi observado que ambos minerais apresentam sua maior flotabilidade num pH 5 e usando 0,15 g L⁻¹, alcançando valores em torno de 45% e 15% para apatita e quartzo respectivamente, após 2 min. de flotação. A Figura 12 mostra a comparação dos resultados da flotação do mineral apatita, usando como coletores a bactéria *R. opacus* sem adaptação e adaptada a quartzo e apatita. Da figura, pode ser apreciado um incremento no valor de flotabilidade da apatita num pH igual a 3, e uma variação mínima nos outros valores de pH, quando foi usada a bactéria adaptada a presença de quartzo. Já quando a bactéria adaptada à apatita foi usada, foi observado um incremento do valor de flotabilidade da apatita em quase toda a faixa de pH excetuando o pH 11.

Da mesma forma a Figura 12 apresenta os resultados de microflotação do quartzo, quando a bactéria adaptada à apatita foi usada, não foi observada nenhuma mudança nos valores de flotabilidade do quartzo. No entanto, um pequeno incremento foi observado em todos os valores de pH, quando foi usada a bactéria adaptada a quartzo.

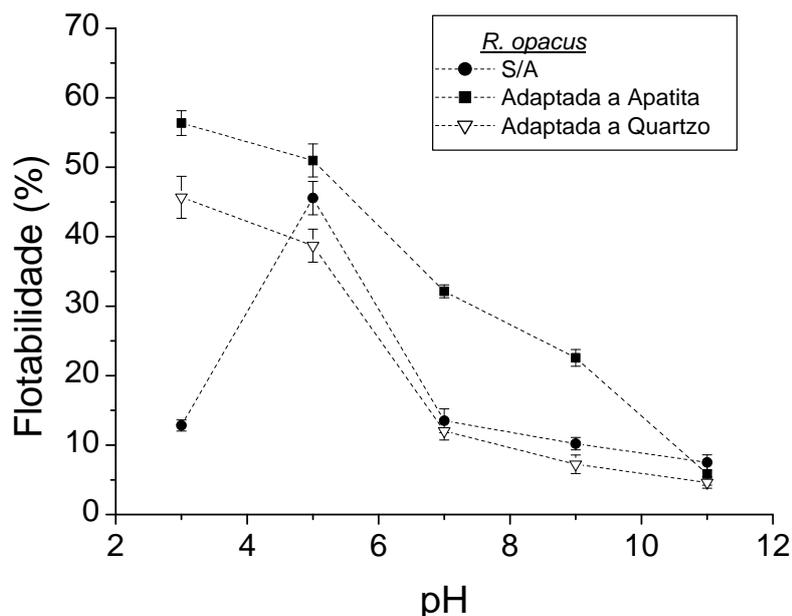


Figura 3. Flotabilidade de apatita usando a bactéria *R. opacus*, antes e após da adaptação, em função do pH.

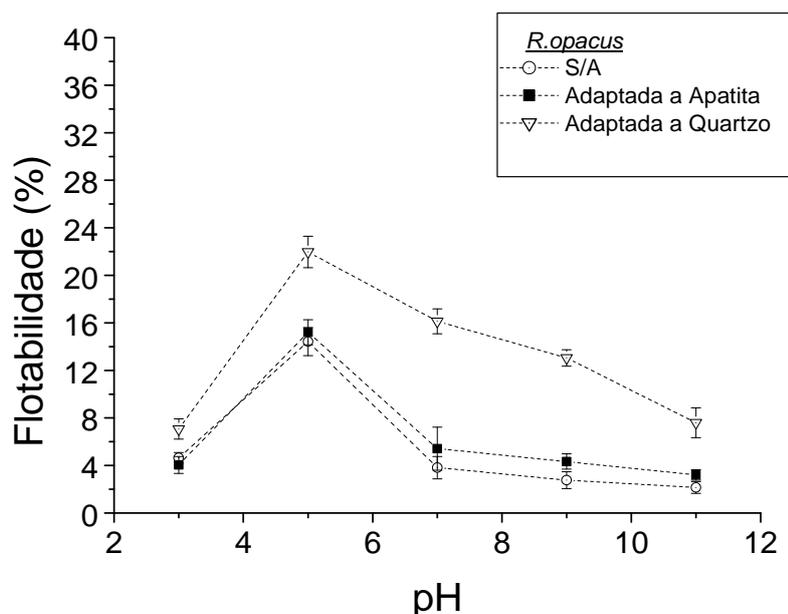


Figura 4. Flotabilidade de quartzo usando a bactéria *R. opacus*, antes e após da adaptação, em função do pH.

Portanto, os resultados mostraram um maior comportamento hidrofóbico da apatita, devido principalmente, a adesão/adsorção da bactéria e/ou produtos metabólicos na superfície mineral. O que mostra também uma preferência das células pela superfície da apatita. No entanto, essa preferência foi incrementada através da adaptação bacteriana à presença de substrato mineral. Assim a flotação mineral pode ser promovida devido à particular característica da bactéria *R. opacus*, agindo como coletor e como espumante, efeitos observados neste trabalho e em outros. (4,9,20)

4 CONCLUSÕES

Os estudos de potencial zeta da bactéria *Rhodococcus opacus*, antes e após adaptação ao substrato mineral, mostraram uma modificação no seu perfil eletroforetico. Mostrando valores de carga superficial, mais positivos num meio neutro e básico. Também foi encontrado que a tensão superficial e flotabilidade da bactéria são dependentes do valor de pH. A adaptação bacteriana conseguiu obter menores valores de tensão superficial num pH básico. O uso da bactéria adaptada a presença de mineral, conseguiu incrementar os valores de flotabilidade dos minerais, alcançando 55% e 50% para apatita num valor de pH de 3 e 5 respectivamente, enquanto o quartzo alcançou uma flotabilidade de 25% num pH 5. Assim, foi possível evidenciar que a flotabilidade de um específico mineral pode ser incrementado se a bactéria ou microrganismo for adaptado à presença do próprio mineral, durante o desenvolvimento da bactéria.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CNPq, VALE, CAPES e FAPERJ pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- 1 RAO, K.H., SUBRAMANIAN, S., Bioflotation and Bioflocculation of relevance to minerals bioprocessing, in: Microbial processing of metal sulfides (Edgardo R. Donati e Wolfgang Sand), 2007, 267 – 286.
- 2 DWYER, R., BRUCKARD, W.J., Rea, S., Holmes, R.J., Review, Bioflotation and Bioflocculation review: microorganisms relevant for mineral beneficiation, Mineral Processing and Extractive Metallurgy (Trans. Inst. Min. Metall. C) 2012, 121, 2, 65 – 71.
- 3 AMINI, E., OLIAZADEH, M., KOLAHDOOZAN, M. Kinetic comparison of biological and conventional flotation of coal. Minerals Engineering, 22, 2009, 344 – 347.
- 4 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, 2007, 20, 10, 1026 – 1032.
- 5 DUBEL, J., SMITH, R.W., MISRA, M., CHEN, S., Microorganisms as chemical reagents: The hematite system. Minerals Engineering, 5 (3-5), 1992, 547 – 556.
- 6 ELMAHDY, A.M; EL-MOFTY, S.E; ABDEL-KHALEK, M.A; ABDEL-KHALEK, N.A and EL-MIDANY. A.A. Bacterially induced phosphate-dolomite separation using amphoteric collector. Separation and purification technology. 2013, 102, 94-102.
- 7 FAHARAT, M., HIRAJIMA, T., SASAKI, K., AIBA, Y., DOI, K., Adsorption of SIP *E. coli* onto quartz and its applications in froth flotation, Minerals Engineering, 2008, 21, 389 – 395.
- 8 HOSSEINI, T.R., KOLAHDOOZAN, M., TABATABAEI, Y.S.M., OLIAZADEH, M., NOAPARAST, M., ESLAMI, A., MANAFI, Z., ALFANTAZI, A., Bioflotation of Sarcheshmeh copper ore using *Thiobacillus Ferrooxidans* bacteria, Minerals Engineering. 2005, 18, 371 – 374.
- 9 MESQUITA, L.M.S., LINS, F.A.F., TOREM, M.L., Interaction of a hydrophobic bacterium strain in a hematite-quartz flotation system, International Journal of Mineral Processing, 2003, 71, 31 – 44.
- 10 PRAKASAN, M.R. SABARI, NATARAJAN, K.A. Microbially induced separation of quartz from hematite using sulfate reducing bacteria. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010, 78, 163 – 170.
- 11 RAICHUR, A.M., MISRA, M. BUKKA, K., and SMITH R.W., Flocculation and flotation of coal by adhesion of hydrophobic *Mycobacterium phlei*, Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 1996, 8, 13 – 24.

- 12 SANTHIYA, D., SUBRAMANIAN, S., NATARAJAN, K.A., HANUMANTHA Rao, K. and FORSSBERG, K.S.E., Biomodulation of galena and spharelite surfaces using Thiobacillus thiooxidans, International Journal of Mineral Processing, 2001, 62, 121 – 141.
- 13 SUBRAMANIAN, S., SANTHIYA, D. and NATARAJAN, K.A., Surface modification studies on sulphide minerals using bioreagents, International Journal of Mineral Processing, 2003, 72, 175-188.
- 14 YANG, H., ZHANG, Q. and JIANG, Z., Adsorbability of Mycobacterium phlei on hematite surface, Journal of University of Science and Technology Beijing 2007, 14 (2), 103 – 106.
- 15 ZHENG, X., ARPS, P.J., SMITH, R.W., Adhesion of two bacteria onto dolomite and apatite: their effect on dolomite depression in anionic flotation. International Journal Minerals Processing, 2001, 62, 159 – 172.
- 16 NATARAJAN, K.A., Microbially-induced mineral flotation and flocculation: prospects and challenges, Proceedings of XXIII International Mineral Processing Congress, 2006, 487 – 498.
- 17 VILINSKA, A., RAO, K.H., Leptosirillum ferrooxidans-sulfide mineral interactions with reference to bioflotation and bioflocculation, Trans. Nonferrous Met. Soc. China, 2008, 18, 1403 – 1409.
- 18 VAN DER WAL, A., NORDE, A.A.J.B., ZEHNDER, B., LYKLEMA, J., A determination of the total charge in the cell walls of gram-positive bacteria. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 1997, 9, 81–100.
- 19 LAMBERT, W.,D., DU, L., MA, Y., LOHA, V., BURAPATANA, V., PROKOP, A., TANNER, R., D., PAMMENT, N.B., The effect of pH on the foam fractionation of β -glucosidase and cellulase. Bioresource Technology, 2003, 87, 247-253.
- 20 MERMA, A.G., Fundamental aspects in the apatite-quartz bioflotation system using the R. opacus bacteria as bioreagent, 2012, PhD Thesis, PUC-Rio, Rio de Janeiro (In Portuguese).