UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
METALÚRGICA E DE MINAS

Dissertação de Mestrado

"ESTUDO DE *Mycobacterium phlei* (ATCC 11758) COMO AGENTE AGREGANTE PARA HEMATITA E QUARTZO"

Autora: Alexandra A. R. de Assis
Orientador: Prof. George Eduardo Sales Valadão
Suporte: Profa. Patrícia Silva Cisalpino

Julho 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
METALÚRGICA E DE MINAS

Alexandra Alves Rodrigues de Assis

"ESTUDO DE *MYCOBACTERIUM PHLEI* (ATCC 11758) COMO AGENTE AGREGANTE PARA HEMATITA E QUARTZO"

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Área de concentração: Tratamento de Minérios
Orientador: Prof. George Eduardo Sales Valadão
Suporte: Profa. Patrícia Silva Cisalpino

Belo Horizonte
Escola de Engenharia da UFMG
2007

Agradeço ao Todo- Poderoso Sr. Jesus,
ao meu pai (IN MEMORIAM), à minha mãe e ao meu querido esposo Sérgio.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1

2. OBJETIVOS 3

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 4

3.1. Principais Características dos Microrganismos 4

3.1.1. Quantificação do Crescimento Microbiano 7

3.1.2. Curva de Crescimento 9

3.1.3. Cálculo da Taxa de Crescimento 10

3.2. Mycobacterium phlei 12

3.3. Utilização de Microrganismos em Processos Industriais 16

3.4. Sedimentação 18

3.5. Filtragem 20

3.5.1. Tratamento Matemático dos Resultados de Filtragem 23

3.6. Utilização de Microrganismos em Biotratamento de Minerais 26

4. METODOLOGIA 32

4.1. Amostras minerais 32

4.1.2. Distribuição Granulométrica 32

4.1.3. Massa específica 33

4.1.4. Composição mineralógica 33

4.1.5. Análise química quantitativa 33

4.1.6. Área superficial específica (Índice de Blaine) 33

4.1.7. Potencial zeta 35

4.1.8. Determinação do Ponto de Carga Zero 36

4.2. Bactéria 36

4.2.1 Manutenção da bactéria e obtenção de massa 36

4.2.2 Obtenção da curva de crescimento 37

4.2.4 Potencial Zeta da *M. phlei*. 40

4.3 Experimentos 40

4.3.1 Teste de Sedimentação em proveta..... 40

4.3.1 Teste de Filtragem com Medida da Massa do Filtrado..... 42

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 44

5.1. Caracterização das amostras minerais 44

5.2. Determinação do ponto de carga zero para a hematita 45

5.3. Determinação do Potencial Zeta das amostras minerais e da bactéria 46

5.4. Curva de Crescimento da Bactéria..... 47

5.5. Teste de Sedimentação em Proveta 48

5.5.1 Influência do pH da polpa..... 49

5.5.2 Influência da presença da *M. phlei* na velocidade de sedimentação (Vs) e turbidez do sobrenadante 51

5.6. Teste de Filtragem 55

5.6.1 Amostra de Hematita 55

5.6.2 Amostra de Quartzo 60

6. CONCLUSÃO..... 64

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 66

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Estrutura e orientação dos fosfolipídeos (TORTORA et al., 2000). 5
Figura 3.2 – Parede celular de bactérias gram-negativas (a) e gram-positivas (b) (TORTORA et al., 2000). 6
Figura 3.3 – Estrutura da unidade repetitiva da peptideoglicana de E. coli (KONEMAN et al., 2001). 6
Figura 3.4 – Metodologia de quantificação de UFC/mL. 8
Figura 3.5 – Curva de crescimento bacteriano típica mostrando as 4 fases típicas de crescimento (TORTORA et al., 2000). 9
Figura 3.6 – Curva de crescimento bacteriano típica com seções (MURRAY et al., 1980) 11
Figura 3.7 – *M. phlei* em Löwenstein-Jensen medium depois de 1 semana de incubação a 37 °C, em condições aeróbicas.(ASSIS, 2005) 12
Figura 3.8 – Efeito da temperatura no tipo de ácido graxo presente na parede da *M. phlei* (SUUTARI & LAAKSO, 1992) 13
Figura 3.9 – Esquema da parede celular das micobactérias (www.wikipedia.org). 14
Figura 3.10 – Potencial zeta da *Mycobacterium phlei* e hematita como função do pH (DUBEL et al., 1992). 15
Figura 3.11 – Curva de crescimento da *Mycobacterium phlei* em meio middlebrook 7H9 com enriquecimento ADC, à 37ºC, 110RPM (BARDOUNIOTIS et al., 2001). 16
Figura 3.12 – Curva de Sedimentação (VALADÃO, 2004). 20
Figura 3.13 – Representação simplificada da montagem de teste de folha (VALADÃO, 2004). 21
Figura 3.14 – Representação de montagem de teste de folha com controle de massa de filtrado por computador (VALADÃO, 2004). 21
Figura 3.15 – (a) Sedimentação de suspensão de hematita 2% na presença e ausência de 10,2mg de *M. phlei*/kg sólidos. Porcentagem de sólidos medida 10cm abaixo na pipeta de Andreassen; (b) potencial zeta da *Mycobacterium phlei* e hematita como função do pH (DUBEL et al., 1992). 27

Figura 3.16 – (a) Eficiência de agregação de amostras de carvão em função do pH na presença de *M. phlei*; (b) potencial zeta para amostras de carvão e *M. phlei*, .em função do pH (RAICHUR et al., 1996). 28
Figura 3.17 – Potencial zeta da fluorita e da *C. xerosis* em função do pH (HAAS & SCHNEIDER, 1998)..... 29
Figura 3.18 – Mobilidade eletroforética da pirita, calcopirita e arsenopirita antes da interação (símbolos abertos) e após interação (símbolos fechados) com a A. ferrooxidans (CHANDRAPRABHA et al., 2005)..... 30
Figura 3.19 - Potencial zeta do quartzo(a) e da calcita (b) após interação com metabolitos previamente extraídos (SOMASUNDARAN et al., 2005). 31
Figura 4.1 – Permeabilímetro de Blaine (NBR NM 76, 1998)..... 34
Figura 4.2 – Método de amostragem com diluições sucessivas para obtenção de curva de crescimento. 39
Figura 5.1 – Distribuição granulométrica amostras de quartzo e hematita 44
Figura 5.2 – Gráfico de ΔpH em função de pH_{final} para hematita..... 46
Figura 5.3 – Curva de Potencial Zeta das amostras minerais e da bactéria..... 46
Figura 5.4 – Curva de Crescimento da *M. phlei* em meio Pratt, 36ºC, 120RPM 48
Figura 5.5 – Velocidade de sedimentação para polpa de hematita x pH 50
Figura 5.6 – Turbidez do sobrenadante para polpa de hematita x pH 50
Figura 5.7 – Vs de polpa de hematita x pH na ausência e presença de1000ppm *M. phlei* 51
Figura 5.8 – Turbidez do sobrenadante de polpa de hematita na presença de 1000ppm *M. phlei* x pH 52
Figura 5.9 – Vs de polpa de hematita x concentração de *M. phlei* 53
Figura 5.10 – Turbidez do sobrenadante x concentração de *M. phlei* (pH 9)..... 54
Figura 5.11 – Turbidez do sobrenadante x concentração de *M. phlei* (pH 6, 7 e 8)..... 54
Figura 5.12 – % de sólidos de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei*. 55
Figura 5.13 – Tempo de formação de torta (TF) de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei*..... 56
Figura 5.14 – Tempo de formação de torta (TF) de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei* (Escala maior) 57

Figura 5.15 – Umidade final de torta de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei* 58
Figura 5.16 – Permeabilidade de torta de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei* 58
Figura 5.17 – Resistência específica de torta de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei* 59
Figura 5.18 – Resistência específica de torta de amostra de hematita em função do pH e da concentração de M. phlei (Escala maior) 60
Figura 5.19 – % de sólidos de amostra de quartzo em função do pH e da concentração de *M. phlei*. 60
Figura 5.20 – Tempo de formação de torta (TF) de amostra de quartzo em função do pH e da concentração de *M. phlei*. 61
Figura 5.21 – Umidade final de torta de amostra de quartzo em função do pH e da concentração de *M. phlei* 61
Figura 5.22 – Permeabilidade de torta de amostra de quartzo em função do pH e da concentração de *M. phlei* 62
Figura 5.23 – Resistência específica de torta de amostra de quartzo em função do pH e da concentração de *M. phlei* 63

LISTA DE TABELAS

Tabela III-1 – Fases da curva de crescimento bacteriano 11
Tabela III.2 –Coagulantes e floculantes mais comuns (VALADÃO, 2004). 19
Tabela III-3 – Estudos em biotratamento, com os respectivos microrganismos, tipo de ação e mineral ou sistema mineral estudado. 26
Tabela IV-1 – Composição meio líquido (Pratt) para *M. phlei*. 37
Tabela V-1– Índice de blaine e massa específica para amostra de hematita e quartzo .. 45
Tabela V-2– Composição química das amostras de hematita e quartzo 45
Tabela V-3– Resultado curva de crescimento *M. phlei*. 47
Tabela V-4 – Resultados ensaios de sedimentação de polpa de hematita 35% de sólidos 49

RESUMO

Vários microorganismos tem sido estudados nas rotas de flotação, sedimentação e filtragem para diversos minerais, obtendo resultados positivos. Estudos apontam a *Mycobacterium phlei* como agente floculante e coletor em potencial para a hematita. O objetivo deste trabalho é estudar a influência da adição da bactéria *Mycobacterium phlei* (ATCC 11758) sobre a sedimentação e filtragem dos minerais hematita e quartzo. A amostra de hematita é proveniente do Quadrilátero ferrífero (MG) e apresenta a hematita (Fe_2O_3), como fase mineralógica predominante. A amostra de quartzo é proveniente do município de Jaboticatubas (MG) e apresenta alta pureza (99,63% de SiO_2). Foram realizados testes de sedimentação em proveta de 250mL e ensaios de filtragem utilizando montagem, com funil de Büchner, conectado a um sistema balança/computador. Todos os ensaios foram realizados em laboratório. Os resultados indicaram que:

a) Nos ensaios de sedimentação para a amostra de hematita:
   - na ausência da bactéria, os valores de turbidez mais baixos e os valores de velocidade de sedimentação (Vs) mais altos foram obtidos em valores de pH próximos ao ponto de carga zero;
   - a adição de *M. phlei* (1000ppm) desestabilizou o sistema promovendo a agregação das partículas, uma vez que houve acréscimo no valor de Vs, para todos os valores de pH (exceto pH = 7), como também decréscimo na turbidez do sobrenadante para todos os valores de pH (exceto no pH 8);

b) Nos ensaios de filtragem, para amostra de hematita:
   - na ausência da bactéria, os menores tempos de formação de torta, de umidade final e de resistência específica de torta foram observados nas proximidades do PCZ (pH= 6,7);
   - a adição da bactéria (1000ppm a 2810ppm de *M. phlei*) aumentou a filtrabilidade da polpa através da agregação das partículas de hematita. Este resultado é evidenciado pela diminuição do tempo de formação de torta, da resistência de torta e da % de sólidos no filtrado, em toda a faixa de pH testada.

- Na presença de 2810ppm de *M. phlei* os valores de resistência de torta decresceram significativamente para toda faixa de pH, sendo que no pH 10 ocorreu um decréscimo de 90% na resistência da torta comparando-se com o respectivo valor na ausência da bactéria;

c) Não há resultados dos ensaios de sedimentação com amostra de quartzo, uma vez não foi possível visualizar a interface em nenhuma faixa de pH e % de sólidos estudados;

d) Os ensaios de filtragem da amostra de quartzo não foram positivos quanto à adição da *M. phlei*, uma vez que não foi observada variação significativa em nenhuma das variáveis estudadas.

ABSTRACT

Several microorganisms have been studied in flotation, sedimentation and filtration processes for several minerals, with positive results. Studies show *Mycobacterium phlei* as flocculant agent and potential collector for hematite. The objective of this work is to study the influence of the addition of the bacteria *Mycobacterium phlei* (ATCC 11758) upon sedimentation and filtration of the minerals hematite and quartz. The sample of hematite comes from Quadrilátero Ferrifero in Minas Gerais and has hematite (Fe_2O_3) as its main mineralogical phase. The quartz sample comes from the town Jaboticatubas (MG) and presents high purity (99.63% of SiO_2). Sedimentation tests were done in 250ml graduated vessels and filtration experiments using a Buchner funnel connected to a scale/computer system. All the assays were performed in a laboratory. Results indicated that:

a) In the sedimentation assays for hematite:
   - without the bacteria, the lowest turbidity values and the highest values of sedimentation rate were obtained for pH values near the zero charge point.
   - the addition of *M. phlei* (1000ppm) caused instability in the system, generating particle aggregation, since there was an increase in the Vs value for all pH values (except pH 7), as well as decrease of the supernatant turbidity for all pH values (except pH 8).

b) In the filtration assays for hematite:
   - without the bacteria, the lowest times of cake formation, final moisture and specific resistance of the cake were observed near PCZ (pH=6.7).
   - the addition of the bacteria (1000ppm to 2810ppm of *M. phlei*) increased the filtration rate of the slurry due to the aggregation of the hematite particles. It is evident from this result the decrease in the cake formation time, cake resistance and solids percent in the filtrate, in the pH range tested.
   - in the presence of 2810ppm of *M. phlei* the cake resistance values decreased significantly for all the pH range, and in pH 10, there was a 90% decrease in the cake resistance comparing to the value without bacterial presence.

c) There are no results for the sedimentation assays with quartz samples, since it was not possible to visualize the interface in any pH range and solids percent studied.
d) The filtration assays for the quartz samples were not positive as to the addition of *M. phlei*, since no significant variation was observed in any of the variables studied.

1. INTRODUÇÃO

A separação sólido/líquido é uma etapa importante e, às vezes crítica, nas usinas de processamento mineral. Apresenta normalmente alto consumo energético. No caso dos minérios de ferro processados no Quadrilátero Ferrífero (MG) o consumo energético na separação sólido líquido apresenta valores entre 15 a 40% do total. As operações de separação sólido/líquido estão usualmente relacionadas com a: recuperação/recirculação de água; preparação de polpas com porcentagem de sólidos adequadas às etapas subseqüentes: desaguamento final de concentrados; e preparação de rejeitos para descarte (VALADÃO, 2004).

A agregação de polpas, principalmente àquelas que estejam em granulometria muito fina ou que contenham parcelas significativas de material fino é quase sempre desejável ou mesmo essencial, nos processos de espessamento e filtragem. A agregação de polpas pode ser obtida pela adição de agentes coagulantes (sais solúveis de Al^{3+}, Fe^{2+} e Ca^{2+}) e/ou floculantes (polímeros orgânicos, naturais ou sintéticos) (VALADÃO, 2004).

A adição de reagentes representa uma parte significativa dos custos das operações de espessamento e filtragem. No caso do minério de ferro, por exemplo, estima-se que para uma produção de 7 milhões t/ano, o custo anual com floculante – normalmente poliacrilamidas fracamente aniônicas – é da ordem de US$250mil, considerando-se baixas dosagens (10g/t) e um custo unitário médio de US$ 3.50/kg.

A utilização de microrganismos em substituição a reagentes químicos em processos físicos e químicos de obtenção e purificação de materiais é uma possível alternativa na busca por processos industriais mais econômicos e que causem menor impacto ambiental. Na hidrometalurgia, por exemplo, certos microrganismos são utilizados em processos de biolixiviação de minérios sulfetados, desde a década de 60, substituindo total ou parcialmente reagentes químicos (BOSECKER, 1997). Os microrganismos apresentam também utilização amplamente difundida nos processo de tratamento de efluentes líquidos e sólidos de origem sanitária (TORTORA *et al.*, 2000).

Trabalhos mais recentes mostram que os microrganismos e/ou seus metabolitos podem atuar como agentes coletores e agregantes para uma vasta gama de minerais (DUBEL *et al.*, 1992; MISRA *et al.*, 1993 a,b; SMITH, *et al.*, 1993; RAICHUR *et al.*, 1996; HAAS & SCHNEIDER, 1998; DEO & NATAJARAN, 1998; ZHENG *et al.*, 2000; MESQUITA, 2000; SOMASUNDARAN *et al.*, 2005). Podem ainda atuar como agentes modificadores deprimindo ou ativando a superfície mineral antes da flotação com um coletor tradicional (MISRA, *et al.* 1996; ZHENG *et al.*, 2001; CHANDRAPRABHA *et al.,* 2005).

Estudos apontam a *Mycobacterium phlei* como agente agregante e coletor em potencial para hematita e combustíveis fósseis (DUBEL *et al.*, 1992; MISRA *et al.*, 1993; RAICHUR *et al.*, 1996). A *M. phlei* apresenta carga de superfície altamente negativa para toda faixa de pH com ponto isoelétrico em pH 2,0 a 2,5. Também é relatado que a *M. phlei*, apresenta alta hidrofobicidade com ângulo de contato da ordem de 70º (RAICHUR *et al.*, 1996).

As bactérias encontram-se naturalmente difundidas na natureza e podem multiplicar-se rapidamente quando cultivadas em meios de cultura específicos. A *M. phlei*, por exemplo, pode ser encontrada em vegetação de pastagem e apresenta tempo de geração de cerca de 8h, sendo que a dosagem indicada para a *M. phlei* nos ensaios de floculação com finos de hematita (<20 μm) é de cerca de 10mg de microrganismo por kg de amostra (DUBEL *et al.*, 1992).

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é verificar, em laboratório, para amostra de hematita e de quartzo, a influência da adição da bactéria *M. phlei* (ATCC 11758):

a) nas variáveis de sedimentação:
   - velocidade de sedimentação (Vs);
   - turbidez do sobrenadante proveniente do ensaios de sedimentação;

b) nas variáveis de filtragem:
   - características da torta (tempo de formação, resistência específica, permeabilidade e umidade final);
   - % sólidos no filtrado.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Principais Características dos Microrganismos

Os microrganismos são minúsculos seres vivos, individualmente muito pequenos para serem observados a olho nu. O grupo inclui as bactérias, fungos, protozoários, algas e os vírus. Estes têm papel fundamental na cadeia alimentar, sobretudo na degradação de matéria orgânica e na fixação de nitrogênio no solo, fornecendo nutrientes para o crescimento das plantas.

As bactérias são organismos unicelulares, procarióticos, ou seja, cujo material genético não está envolto por uma membrana nuclear. Estão amplamente distribuídas na natureza, podendo ser encontradas desde as regiões de maior altitudes, em sedimentos no fundo do mar e até na superfície e interior do corpo de organismos mais desenvolvidos, constituindo-se da microbiota autóctone ou indígena. Podem apresentar vários formatos: bacilos (em forma de bastão), cocos (forma esférica ou ovalada) e espirilos (forma retorcida ou encurvada).

Do ponto de vista nutricional, muitas bactérias, como a *M. phlei*, por exemplo, são classificados como quimio-heterótrofas, ou seja, dependem de reações de oxi-redução de compostos orgânicos ou inorgânicos para obtenção de energia (quimiotróficos) e utilizam substâncias orgânicas como fonte de carbono (heterótrofos ou organotróficos). *Acidithiobacillus ferrooxidans*, por outro lado, é uma bactéria quimioautotrófica, ou seja, utiliza os elétrons de compostos inorgânicos reduzidos como fonte de energia (Fe^{+2} e S^0), e CO_2 como fonte de carbono.

As bactérias realizam a biossíntese de carboidratos, lipídeos, aminoácidos, purinas e piridimas. O mais importante papel dos lipídeos é como componente estrutural das membranas biológicas, e a maioria dos lipídeos de membranas são fosfolipídios (figura 3.1). A estrutura do fosfolipídio compreende uma molécula de glicerol ligada covalentemente a dois ácidos graxos de cadeia longa saturada ou insaturada e no lugar

de um terceiro ácido graxo apresenta um grupo fosfato o qual é ligado a outro grupo orgânico R (Figura 3.1-a). Os fosfolipídios são essenciais à sobrevivência das células. Possuem regiões polares (cabeça) e apolares (cauda) (Figura 3.1-b). Quando imersas em meio aquoso as moléculas de fosfolipídio se orientam de tal modo que as porções polares (hidrofílicas) ficam voltadas para a água, com as quais formam pontes de hidrogênio, e as porções apolares (hidrofóbicas) fazem contato com outras porções apolares de moléculas vizinhas formando uma camada dupla (Figura 3.1-c). Os fosfolipídios, dessa forma permitem que a membrana atue como uma barreira que separa o conteúdo da célula do ambiente aquoso. São úteis também para identificar certas bactérias, como por exemplo, a *Mycobacterium phlei*, a qual contém lipídeos complexos, como ceras e glicolipídeos que conferem características distintas de coloração e também são responsáveis pela alta hidrofobicidade dessa bactéria permitindo a utilização da mesma como agente floculante e coletor para a hematita, por exemplo, (DUBEL *et al.*, 1992).

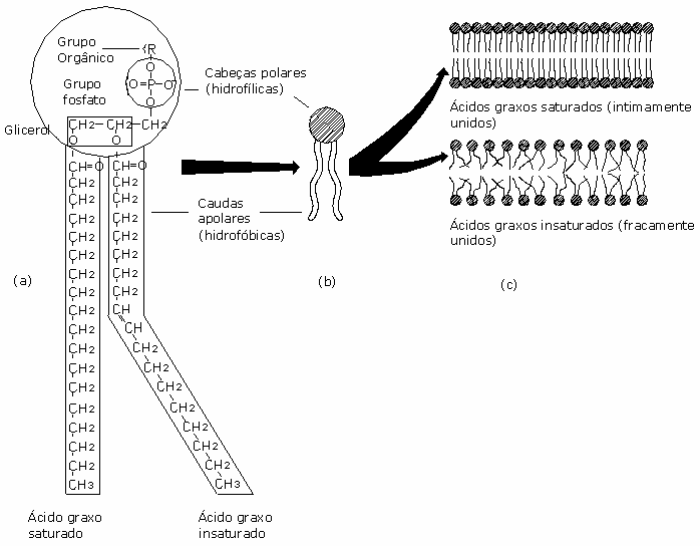
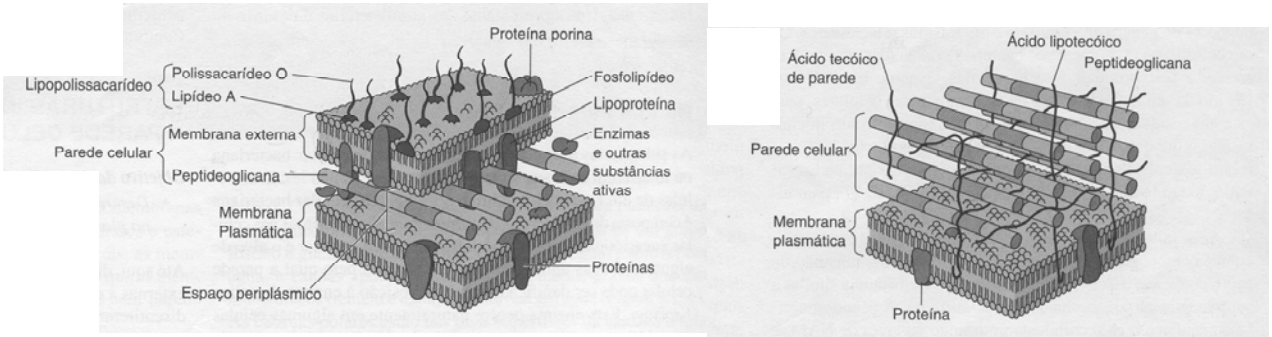


Figura 3.1 – Estrutura e orientação dos fosfolipídeos (TORTORA et al., 2000).

A composição da parede celular distingue as bactérias em gram-positivas, gram-negativas (Figura 3.2) e em ácido-resistentes. A *M. phlei* é tida como gram-positiva e ácido-resistente.



a) b)

Figura 3.2 – Parede celular de bactérias gram-negativas (a) e gram-positivas (b) (TORTORA et al., 2000).

As bactérias gram-positivas apresentam na parede celular, muitas camadas de peptideoglicano (ou também denominado de mureína), formando uma estrutura espessa e rígida. A peptideoglicana é formada por unidades alternadas de carboidratos, N-acetilglicosamina e ácido N-acetilmurâmico unidos por ligações β-1,4 (figura 3.3).

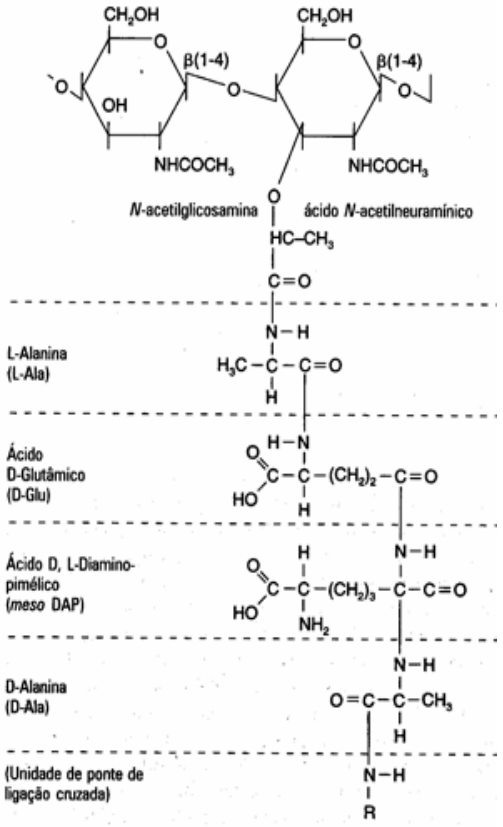


Figura 3.3 – Estrutura da unidade repetitiva da peptideoglicana de *E. coli* (KONEMAN et al., 2001).

Tetrapeptídeos curtos, geralmente compostos por cadeias curtas e idênticas de D e L aminoácidos, encontram-se unidos aos resíduos do ácido N-acetilmurâmico, por meio de uma ligação peptídica com o grupo lactil do carbono três. Estas cadeias curtas contêm aminoácidos incomuns, incluindo isômeros D de ácido glutâmico e alanina (bactérias gram-positivas) e ácido meso-diaminopimélico (bactérias gram-negativas). Além disso, a parede das bactérias gram-positivas contém ácidos teicóicos e lipoteicóico, que consistem primariamente de um álcool (como o glicerol e o ribitol) e fosfato. Os ácidos teicóicos estabilizam a parede celular, mantêm a associação da parede com a membrana celular, formando quelatos com pequenos íons e participam na interação celular e na aderência à mucosa ou a outras superfícies (KONEMAN *et al.*, 2001)

A parede celular das gram-negativas consiste de uma ou algumas camadas de peptideoglicana e uma membrana externa. Nas células gram-negativas, a peptideoglicana está ligada a lipoproteínas (lipídeos ligados covalentemente a proteínas) na membrana externa e está no espaço periplástico, uma porção entre a membrana externa e a membrana plasmática. A membrana externa consiste de lipoproteínas, lipopolissacarídeos (LPS) e fosfolipídios. A parede celular das gram-negativas não contém ácidos teicóicos (TORTORA et al., 2000).

3.1.1. Quantificação do Crescimento Microbiano

Crescimento microbiano é definido como o aumento do número de células microbianas em uma população. O número de células pode ser medido em termos da concentração celular ou da densidade celular. A concentração celular é a medida do número de células vivas por unidade de volume (UFC/mL = unidades formadoras de colônia por mL), enquanto que a densidade celular é definida como o peso seco (desidratado) das células por unidade de volume.

A determinação da concentração celular é realizada usualmente inoculando-se uma alíquota de volume conhecido (usualmente 100µl) em uma placa de petri contendo meio de cultura específico para o crescimento do microrganismo. Depois de inoculadas as

placas são mantidas na temperatura ideal para o crescimento do microrganismo, durante todo o período de incubação. Após este período as colônias presentes em cada placa são contadas e a concentração celular é quantificada por UFC/mL = nº de colônias presentes x diluição da alíquota. Nesta metodologia normalmente é necessária a diluição sucessiva da alíquota inicial para plaqueamento, uma vez que somente as placas contendo entre 30 e 300 colônias podem ser utilizadas para o cálculo da UFC/mL (Figura 3.4).

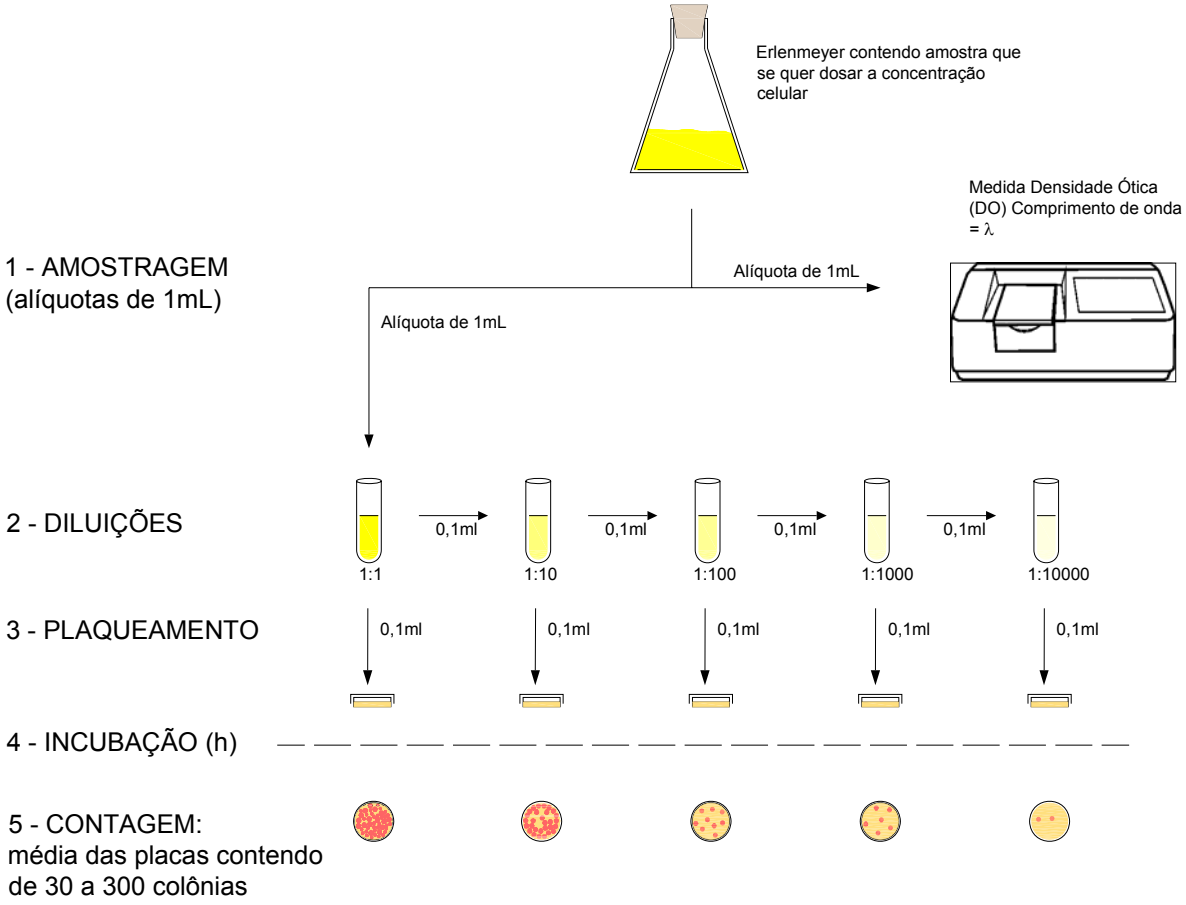


Figura 3.4 – Metodologia de quantificação de UFC/mL.

Como esta metodologia é trabalhosa, o recurso habitual consiste em medir a absorção ou dispersão da luz através de uma cultura em meio líquido, com o auxílio de equipamentos fotoelétricos (espectrofotômetros). Relacionando-se a leitura da densidade ótica com a medida de UFC/mL pode-se construir uma curva padrão de

crescimento, de modo que todas as medidas subseqüentes de densidade ótica possam ser convertidas em UFC/mL.

3.1.2. Curva de Crescimento

Com os dados provenientes da quantificação da UFC/mL, tomados ao longo do tempo de uma mesma amostra mantida em condições constantes, pode-se uma traçar a curva de crescimento de um determinado microrganismo. Uma curva de crescimento bacteriana típica é apresentada na figura 3.5. A curva de crescimento é caracterizada pela variação da taxa de crescimento microbiano ao longo do tempo.

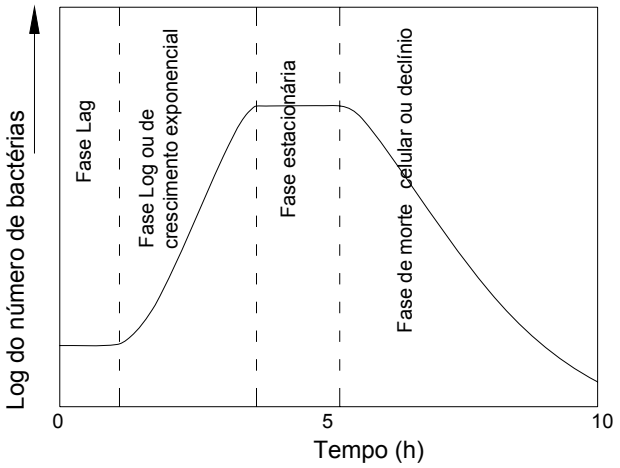


Figura 3.5 – Curva de crescimento bacteriano típica mostrando as 4 fases típicas de crescimento (TORTORA et al., 2000).

A taxa de crescimento é definida como variação do número de células por unidade de tempo. Devido à variação da taxa de crescimento microbiano ao longo do tempo a curva de crescimento pode ser dividida em diferentes fases: fase lag; fase log ou exponencial; fase estacionária e fase de declínio ou morte celular.

A fase lag corresponde ao período de tempo em que o número de células sofre pequenas variações, devido ao fato que as bactérias não se reproduzem imediatamente após a inoculação. A fase log ou de crescimento exponencial corresponde ao período em as células iniciam seu processo de divisão atingindo um tempo de geração constante. É o período de maior atividade metabólica da célula e, portanto, o estágio preferido para fins industriais. Na fase estacionária, o número de indivíduos que morrem é equivalente

ao número de células novas e a população se torna estável. A fase de morte celular ou fase de declínio corresponde ao período em que o número de mortes excede o numero de células novas, até existir uma fração ínfima do original e a população desaparece totalmente. Algumas espécies completam este ciclo de 4 fases em poucos dias, outras, no entanto, podem permanecer com poucas células viáveis indefinidamente (TORTORA *et al.*, 2000).

Algumas espécies bacterianas com tempo de geração de 20 min, como a *E. coli*, por exemplo, após 20 gerações (~7h) apresenta população com cerca de 1 bilhão de indivíduos.

3.1.3. Cálculo da Taxa de Crescimento

Sabe-se que o crescimento microbiano na fase exponencial ocorre em progressão geométrica, de base 2, podendo ser expressa pela equação:

$$N = N_o 2^n \qquad (3.1)$$

onde:

N= número de células no tempo t;

No= número de células no tempo to;

n= número de gerações formadas durante o período de crescimento exponencial.

O tempo de geração g da população celular é calculado pela equação:

$$g = t / n \qquad (3.2)$$

onde:

t = tempo em horas ou minutos em que a cultura apresentou uma taxa de crescimento exponencial.

Dessa forma conhecendo-se os parâmetros N, N_o na fase de crescimento exponencial é possível calcular n e, a partir de n e do tempo t , o tempo de geração g (MURRAY et al., 1980)

A eq 3.1. ainda pode ser escrita em termos de n:

$$\log N = \log N_o + n \log 2$$
$$n = 3{,}3 * (\log N - \log N_o) \qquad (3.3)$$

Outro índice relacionado à taxa de crescimento é a constante de taxa de crescimento, k. Esta constante é uma medida do número de gerações formadas, por unidade de tempo e pode ser expressa pela equação:

$$k = \frac{\ln 2}{g} \qquad (3.4)$$

MURRAY, et al. (1980) relacionaram o valor da constante k com as diferentes fases de crescimento bacteriano como pode ser verificado na tabela III-1 e na figura 3.6.

Tabela III-1 – Fases da curva de crescimento bacteriano

Seção da curva	Fase	Taxa de crescimento
A	Demora	Zero
B	Aceleração	Crescente
C	Exponencial	Constante
D	Retardamento	Decrescente
E	Estacionária máxima	Zero
F	Declínio	Negativa (morte)

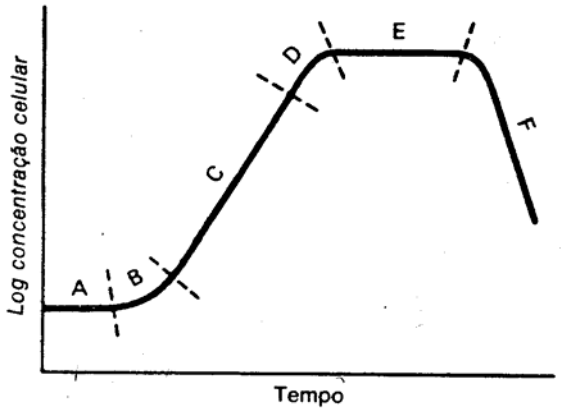


Figura 3.6 – Curva de crescimento bacteriano típica com seções (MURRAY et al., 1980)

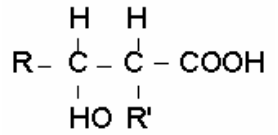
3.2. Mycobacterium phlei

A *M. phlei* foi isolada por Moeller em 1898, em vegetação de pastagem. É um microrganismo gram-positivo, aeróbio, saprófito e álcool ácido resistente. Aparece na forma de coco-bacilo (cerca de 1μm de diâmetro) ou bastonetes (1-1,5 μm de diâmetro e 5μm de comprimento) dependendo das condições de cultivo. Em meio Lowenstein medium base após 2 a 5 dias de incubação apresenta colônias com coloração amarelo-escuro a laranja, de textura áspera e enrugadas como pode ser visto na figura 3.7.

Figura 3.7 – *M. phlei* em Löwenstein-Jensen medium depois de 1 semana de incubação a 37 °C, em condições aeróbicas.(ASSIS, 2005)

A *M. phlei* possui carga de superfície altamente negativa e elevada hidrofobicidade (ângulo de contato 68º). Por estas características a *M. phlei* tem sido estudada apresentando bons resultados como agente agregante e coletor para hematita e combustíveis fósseis (DUBEL *et al.*, 1992; MISRA *et al.*, 1993a,b; SMITH *et al.*, 1993; RAICHUR *et al.*, 1996).

A alta hidrofobicidade é atribuída ao elevado conteúdo de lipídeos presentes em sua na parede celular. O elevado conteúdo de lipídeos confere outra propriedade a *M. phlei*: a ácido-resistência. A ácido-resistência é observada nas bactérias pertencentes aos gêneros *Mycobacterium, Nocardia e Corynebacterium* (KONEMAN, 2001). Nestas bactérias os lipídeos são responsáveis por cerca de 60% do peso seco da parede celular, a qual possui moléculas denominadas ácidos micólicos. Estes são ácidos graxos complexos, β-hidroxilados, isto é, com um grupo hidroxila no segundo carbono e α-substituídos (com um radical orgânico no primeiro carbono). A estrutura dos ácidos micólicos é apresentada na equação 3.5:



(3.5)

Onde R'=$C_{22}H_{45}$ e R~ $C_{60}O_{1\ a\ 2}$

O tipo de ácidos graxos presentes na parede da *M. phlei* é função do meio e da temperatura de crescimento (figura 3.8). Para um meio rico em açúcar e à temperatura de 35ºC, foi observado que os principais ácidos graxos presentes são o ácido palmítico, oléico, e tuberculoesteárico (SUUTARI & LAAKSO, 1992).

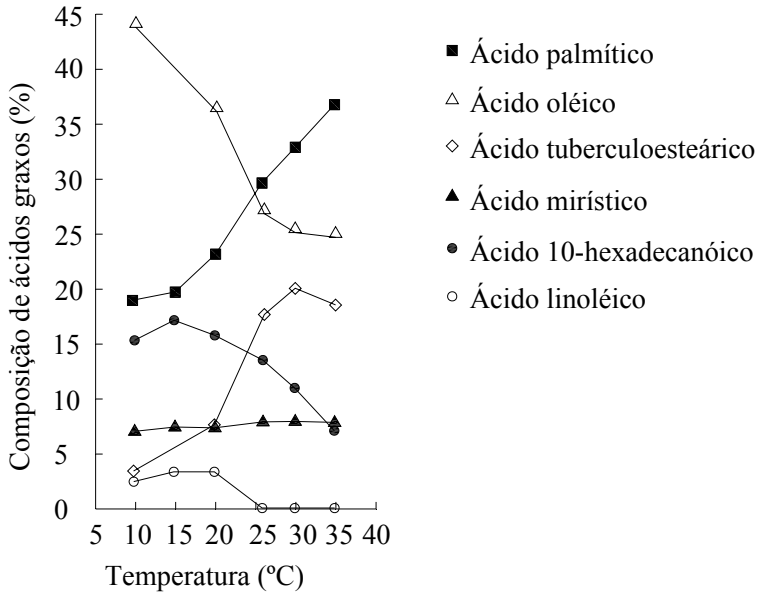


Figura 3.8 – Efeito da temperatura no tipo de ácido graxo presente na parede da *M. phlei* (SUUTARI & LAAKSO, 1992)

Os ácidos micólicos ocorrem como ésteres, unidos aos polissacarídeos da parede celular. Variam quanto ao número de átomos de carbono; aqueles com 30 carbonos (C_{30}) são encontrados entre as corinebactérias (ácidos corinemicolênicos), os com C_{50} são encontrados em espécies de *Nocardia* (ácidos nocardomicólicos) e aqueles com C_{90} ou mais constituem os ácidos micólicos observados nas micobactérias.

Como pode ser verificado na figura 3.9, a parede celular das micobactérias contém uma camada de peptideoglicana (4), cuja estrutura é similar à encontrada nas paredes das bactérias gram-positivas. O glicopeptídeo (com cadeia hidrocarbônica cujo

comprimento varia de C_{78} a C_{90}) está unido a um polissacarídeo de cadeia ramificada, denominado arabinogalactana (3), por meio de ligações fosfodiéster. As terminações distais da arabinogalactana estão esterificadas com ácido micólico (2) de elevado peso molecular. O complexo glicopeptídeo-ácido micólico-arabinogalactana forma o esqueleto da parede das micobactérias (8). Projetando-se através das camadas da parede glicopeptídeo, arabinogalactana e ácido micólico, são encontrados fosfolipídeos substituídos (7) e lipopolissacarídeos (6), que estão unidos à camada mais externa da célula micobacteriana,.

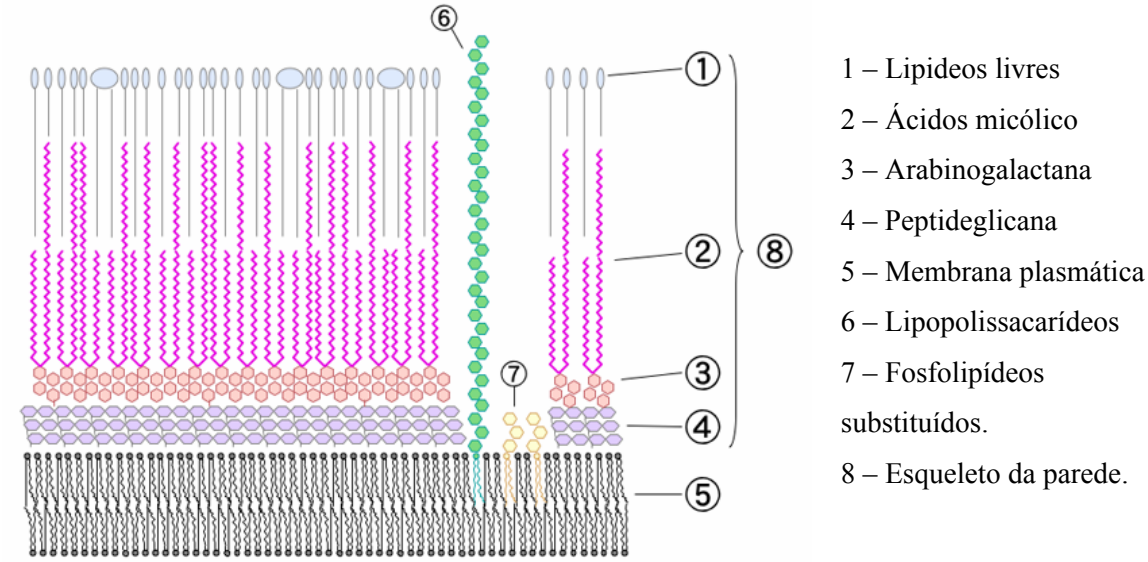


Figura 3.9 – Esquema da parede celular das micobactérias (www.wikipedia.org).

A coloração específica das bactérias ácido-resistentes é a Ziehl-Neelsen. Nesta coloração os esfregaços são corados em vermelho com o corante básico carbolfucsina. Devido ao caráter hidrofóbico da parede da célula micobacteriana, a penetração do corante na célula é favorecida pelo calor ou pela adição de detergente ao corante (método de coloração de Kinyoun). Em seguida o esfregaço é tratado com uma mistura de álcool (97%) e ácido clorídrico (3%), lavado novamente e tratado com azul de metileno. As bactérias ácido-resistentes retêm a cor vermelha da carbolfucsina e não se deixam descorar pela mistura de álcool-ácido. A resistência à descoloração com álcool-ácido (isto é, ácido-resistência) está associada às moléculas de ácido micólico-arabinogalactana, externas à camada glicopeptídica e que constituem a maior parte dos

materiais da parede. Por outro lado, as bactérias não ácido-resistentes se deixam descorar pela mistura de álcool-ácido e se coram pelo azul de metileno (KONEMAN *et al.*, 2001)

A carga altamente negativa da *M. phlei* para toda a faixa de pH, como pode ser observado na figura 3.10, é devida a grupos funcionais presentes na superfície celular. Análise de espectros de infravermelho têm mostrado a presença de alguns grupos funcionais na superfície bacteriana tais como R-COOH, R-NH_2, R-OH, R-$(CH_2)_n$-CH_3, R-CONH-R, $(RO)_2HO$-P=O e R-C-O-C-R (MISRA, *et al.*, 1993).

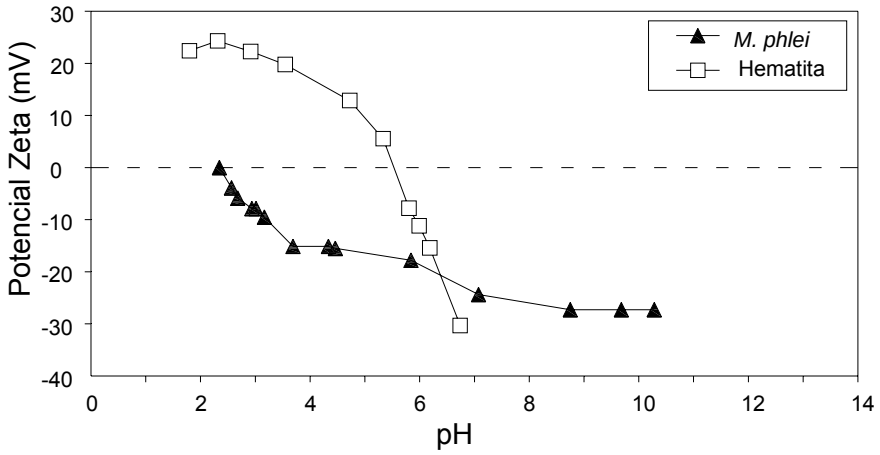


Figura 3.10 – Potencial zeta da *Mycobacterium phlei* e hematita como função do pH (DUBEL et al., 1992).

Na equação 3.6 é apresentada a fórmula geral de lipídeos livres que têm sido isolados da *M. phlei*, onde n=12,14 e m= 4-6

$$(CH_2)-(CH=CH-CH_2-CH_2)_m-COOH \qquad (3.6)$$

Como pode ser verificado na figura 3.11, no que diz respeito à curva de crescimento da *M. phlei,* BARDOUNIOTIS et al. (2001) determinaram o início da fase de crescimento exponencial após o segundo dia, quando a *M. phlei* foi cultivada em meio middlebrook 7H9 com enriquecimento ADC, à 37ºC e 110RPM

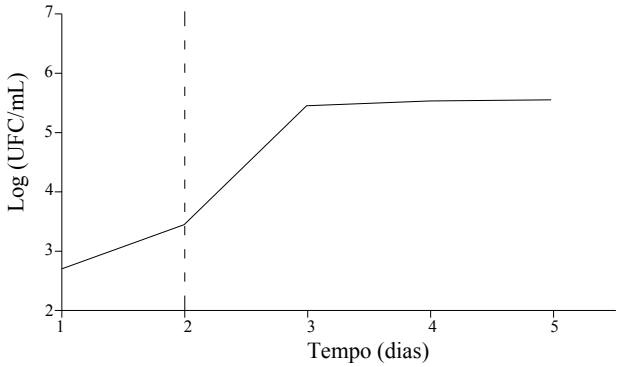


Figura 3.11 – Curva de crescimento da *Mycobacterium phlei* em meio middlebrook 7H9 com enriquecimento ADC, à 37ºC, 110RPM (BARDOUNIOTIS et al., 2001).

3.3. Utilização de Microrganismos em Processos Industriais

Certos microrganismos são utilizados industrialmente no processo de biolixiviação de minérios sulfetados desde a década de 60 (BOSECKER, 1997). Na indústria de alimentos e bebidas alcoólicas os microrganismos são utilizados tradicionalmente na fabricação de queijos, iogurtes, manteigas, bebidas lácteas fermentadas e bebidas alcoólicas, em geral. Além disso, têm utilização amplamente difundida em processos de biorremediação (TORTORA *et al.*, 2000)

O processo de biolixiviação baseia-se na utilização de microrganismos naturalmente presentes para solubilização de metais a partir de minerais sulfetados. *Acidithiobacillus ferrooxidans* é o microrganismo mais estudado na solubilização de minérios sulfetados contendo cobre, zinco e ouro. Apresenta-se sob a forma de bastonetes (0.5-1.5 μm). É um microrganismo gram-negativo, móvel, não formador de esporos. Apresenta tempo de geração 8 h, é mesófila crescendo na temperatura de 25-30ºC, e pH 1-5, com pH ótimo 2-2.5. Possui potencial de redox em condições ótimas 750-850 mV, e está naturalmente presente em locais ricos em Fe^{2+} e S^0 em condições ácidas, como depósitos de sulfetos associados a pirita, calcopirita, arsenopirita e outros sulfetos ferrosos. Encontra-se naturalmente associada a outras bactérias como a *A. thiooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans.* O processo de biolixiviação pode ser feito industrialmente pelos métodos: “dump leaching”, “heap leaching”, “underground leaching” e “tank leaching”. O mecanismo de biolixiviação pode ser: direto ou indireto (BOSECKER,

1997). No primeiro caso, os microrganismos oxidarão diretamente os minerais e solubilizarão os metais. No caso indireto os íons Fe^{3+} agem como agentes oxidantes para os minerais e o papel dos microorganismos é simplesmente regenerar os íons Fe^{3+} a partir de íons Fe^{2+}(SUZUKI, 2001).

O uso de microrganismos para detoxificar ou degradar poluentes é denominado biorremediação. A biorremediação tem sua utilização amplamente difundida no tratamento de resíduos líquidos e sólidos de origem sanitária (TORTORA *et al.*, 2000), e grande potencial de utilização futura no tratamento de efluentes industriais, contendo principalmente metais pesados como poluentes (HATZIKIOSEYIAN *et al.*, 2001; HAYASHI *et al.*, 2001; MULLIGAN *et al.*, 2001).

HATZIKIOSEYIAN *et al.* (2001) estudaram diferentes espécies de bactérias na bioredução de Cr(VI) a Cr(III) em águas de rejeito de plantas eletroquímicas presentes em uma área do México. As bactérias utilizadas foram: *Bacillus sp.,* isolada no próprio local da contaminação, e a outra *Paenibacillus longisporus*. Ao contrário do Cr(III), o Cr(VI) é considerado tóxico em ambientes marinhos, com potenciais efeitos cancerígenos no homem. *Bacillus sp* reduziu 42,20% do Cr(VI) presente a Cr(III) depois de 24h em pH 2,0. HAYASHI *et al.*(2001) também utilizaram 3 espécies de algas isoladas na costa brasileira para biosorção de Cr(VI) de soluções contendo Cr(III) e Cr(VI). Dentre as espécies testadas, *Sargassum sp.* sorveu 45,0mg/g de Cr(VI), a *Ulva lactuta* sorveu 2,5mg/g, enquanto que *Galaxaura sp*. não apresentou resultado positivo para a sorção de Cr(VI). MULLIGAN, *et al.* (2001) utilizaram biosurfatantes produzidos por três espécies de bactérias – *Bacillus subtillis, Pseudomas aeruginosa e Torulopsis bombicola*- para remoção de Cu e Zn de sedimentos de um canal onde eram descartados rejeitos industriais. O surfatante produzido por *Pseudomas aeruginosa* removeu 65% do Cu contido enquanto que aquele produzido pela *Torulopsis bombicola* removeu 60% do zinco contido no sedimento. O mecanismo de remoção do metal pelo biosurfatante, segundo os autores, ocorre através de sorção do surfatante na superfície do solo e a complexação com o metal.

3.4. Sedimentação

De acordo com o Sumário Mineral de 2004, a produção brasileira de minério de ferro em 2003 atingiu 234,5 milhões de toneladas, o que corresponde a 20% da produção mundial. Essa produção está dividida entre 31 empresas que operaram 48 minas (todas a céu aberto) e utilizaram 37 usinas de beneficiamento.

As etapas de separação sólido líquido normalmente empregadas no beneficiamento do minério de ferro são: espessamento, (espessadores convencionais ou de alta capacidade) e filtragem (filtros contínuos a vácuo e de pressão). A agregação de polpas, principalmente aquelas que estejam em granulometria muito fina ou que contenham parcelas significativas de material fino, é quase sempre desejável ou mesmo essencial, nos processo de sedimentação e filtragem. A agregação de polpas pode ser obtida pela adição de agentes coagulantes (sais solúveis de Al^{3+}, Fe^{2+} e Ca^{2+}) e/ou floculantes (polímeros orgânicos, naturais ou sintéticos) (VALADÃO, 2004).

A adição de reagentes pode representar uma parte significativamente dos custos das operações de espessamento e filtragem. No caso do minério de ferro o floculante utilizado é a poliacrilamida fracamente aniônica. As poliacrilamidas são polímeros sintéticos introduzidos na indústria mineral na década de 60 e utilizados na floculação de polpas. Apresentam como principal vantagem à possibilidade de manipulação de sua estrutura química e composição conforme a necessidade. A desvantagem da utilização das poliacrilamidas nas operações de filtragem e espessamento reside no fato que por se tratarem de reagentes químicos industriais apresentam alto custo de aquisição.

A determinação do tipo de reagente a ser utilizado bem como as dosagens adequadas são obtidas de maneira empírica não existindo uma sistemática padronizada. Na tabela III-2 são apresentados os principais coagulantes e floculantes mais comumente empregados na indústria mineral. Deve-se observar que os coagulantes são preparados normalmente em soluções de concentrações entre 5 a 10% e os floculantes em 0.5%.

Testes de sedimentação em proveta e testes de filtragem (‘leaf test’), realizados em laboratório, são utilizados para a determinação das dosagens adequadas de reagentes a serem utilizados nas etapas industriais de espessamento e filtragem. Nos testes de sedimentação em proveta de 1 ou 2L, observa-se a movimentação da interface, formada entre o líquido clarificado e os sólidos em sedimentação, em função do tempo. A curva de sedimentação é obtida, neste caso, por meio de um gráfico de altura da interface em função do tempo (figura 3.12).

Tabela III.2 –Coagulantes e floculantes mais comuns (VALADÃO, 2004).

Nome	Concentração (mg/l)	Faixa de pH	Faixa ótima pH
Floculantes			
Poliacrilamida não iônica	1 – 30	0 – 12	
Poliacrilamida aniônica	1 – 30	5 – 11	
Poliacrilamida catiônica	1 – 30	4 – 12	5 – 9
Óxido de polietileno	1 – 100	3 – 11	
Amido	5 – 200	2 – 10	
Coagulantes			
Cal	500 – 2000	5 – 13	10 – 12
Sulfato de alumínio	15	5 – 8	6
Sulfato férrico	5 – 150	4 – 8	5.6
Sulfato ferroso	200	> 9.5	

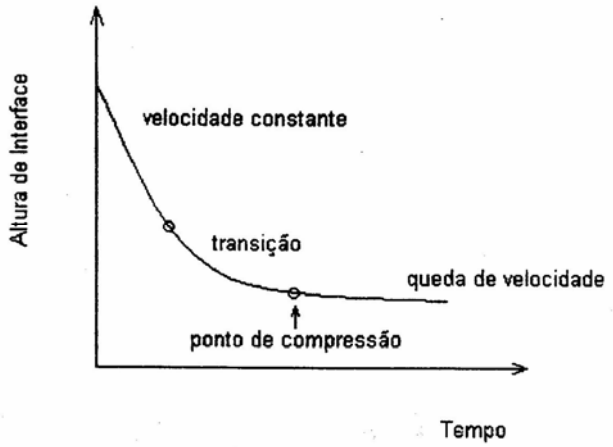


Figura 3.12 – Curva de Sedimentação (VALADÃO, 2004)

A curva de sedimentação apresenta, em geral, três seções como pode ser visto na figura 3.12 acima: seção de velocidade constante, seção de transição e seção de queda de velocidade (compressão). Quando se determina a velocidade de sedimentação de uma polpa (inclinação desta curva) considera-se, na realidade, somente a primeira seção. Nos métodos de dimensionamento a identificação destes limites é fundamental. Esta determinação é realizada de forma quase subjetiva através dos gráficos: log H em função de log t, log ($H–H_{infinito}$) em função de t (gráfico de Roberts), log [($H–H_{infinito}$)/t] em função de log t. Considerando-se H como a altura de interface, $H_{infinito}$ com a altura de interface para um tempo muito grande, e t o tempo de sedimentação.

3.5. Filtragem

A filtragem é uma operação de separação sólido líquido, empregada nas usinas de processamento mineral, que se caracteriza pela passagem de uma polpa através de um meio poroso de tal forma que haja retenção do sólido e a passagem do líquido. É utilizada com o objetivo de retirada de água de concentrados e rejeitos finos (alternativa à barragem) e maximização da recuperação de espécies dissolvidas em processos hidrometalúrgicos.

O dimensionamento de filtros a vácuo é realizado através de ensaios de laboratório conhecidos como teste de folha (‘leaf test’) que utilizam montagem e procedimento

específicos, embora não haja padronização completa. São utilizadas normalmente montagens como as apresentadas nas figuras 3.13 e 3.14.

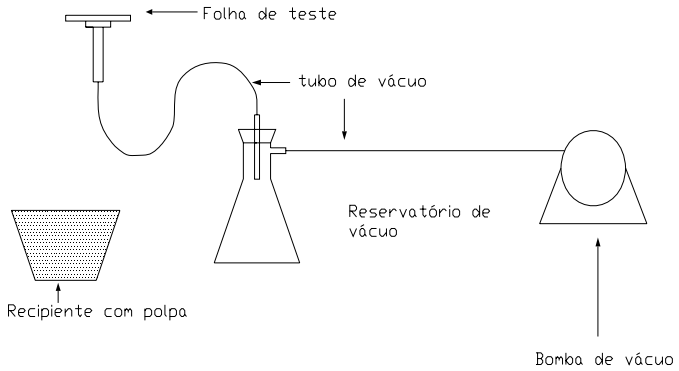


Figura 3.13 – Representação simplificada da montagem de teste de folha (VALADÃO, 2004).

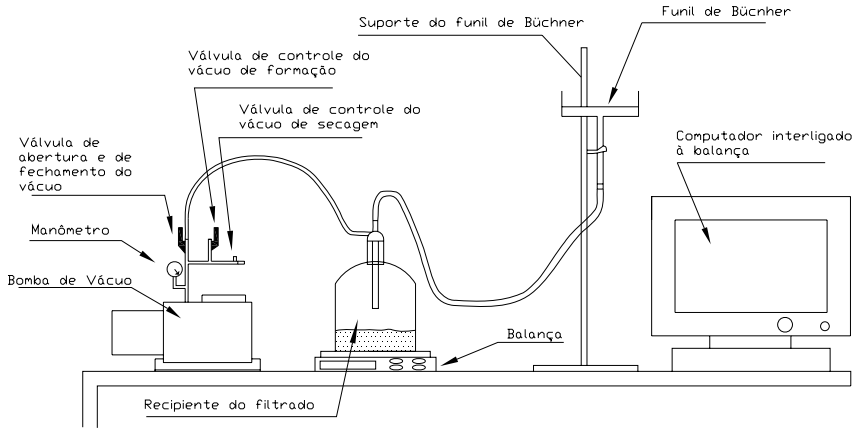


Figura 3.14 – Representação de montagem de teste de folha com controle de massa de filtrado por computador (VALADÃO, 2004).

Uma bomba de vácuo é conectada a um disco (folha) que dispõe de aberturas, que apresentam normalmente uma área de 92,9cm^2 (0,1pe^2) e que é coberto com um meio filtrante (papel de filtro) de modo a simular uma filtragem industrial. O teste, de maneira geral, pode ser feito de duas maneiras básicas: com alimentação da polpa por baixo ou por cima.

No primeiro caso, a folha é introduzida em um recipiente contendo uma polpa sob agitação (manual quase sempre) durante um tempo fixado acionando-se o vácuo destinado à formação da torta. Decorrido este prazo, a torta é retirada para pesagem (peso úmido), determinação da espessura, secagem e posterior pesagem (peso seco). Outros dados devem ser coletados: nível de vácuo (formação, secagem e lavagem); tempo destinado ás tarefas (formação, secagem e lavagem); volume ou massa de filtrado; fluxo de ar através da torta. Outras informações podem ser úteis como presença de sais dissolvidos no filtrado e de rachaduras na torta, além da temperatura da polpa. A determinação da umidade da torta, taxa unitária de filtragem e % de sólidos no filtrado é feita com base nos dados obtidos no teste.

No segundo caso, a folha dispõe de um anteparo que atua como recipiente para contenção da polpa que é alimentada por cima. Em algumas situações pode-se optar pela utilização do funil de Büchner conforme mostrado na figura 3.13. Neste caso, o tempo de formação de torta é um dado importante sendo considerado como aquele em que a torta pode ser visualizada sem a presença de líquido em sua superfície. De forma semelhante, a determinação da umidade da torta, taxa unitária de filtragem e % de sólidos no filtrado é feita com base nos dados obtidos no teste.

O procedimento para o dimensionamento de filtros a vácuo depende do tipo de filtro a ser considerado e por conseqüência do tipo de teste a ser realizado (alimentação por cima ou por baixo). O método estabelecido por Dahlstrom e Silverblatt ainda hoje é um dos mais utilizados. Este método envolve, basicamente, para o filtro de disco, a construção dos gráficos:

- massa de torta seca formada por unidade de área em função da espessura da torta;
- massa de torta seca formada por unidade de área em função do tempo de formação da torta;
- umidade da torta em função do fator de correlação.

Determina-se o ciclo de filtragem e a área necessária do filtro, a partir destes gráficos, de outros dados complementares e das condições estipuladas no projeto.

3.5.1. Tratamento Matemático dos Resultados de Filtragem

Segundo VALADÃO (2004), o tratamento matemático dos dados obtidos nos ensaios de filtragem, considera como ponto de partida o fluxo de um líquido através de um meio poroso (torta) não compressível, descrito por uma relação empírica conhecida como Lei de Darcy:

$$Q = \frac{K * \Delta P * A}{\mu * L} = \frac{\Delta P * A}{\mu * R} \qquad (3.7)$$

onde:

Q= fluxo do filtrado;

A = área transversal ao fluxo;

K = permeabilidade do leito (torta)

ΔP = diferença de pressão;

M = viscosidade do filtrado;

L = espessura do leito (torta);

R = L/K = resistência ao fluxo do filtrado.

Observa-se experimentalmente, que para líquidos puros existe uma variação linear entre o volume acumulado e o tempo. Sendo que, o valor de R é, na verdade, a soma de duas contribuições: aquela representada pela torta e aquela representada pelo meio, ou seja:

$$R = R_t + R_m \qquad (3.8)$$

onde:

R_t = resistência da torta;

R_m = resistência do meio filtrante.

Normalmente, considera-se $R_t >> R_m$, mas na abordagem mais moderna da filtragem, acredita-se que a interface torta/meio filtrante tem papel importante no controle da velocidade de filtragem. Considerando-se R_t como a parcela mais importante, pode-se escrever:

$$R_t = \alpha * W \qquad (3.9)$$

onde:

α = resistência específica da torta;

W = massa seca formada por unidade de área.

Logo substituindo as eq. 3.1.2.2 e 3.1.2.3 na eq 3.1.2.1 tem-se:

$$Q = \frac{\Delta P * A}{\mu * (\alpha * W + R_m)} \tag{3.10}$$

Para tortas compressíveis, onde há uma movimentação de sólidos em direção ao meio filtrante, pode-se considerar a resistência específica com um valor médio ou fazer uma correção na equação de Darcy, conforme mostrado abaixo:

$$q = (\frac{e}{1-e}) * r = \frac{K * \Delta P * A}{\mu * L} = \frac{\Delta P * A}{\mu(\alpha * W + R_m)} \tag{3.11}$$

onde:

q= velocidade do líquido;

r = velocidade superficial do sólido;

e = porosidade (fração de vazios).

Por outro lado, considerando-se tortas incompressíveis, a massa de torta formada por unidade de área é função do tempo para filtragem em bateladas e está relacionada ao volume acumulado de filtrado (V) relativo ao tempo t, ou seja:

$$Q = \frac{1}{A}\frac{dV}{dt} = \frac{K_d * \Delta P}{\mu * L} \tag{3.12}$$

ou:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{A * \Delta P}{\mu * (\alpha * W + R_m)} \tag{3.13}$$

onde:

K_d = constante que depende das características do leito e do fluido.

Mas sabe-se que:

$$W * A = c * V \tag{3.14}$$

onde:

c = concentração de sólidos expressa em massa de sólido/unidade de volume.

Considerando-se que a torta não é compressível tem-se:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{A * \Delta P}{(\alpha * \mu * c * V * A^{-1}) + (\mu * R_m)} \tag{3.15}$$

Fazendo-se:

$$\alpha * \mu * c = K_0 \tag{3.16}$$

$$\mu * R_m = K_1 \tag{3.17}$$

Tem-se:

$$\frac{dt}{dV} = \frac{K_0 * V}{A^2 * \Delta P} + \frac{K_1}{A * \Delta P} \tag{3.18}$$

Sendo ΔP constante e integrando-se de 0 a V chega-se a :

$$t = \frac{K_0 * V^2}{2 * A^2 * \Delta P} + \frac{K_1 * V}{A * \Delta P} \tag{3.19}$$

Sendo:

$$K_0^{'} = \frac{K_0}{2 * A^2 * \Delta P} \tag{3.20}$$

$$K_1^{'} = \frac{K_1}{A * \Delta P} \tag{3.21}$$

Tem-se que:

$$\frac{t}{V} = K_0^{'} * V + K_1^{'} \tag{3.22}$$

Logo um gráfico de t/V e função de V seria uma reta com inclinação K'_0 e intercepto K'_1, possibilitando a determinação de α e K.

O desempenho da operação de filtragem de polpas, portanto pode e deve ser medida pela resistência específica da torta, permeabilidade da torta e pelas demais variáveis de

filtragem. Dessa forma tais variáveis devem ser utilizadas para avaliar a eficácia e ou eficiência da filtragem pela adição de reagentes auxiliares de filtragem.

3.6. Utilização de Microrganismos em Biotratamento de Minerais

Vários estudos recentes apontam diferentes espécies de microrganismos como potenciais agentes agregantes, coletores e modificadores em substituição a reagentes químicos industriais, para uma ampla gama de minerais.

Como pode ser observado na tabela III-3, estudos apontam a *Mycobacterium phlei* como agente agregante e coletor em potencial para hematita e combustíveis fósseis. DUBEL et al (1992) estudaram a *M. phlei* como agente agregante e coletor para a hematita obtendo bons resultados. No ensaio de sedimentação em pipeta de Andreasen, uma polpa de hematita (-20μm) contendo 2% de sólidos foi testada na ausência e na presença da bactéria (10,2mg de *M. phlei* por kg de hematita).

Tabela III-3 – Estudos em biotratamento, com os respectivos microrganismos, tipo de ação e mineral ou sistema mineral estudado.

Autor(es), ano	Microrganismo	Ação	Mineral/ sistema mineral
Dubel *et al.*, 1992	*Mycobacterium phlei*	coletor e agregante	hematita
Misra *et al.*, 1993a	*Mycobacterium phlei*	coletor	hematita
Smith *et al.*, 1993	*Mycobacterium phlei*	coletor	hematita
Misra *et al.*, 1993b	*Mycobacterium phlei*	agregante	carvão
Misra *et al.*,1996	*Thiobacillus ferrooxidans* (reclassificada em *Acidithiobacillus ferrooxidans)*	depressor para pirita	sistema carvão/pirita
Raichur *et al.*, 1996	*Mycobacterium phlei*	agregante	carvão
Haas & Schneider, 1998.	*Corynebacterium xerosis*	agregante	fluorita
Deo & Natajaran, 1998	*Paenibacillus polymyxa*	Coletor para quartzo e caolinita; agregante para coríndon e hematita.	sistema hematita, quartzo, coríndon e caolinita
Zheng *et al.*, 2001	*Mycobacterium phlei e Bacillus subtilis*	depressor para dolomita	sistema dolomita/apatita
Somasundaran *et al.*, 2005.	*Paenibacillus polymyxa* NCIM 2539	agregante e hidrofilizante para calcita; coletor e hidrofobizante para quartzo	sistema calcita/quartzo
Chandraprabha *et al.*, 2005.	*Acidithiobacillus ferrooxidans*	depressor para pirita	sistema calcopirita/pirita/ arsenopirita

Verifica-se na figura 3.15-a, que a porcentagem de sólidos no sobrenadante, medida 10 cm abaixo na pipeta de Andreasen, foi reduzida de 2,0% para cerca de 0,15% após cerca de 4min na presença da *M. phlei*, enquanto que na ausência da bactéria a porcentagem de sólidos no sobrenadante, para o mesmo tempo, foi de cerca de 1,7%. Utilizando ensaios de filtragem, DUBEL *et al.*(1992), também constataram um aumento na filtrabilidade da hematita (100ml de uma polpa contendo 18% de sólidos) na presença da *M. phlei*. Após a interação com a *M. phlei* a filtrabilidade da hematita aumentou significativamente, reduzindo o tempo de filtragem em cerca de 62,5 % para obtenção do mesmo volume de filtrado.

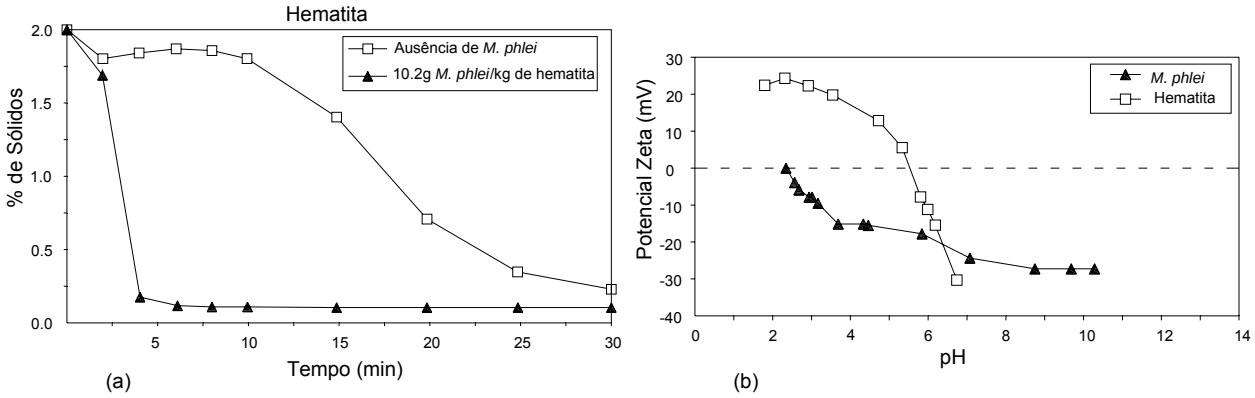


Figura 3.15 – (a) Sedimentação de suspensão de hematita 2% na presença e ausência de 10,2mg de *M. phlei*/kg sólidos. Porcentagem de sólidos medida 10cm abaixo na pipeta de Andreassen; (b) potencial zeta da *Mycobacterium phlei* e hematita como função do pH (DUBEL et al., 1992).

A adesão da *M. phlei* resultou, portanto na agregação das partículas finas de hematita, melhorando a sedimentação das partículas, como também diminuindo o tempo de retirada do filtrado através da torta. O processo de adesão da *M. phlei* à superfície da hematita é por interações hidrofóbicas, pois na faixa de pH 7, tanto a hematita quanto a bactéria encontram-se carregadas negativamente (figura3.13b).

RAICHUR *et al.*(1996), estudaram a *M. phlei* como agregante de duas amostras de carvão contendo como contaminantes pirita (2,34% em Illinois #6 e 2,10% em Kentuchy #9), minerais da rocha mãe e cinzas principalmente. Os resultados da

eficiência da agregação das duas amostras (-325 mesh), 200ppm de *M.phlei*, em função do pH são apresentados, na figura 3.16a.

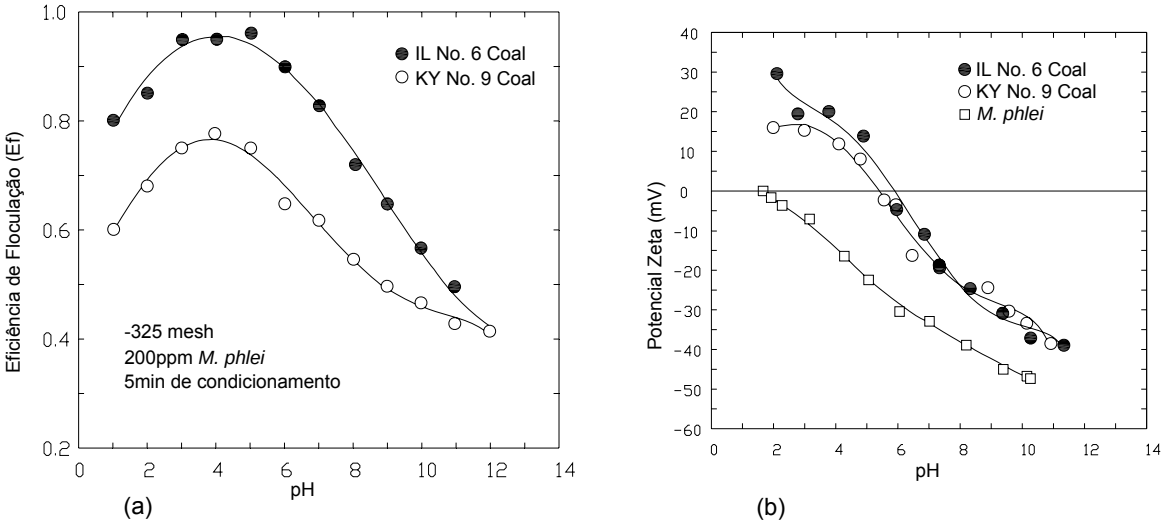


Figura 3.16 – (a) Eficiência de agregação de amostras de carvão em função do pH na presença de *M. phlei*; (b) potencial zeta para amostras de carvão e *M. phlei*, .em função do pH (RAICHUR et al., 1996).

A maior eficiência de agregação para ambas amostras, ocorre em pH 4. Os autores atribuem tal resultado a uma soma de interações hidrofóbicas e de interações de natureza eletrostática entre a bactéria e as partículas de carvão. Observando a figura 3.16b, no pH 4, a bactéria, segundo teoria dos autores, teria acumulado suficiente carga negativa para interagir de forma eletrostática com as partículas de carvão, que nesta faixa de pH, ainda estão carregadas positivamente. Os autores ainda atribuem a maior eficiência de agregação obtida com a amostra Illinois #6, devido ao menor conteúdo de cinzas (16,70% em Illinois #6 e 28,20% em Kentucky #9), e, portanto menor conteúdo de oxigênio o que a tornaria mais hidrofóbica do que a amostra Kentuchy #9.

HAAS & SCHNEIDER (1998) estudaram diferentes microrganismos (*Bacillus subtilis, Corynebacterium xerosis, Escherichia coli, Mycobacterium phlei* e *Pseudomonas aeruginosa*) na agregação de finos de fluorita (-38μm). Os ensaios de agregação foram realizados em aparelho "Jar-Test", contendo 1% de fluorita (massa/volume). A polpa foi agitada por um período de 10min, corrigiu-se o pH do meio e os microrganismos foram adicionados (40mg/L). Após interação com os microrganismos por 2 min em agitação

rápida, baixou-se a rotação para permitir a formação dos agregados por 2min. O tempo de sedimentação foi medido após a interrupção da agitação. A eficiência de agregação foi avaliada com base em análise visual da qualidade dos flocos formados por microscopia e a olho nu; turbidez residual (NTU) após 5 min de sedimentação e remoção de sólidos suspensos (SS) após 30s de sedimentação. A *C. xerosis* apresentou o melhor resultado com 94% de remoção de SS após 30s de sedimentação, ótima qualidade dos agregados e 20NTU de turbidez residual após alguns minutos. A *E. coli* apresentou baixa qualidade de flocos, 51% de remoção de SS e 49NTU de turbidez residual. Os demais microrganismos não apresentaram resultados positivos quanto à agregação.

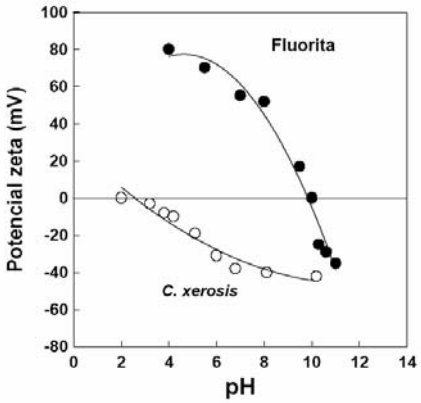


Figura 3.17 – Potencial zeta da fluorita e da *C. xerosis* em função do pH (HAAS & SCHNEIDER, 1998).

O mecanismo de interação entre a *C. xerosis* e as partículas de fluorita é atribuído a interações eletrostáticas já que na faixa de pH do teste (pH 7), o potencial zeta das partículas de fluorita é de aproximadamente +50mV, enquanto que para a *C. xerosis* é de aproximadamente -40mV (figura 3.17).

Embora a *M. phlei* apresente comportamento eletrocinético muito semelhante à *C. xerosis*, como pode ser observado comparando-se a curva de potencial dos dois microrganismos (figura 3.16b e 3.17), os resultados obtidos com a *M. phlei* foram quase nulos. Dessa forma, segundo os autores, é provável que o mecanismo de adesão da *C. xerosis* à superfície da fluorita, seja devido à interação química específica de grupos

superficiais existentes somente, ou em maior grau, nesta, exigindo, portanto mais estudos neste sentido.

CHANDRAPRABHA, *et al.* (2005), estudaram o efeito da adesão da bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, na flotação da pirita, arsenopirita e calcopirita com isopropil xantato de potássio (PIPX) como coletor e com sulfato de cobre como agente ativador da arsenopirita. A separação da pirita em relação à arsenopirita e calcopirita, foi conseguida por flotação diferencial, após condicionamento com a bactéria (4×10^8 células/mL, durante 5 minutos), em pH 4,5, na concentração de 0.5mM de coletor e 0.5mM de sulfato de cobre. Nestas condições a porcentagem flotada em massa de pirita foi de 19,2%, e de 86,3% e 82,1% para a calcopirita e arsenopirita, respectivamente. Nesta faixa de pH, de acordo com a figura 3.18, a pirita após interação com a bactéria apresentou-se menos negativamente carregada do que os demais minerais, no caso a arsenopirita e calcopirita.

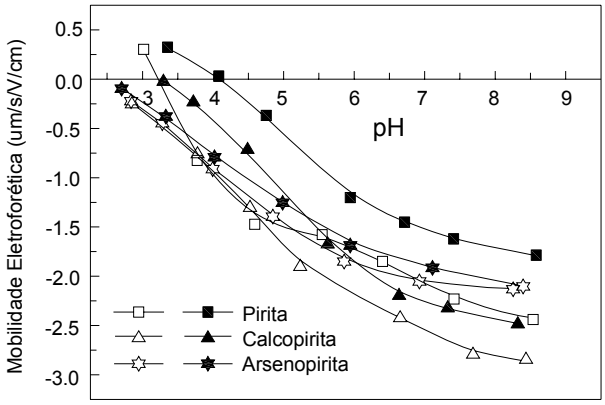


Figura 3.18 – Mobilidade eletroforética da pirita, calcopirita e arsenopirita antes da interação (símbolos abertos) e após interação (símbolos fechados) com a A. ferrooxidans (CHANDRAPRABHA et al., 2005).

SOMASSUNDARAN *et al.* (2005), também observam a modificação da superfície do quartzo e da calcita após condicionamento com a bactéria *Paenibacillus polymyxa*. Após o condicionamento a superfície do quartzo tornou-se mais hidrofóbica, enquanto que a superfície da calcita tornou-se hidrofílica. A interação dos metabolitos, previamente extraídos das células, também promoveu a alteração no potencial zeta dos minerais. No caso do quartzo a interação por 1h com metabolitos (polissacarídeos e

proteínas), resultou na diminuição da carga negativa, na faixa de pH de 5-11, e reversão de carga em faixas mais ácidas, com PIE em torno do pH 3,7 (figura 3.19a). No caso da calcita a interação também por 1h com metabolitos, tornou a superfície ainda mais carregada negativamente (figura 3.19b).

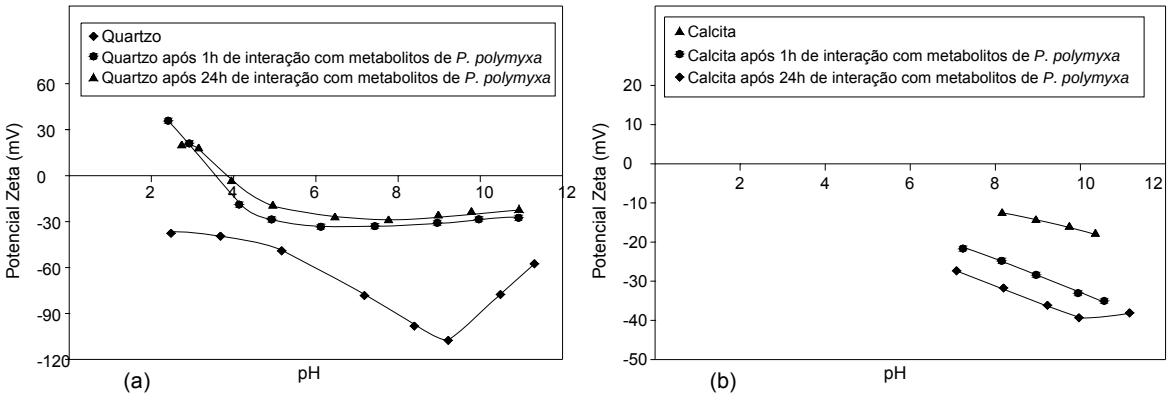


Figura 3.19 - Potencial zeta do quartzo(a) e da calcita (b) após interação com metabolitos previamente extraídos (SOMASUNDARAN et al., 2005).

4. METODOLOGIA

4.1. Amostras minerais

As amostras utilizadas foram hematita e quartzo de alta pureza. A hematita é proveniente da frente de lavra da Mina do Pico pertencente à Minerações Brasileiras Reunidas -MBR, localizada em Itabirito/MG.

A amostra de quartzo é proveniente da região de Jaboticatubas/MG, sendo esta a mesma utilizada por VIEIRA (2005).

4.1.2. Distribuição Granulométrica

Para realização dos testes de sedimentação e filtragem as amostras minerais de quartzo quanto de hematita, foram fragmentadas e classificadas de modo a obter um produto 100% passante em 38μm (400# Tyler). A cominuição foi realizada em britador de mandíbulas, de rolos e em moinho de bolas.

Para a hematita após passar o material em britador de mandíbulas e de rolos obteve-se um produto 0,150mm > x > 0,075mm. Em seguida foi realizada a moagem a úmido com os seguintes parâmetros: 60% sólidos da polpa, tempo de moagem de 50min, e volume de carga + polpa ocupando 50% do volume do moinho. O material proveniente da moagem a úmido foi classificado também a úmido em peneira 400# Tyler (38μm), sendo o passante considerado como produto e o retido foi retornado ao moinho como carga circulante.

No caso do quartzo não foi necessário passar a amostra em britador de mandíbulas e de rolos uma vez que a amostra já se encontrava na faixa granulométrica de 0,150mm > x > 0,075mm. Foi realizada então a moagem a úmido em moinho de bolas cerâmico com os seguintes parâmetros: 60% sólidos da polpa, tempo de moagem de 90min, e volume de carga + polpa ocupando 50% do volume do moinho. O material proveniente da moagem a úmido foi classificado também a úmido em peneira 400# Tyler (38μm),

sendo o passante considerado como produto e o retido foi retornado ao moinho como carga circulante.

O produto abaixo de 38μm foi analisado em Cyclosizer de modo a obter a distribuição granulométrica.

4.1.3. Massa específica

As análises de massa específica real para a hematita foram realizadas no equipamento Quantachrome, modelo Stereopycnoeter SPY-3, utilizando-se a técnica de picnometria a gás hélio. A amostra foi deixada durante 12 horas na estufa a 110ºC.

4.1.4. Composição mineralógica

A composição mineralógica da amostra de hematita foi confirmada por meio de difração de raios X em aparelho Phillips, modelo PW 2510, do Departamento de Engenharia de Minas da Escola de Engenharia da UFMG.

4.1.5. Análise química quantitativa

A análise química qauntitativa foi realizada por via úmida no laboratório da Escola de Engenharia da UFMG.

4.1.6. Área superficial específica (Índice de Blaine)

Índice de Blaine foi determinado por meio do permeabilímetro de Blaine, conforme mostrado na figura 4.1. O método avalia a permeabilidade do leito particulado através da passagem de um fluxo de ar relacionado com a perda de carga aplicada ao meio particulado. O índice de Blaine é calculado pela equação 4.1.

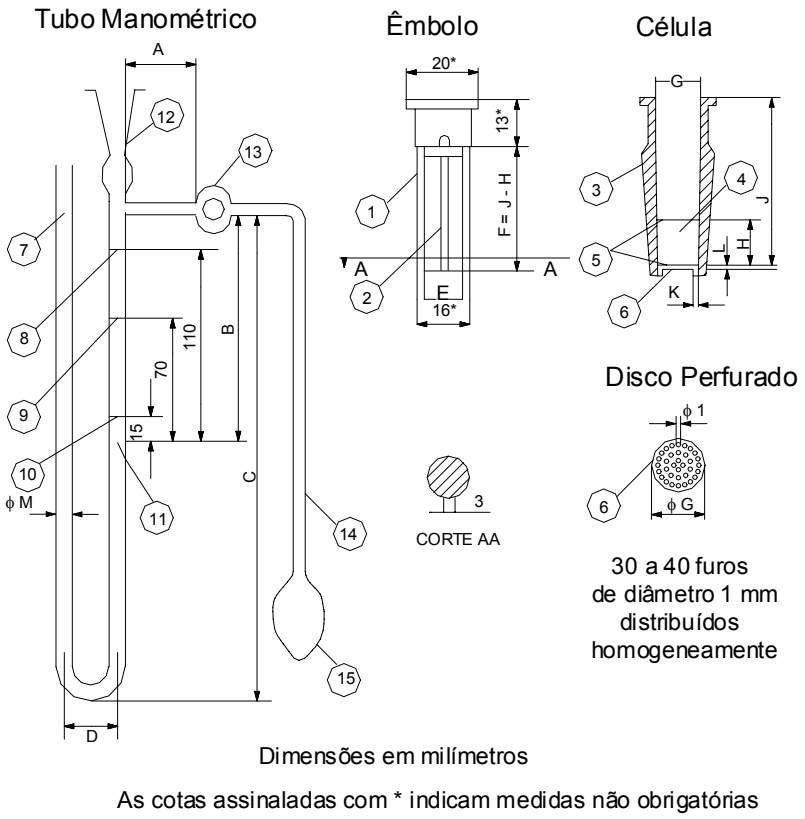


Figura 4.1 – Permeabilímetro de Blaine (NBR NM 76, 1998).

$$S = \frac{K \times \sqrt{\varepsilon^3} \times \sqrt{t}}{\rho(1-\varepsilon)\sqrt{0.1\eta}} \tag{4.1}$$

Onde:

K = constante do aparelho;

ε = porosidade da camada;

η = viscosidade do ar à temperatura do ensaio (Pa/s)

ρ = massa específica da amostra (g/cm^3);

t = tempo medido (s).

O procedimento adotado para a determinação é o determinado pela NBR NM 76 (ABNT, 1998).

4.1.7. Potencial zeta

Para determinação do potencial zeta dos minerais foi preparada uma solução contendo 0,01M de $NaNO_3$ (eletrólito indiferente). Foi acrescentado a esta solução o equivalente a 0,02% em peso de cada mineral (-38μm) e deixado sob agitação por 20 minutos. O local onde foram realizados os testes foi previamente climatizado a temperatura de cerca de 20°C. O valor do pH da solução foi ajustado com solução 1% v/v de HNO_3 e 1% p/v NaOH e deixado condicionar por 5 minutos. Uma pequena quantidade da solução foi então transferida para célula do aparelho Zeta Meter onde foi medido o potencial zeta. Foram construídas curvas de potencial zeta em função do pH para os minerais hematita e quartzo.

O aparelho Zeta Meter, utilizado nestes ensaios, possibilita a determinação do potencial zeta das partículas utilizando o princípio básico do espalhamento da luz gerado por uma fonte de luz branca. Neste uma diferença de potencial é aplicada na solução contendo o material em estudo. As partículas ou as bactérias, em virtude da diferença de potencial e do pH irão migrar para o catodo ou anodo numa velocidade que é proporcional ao campo elétrico aplicado. Através de um microscópio focado na célula é possível observar as partículas ou as bactérias em movimento e medir o tempo que uma determinada partícula gasta para percorrer a distância de uma ou mais quadrículas da escala acoplada a lente do microscópio. A partir do tempo medido, o equipamento calcula instantaneamente a velocidade média da partícula (V_M), a mobilidade eletroforética (μ) da partícula e o potencial zeta da partícula (ζ), a partir das equações 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4.

V_M = distância percorrida (μm)/ tempo gasto (s) (4.1)

C = diferença de potencial aplicado (V)/ distância entre os eletrodos (cm) (4.2)

$\mu = V_M/C$ (4.3)

$$\zeta = \frac{\mu * \eta}{\varepsilon} \quad (4.4)$$

onde:

ζ = potencial zeta (mV);

μ = mobilidade eletroforética

η = viscosidade da água

ε = permissividade elétrica da água.

4.1.8. Determinação do Ponto de Carga Zero

Foi realizada a determinação da condição de carga zero para as amostras minerais com base na metodologia sugerida por Mular e Roberts (MULAR & ROBERT, 1966). O procedimento constou, nesse caso, de:

- Amostras contendo 2g de cada mineral foram colocadas em béqueres com 100mL de solução $NaNO_3$ 0,01M previamente preparada;
- O pH da solução foi ajustado para o valor desejado com auxílio de solução 1% v/v de HNO_3 e 1% p/v NaOH. Após 2 min foi anotado o pH inicial.
- Foi adicionado 0,765g de $NaNO_3$ na forma sólida de modo que a concentração final do eletrólito passasse de 0,01M para 0,1M
- Após 2 min de condicionamento o pH final foi anotado
- A partir dos valores obtidos foi plotado o gráfico de ΔpH ($pH_{inicial} - pH_{final}$) em função de pH_{final}.

4.2. Bactéria

Foi utilizada a bactéria *Mycobacterium phlei* ATCC11758 adquirida junto à ATCC (American Type Culture Collection), para realização dos testes.

4.2.1 Manutenção da bactéria e obtenção de massa

Para a realização dos testes foi necessário realizar o reavivamento da cepa uma vez que esta foi recebida na forma de pellet desidratado. O procedimento de reavivamento constitui-se de suspensão do pellet seco em meio líquido específico (Middlebrook 7H9) e inoloculação dessa suspensão em meio sólido específico (Lowenstein medium base ou Middlebrook 7H10), conforme procedimento sugerido pela ATCC (American type

Collection Culture). Uma vez reavivada a bactéria, esta foi repicada semanalmente em meio sólido TSA e mantida em estufa à 37ºC. A composição dos meios Lowenstein, Middlebrook 7H9 e TSA é apresentada no Anexo 1.

Para obtenção de massa, a *M. phlei* foi cultivada em meio líquido Pratt (tabela IV-2) sendo este o mesmo utilizado por DUBEL *et al.* (1992). Após autoclavado a 121ºC, durante 15min o meio foi inoculado com 5 colônias isoladas em meio TSA (após 72h) e mantido a 35ºC e 120RPM. O tempo de incubação foi definido dentro da fase log de crescimento sendo este previamente determinado de acordo com a curva de crescimento. Após o período de incubação o material foi centrifugado a 10.000rpm, por 10min e 4ºC para sedimentação do pellet. O pellet foi lavado com água estéril e centrifugado. O processo de lavagem e centrifugação do pellet foi repetido por duas vezes para a retirada total do meio de cultura que por ventura ainda estivesse presente no pellet da bactéria. O pellet foi então liofilizado (desidratado) para obtenção de massa seca.

Tabela IV-1 – Composição meio líquido (Pratt) para *M. phlei*.

Quantidade	Composição
10g	Glicose
1g	extrato de carne
1g	extrato de levedura
1g	caseína enzimaticamente hidrolisada
1000ml	água destilada

4.2.2 Obtenção da curva de crescimento

A curva de crescimento foi traçada para definição do tempo de incubação para obtenção de massa o qual será definido dentro da fase exponencial de crescimento. A fase de crescimento exponencial é o período de maior atividade metabólica da célula e, portanto, o estágio ideal para utilização das células nos ensaios. O método utilizado para definição da curva de crescimento foi o cultivo em meio líquido, com amostragens de

alíquotas ao longo do tempo e plaqueamento (figura 4.2). Para a definição da curva de crescimento o ensaio foi repetido 3 vezes.

Primeiramente foi preparado um pré inóculo da seguinte maneira: 5 colônias isoladas de *M. phlei* cultivadas em meio TSA à 37^{o}C, durante 72h, foram inoculadas em um erlenmeyer contendo 50mL de meio Pratt previamente autoclavado. O pré-inóculo foi mantido a 36ºC, 120RPM durante 72h. Após esse período, uma alíquota de 1ml (1000µl) do pré inóculo foi inoculada assepticamente em um segundo erlenmeyer de 250mL contendo 100mL de meio Pratt e outra alíquota de 1mL foi analisada em espectrofotômetro de absorção para determinação da densidade ótica (DO) em 600nm.

O segundo erlenmeyer foi mantido a 36^{o}C, 120RPM, durante 3 dias. Durante esse período foram realizadas 5 amostragens em diferentes espaços de tempo. Em cada amostragem foram coletadas 2 alíquotas de 1000µL cada, sendo que uma alíquota foi levada para determinação da densidade ótica e a outra alíquota foi coletada assepticamente em tubo estéril de 1500µL para a determinação da UFC/mL.

A determinação da UFC/mL foi realizada por diluições sucessivas da alíquota inicial em diferentes tubos (Figura 4.2). Uma alíquota de 100µl, proveniente de cada diluição, foi então inoculado em meio TSA e incubadas por 72h. Após o período de incubação, as colônias formadas em cada placa, foram contadas de modo a realizar o cálculo de UFC/mL. Para efeito do cálculo foram tomadas somente placas contendo entre 30 e 300 colônias. Dessa forma, o número de bactérias presente no erlenmeyer no tempo t da amostragem: UFC/mL = número de colônias contadas na placa x diluição da amostra.

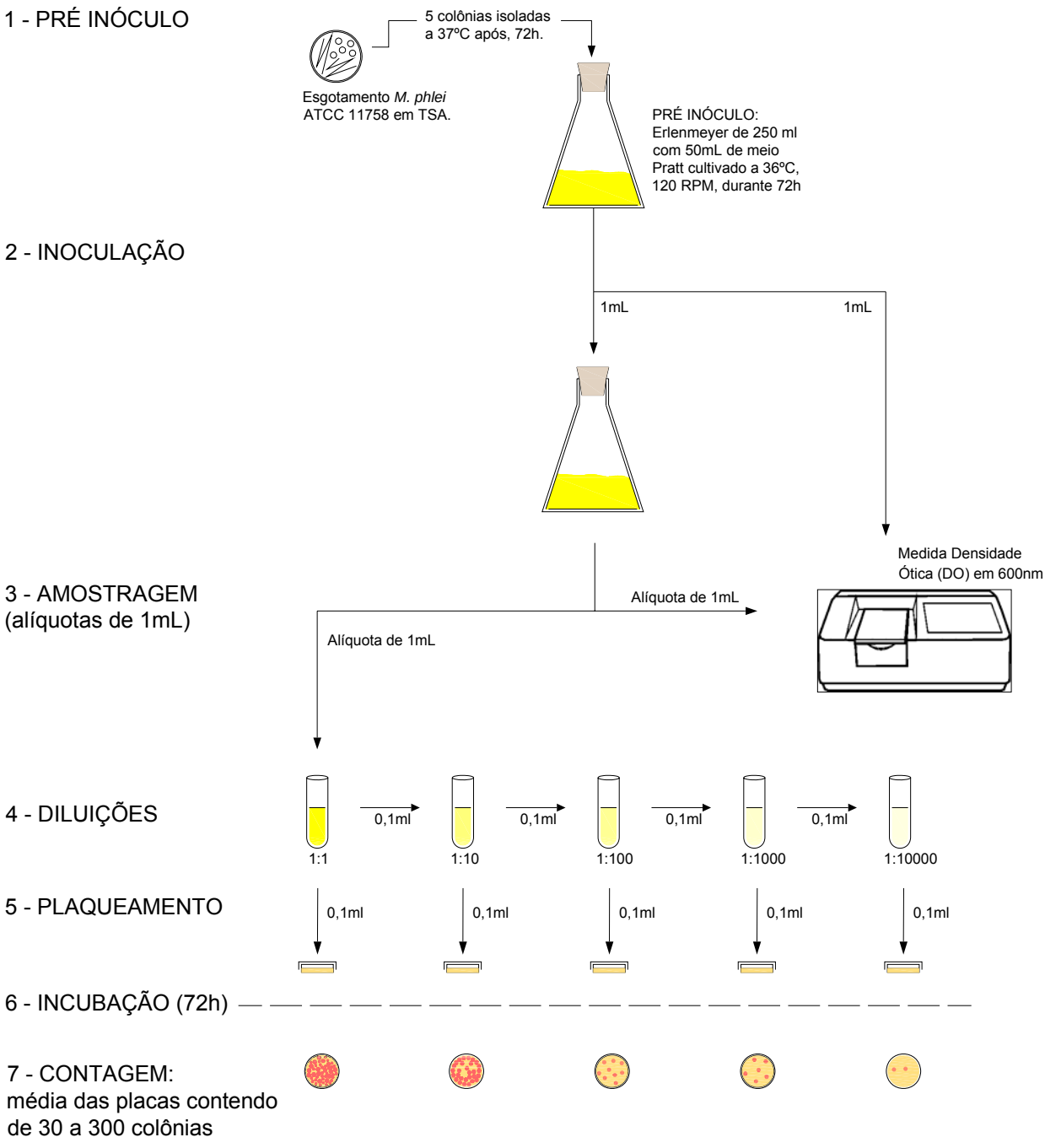


Figura 4.2 – Método de amostragem com diluições sucessivas para obtenção de curva de crescimento.

4.2.4 Potencial Zeta da *M. phlei.*

Para determinação do potencial zeta uma solução de 0,01M de $NaNO_3$ (eletrólito indiferente) contendo 50ppm (mg/l) de *M. phlei* foi preparada com água deionizada a partir dos pellets desidratados obtidos de acordo com o item 4.2.2. Depois de preparada a solução contendo *M. phlei* foi deixada sob agitação por 20 minutos. O local onde foram realizados os testes foi previamente climatizado à temperatura de cerca de 20^{o}C. O pH da solução foi então ajustado com solução 0,01M de HNO_3 ou NaOH, e uma pequena quantidade da solução foi transferida para célula do aparelho Zeta Meter, onde foi medida o potencial zeta para cada faixa de pH. A partir da média de cerca de 20 medidas para cada valor de pH, a curva de potencial zeta da *M. phlei,* em função do pH, foi traçada.

4.3 Experimentos

Foram realizados estudos de sedimentação em proveta e testes de filtragem com medida do volume de filtrado. Todos os ensaios de sedimentação e filtragem foram realizados com água deionizada para evitar a influência de adsorção de cátions e/ou ânions eventualmente presentes na água, no processo de agregação /dispersão. A reprodutibilidade dos resultados foi testada pela repetição dos ensaios.

4.3.1 Teste de Sedimentação em proveta.

Os testes de sedimentação foram realizados em proveta de 250mL e estudaram a influência de duas variáveis: pH e concentração de *M. phlei,* na velocidade de sedimentação e na turbidez do sobrenadante. Os ensaios foram realizados com polpa contendo 35% de sólidos em peso.

O procedimento utilizado foi o seguinte:

- Em um béquer de 500mL a polpa foi preparada adicionando-se a massa do mineral equivalente a 35% de sólidos em massa, com aproximadamente 150mL

de água deionizada. A mistura foi homogeneizada manualmente com o auxílio de um bastão;

- Ajustou-se o pH da polpa com solução de NaOH 1% p/v ou HCl 1% v/v, mantendo-se agitação manual durante 10 minutos para condicionamento da polpa;
- No caso de ensaios com adição de bactéria, adicionou-se à polpa, 10mL de uma solução previamente preparada contendo *M. phlei* na respectiva proporção do teste. A polpa foi então condicionada em agitador orbital a 180RPM por 10minutos, de modo a promover a perfeita interação entre a bactéria e as partículas minerais.
- A polpa foi vertida em proveta graduada de 250mL e o volume completado. Com o auxílio de uma haste conectada a um disco perfurado, a polpa foi homogeneizada e o pH verificado e corrigido caso necessário;
- Novamente com o auxílio da haste conectada ao disco perfurado, a polpa foi agitada com movimentos de sobe e desce da haste por 10 segundos;
- Imediatamente após cessar a agitação e retirada da haste, o cronômetro foi disparado e a altura da interface x tempo foi anotada;
- Após 20 minutos do início do teste, uma alíquota de 20mL foi coletada 10cm abaixo da superfície do líquido para avaliação da turbidez do sobrenadante, em turbidímetro Micronal modelo B250. Quando necessário a alíquota do sobrenadante foi diluída em balão volumétrico para a determinação da turbidez. A diluição da alíquota se faz necessária segundo manual do equipamento, quando há um excesso de partículas em suspensão os quais podem causar erros na medida da turbidez.
- A partir dos dados obtidos, o gráfico de altura da interface em função do tempo foi então plotado e a velocidade de sedimentação calculada na secção de velocidade constante da curva. A secção de velocidade constante foi definida através dos gráficos: log H em função de log t, log ($H–H_{infinito}$) em função de t (gráfico de Roberts), log [($H–H_{infinito}$)/t] em função de log t, como já descrito no capítulo 3.4. A velocidade de sedimentação é a inclinação da curva na secção de velocidade constante.

No caso dos ensaios com adição da bactéria, a solução contendo *M. phlei* foi previamente preparada da seguinte forma: em um pequeno frasco de 30ml a massa de *M. phlei* respectiva à dosagem do teste, foi pesada em balança analítica de precisão Gehaka. Adicionou-se 10mL de água deionizada ao frasco e a mistura foi homogeneizada com o auxílio de um agitador magnético por 20 minutos.

4.3.1 Teste de Filtragem com Medida da Massa do Filtrado.

Os ensaios de filtragem foram realizados por meio do teste de folha com alimentação por cima, conforme mostrado na figura 3.14.

Para a hematita cada teste foi realizado com 100mL polpa contendo 65% de sólidos em massa. Para o quartzo cada teste foi realizado com 300mL de polpa contendo 40% de sólidos em massa. A mudança nos parâmentros da polpa para a amostra de quartzo foi necessária pois na condição de 100mL de polpa a 65%, o tempo de formação obtido para a amostra de quartzo foi muito pequeno e não permitia avaliar a influência da adição da bactéria nos parâmetros de filtragem.
Todos os ensaios de filtragem foram realizados em funil de Büchner coberto com tecido plano em cetim, 100% polipropileno monofilamento, gramatura 300g/cm^2, permeabilidade ao ar 54 m^3/ m^2*min, abertura aproximada: trama (sentido transversal) < 0,04mm, urdume (sentido longitudinal) 0,22mm – utilizado como meio filtrante.

No caso da hematita foi utilizado funil de Büchner de 80mm de diâmetro e de 124mm de diâmetro no caso do quartzo. Assim como nos ensaios de sedimentação foi utilizada somente água deionizada nos testes de filtragem e o pH foi ajustado com solução de NaOH 1% p/v e solução de HCl 1% v/v.

Os ensaios de filtragem estudaram a influência do pH e da concentração de *M. phlei,* nas variáveis:

- tempo de formação de torta;
- resistência específica da torta;

- umidade final da torta;
- permeabilidade da torta e
- % de sólidos do filtrado.

O procedimento adotado, nos testes de laboratório, foi o mesmo utilizado por DIAS (2002):

- preparação da polpa ;
- adição de moduladores de pH e condicionamento por 5 minutos;
- adição de solução de bactéria (quando utilizado) e condicionamento por 5 minutos em agitador (shaker) a 180RPM;
- verificação do pH da polpa e correção se necessário;
- criação de um arquivo, no computador, para aquisição de dados do filtrado;
- acionamento da bomba de vácuo e regulagem do vácuo necessário;
- abertura da válvula de vácuo: início do teste;
- cronometragem do tempo de formação;
- fechamento da válvula de vácuo, após término da secagem;
- retirada da torta do funil;
- salvamento do arquivo de dados do teste;
- medição da espessura da torta;
- secagem da torta em estufa;
- determinação da massa seca da torta;
- coleta do filtrado para determinação de porcentagem de sólidos.

Com os dados coletados de volume de filtrado x tempo, plotou-se o gráfico de t/V x V de modo a se obter K_0' e K_1'(eq. 3.22), para todos os ensaios. De posse dos valores de K_0' e K_1', calculou-se K_0 (eq. 3.20), K_1 (eq. 3.21) e a resistência específica da torta (eq. 3.16). Os valores de resistência do meio (Rm), resistência da torta (Rt) e permeabilidade de torta (K) foram também calculados de acordo as equações do item 3.5.1. Todos os cálculos foram feitos considerando a equação de Darcy para tortas incompressíveis.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização das amostras minerais

A curva de distribuição granulométrica das amostras de hematita(HM) e quartzo(QT) realizada em Cyclosizer é apresentada na figura 5.1. A tabela com os dados da análise que originaram a curva encontra-se no anexo 2.

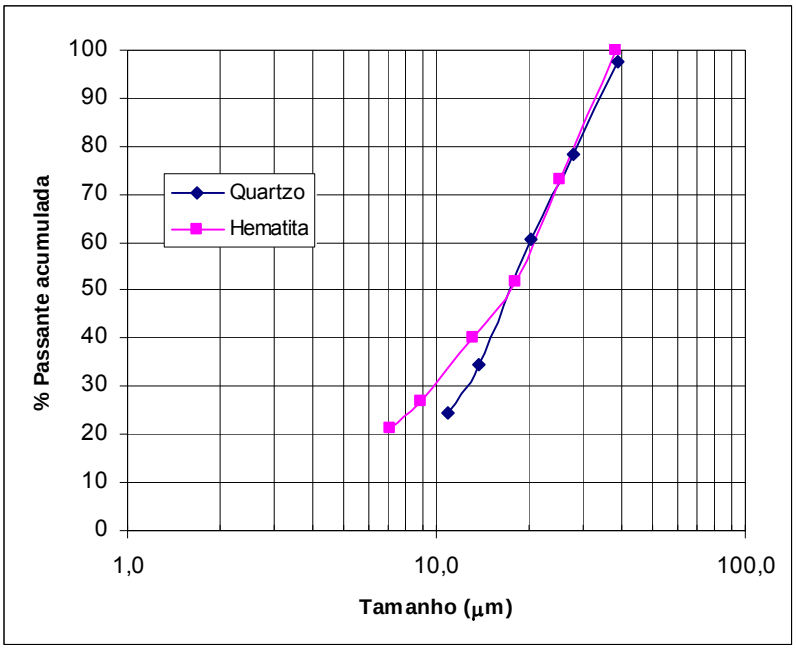


Figura 5.1 – Distribuição granulométrica amostras de quartzo e hematita

Como pode ser observado na figura 5.1 as amostras apresentam curvas de distribuição muito semelhantes e dentro de uma faixa de tamanho muito estreita (de 10 a 38μm), sendo que a amostra de hematita apresenta ainda cerca de 26% das partículas abaixo de 10μm.

Os resultados de massa específica e Índice de Blaine são apresentados na tabela V-1. Como pode ser observado ambas amostras apresentam índice de Blaine da ordem de 3000. Este resultado é compatível com o resultado da análise granulométrica por se tratar de partículas muito finas.

Tabela V-1– Índice de blaine e massa específica para amostra de hematita e quartzo

Amostra	Índice de Blaine	Massa Específica g/cm^3
HM	2670	5,23
QT	3030	2,59

No que diz respeito a composição mineralógica da amostra de hematita, conforme pode ser observado no difratograma (anexo 3), a hematita é a única fase mineralógica contendo ferro presente, não apresentando indícios de magnetita ou goethita.

Tabela V-2– Composição química das amostras de hematita e quartzo

Amostra	Fe (%)	SiO_2(%)	Al_2O_3 (%)	Mn (%)	P(%)	MgO (%)	CaO (%)	PPC
HM	68,06	0,126	0,133	0,081	0,027	0,021	0,007	0,255
QT	0,043	99,63	0,059	0,001	<0,001	0,005	0,002	0,228

Os resultados referentes à análise química quantitativa de ambas amostras são apresentados na tabela V-2. Como pode ser verificado, tanto a amostra de hematita (HM) quanto a de quartzo (QT) apresentam alta pureza, com teor de Fe_2O_3 de 97% para a hematita e de SiO_2 acima de 99% para o quartzo.

5.2. Determinação do ponto de carga zero para a hematita

O gráfico de ΔpH ($pH_{inicial} - pH_{final}$) versus pH_{final} para a hematita é mostrado na figura 5.2. Verifica-se que o valor de ponto de carga zero (onde ΔpH=0) para a hematita foi obtido em pH = 6,7. A tabela com os dados da análise que originaram a curva encontra-se no anexo 4.

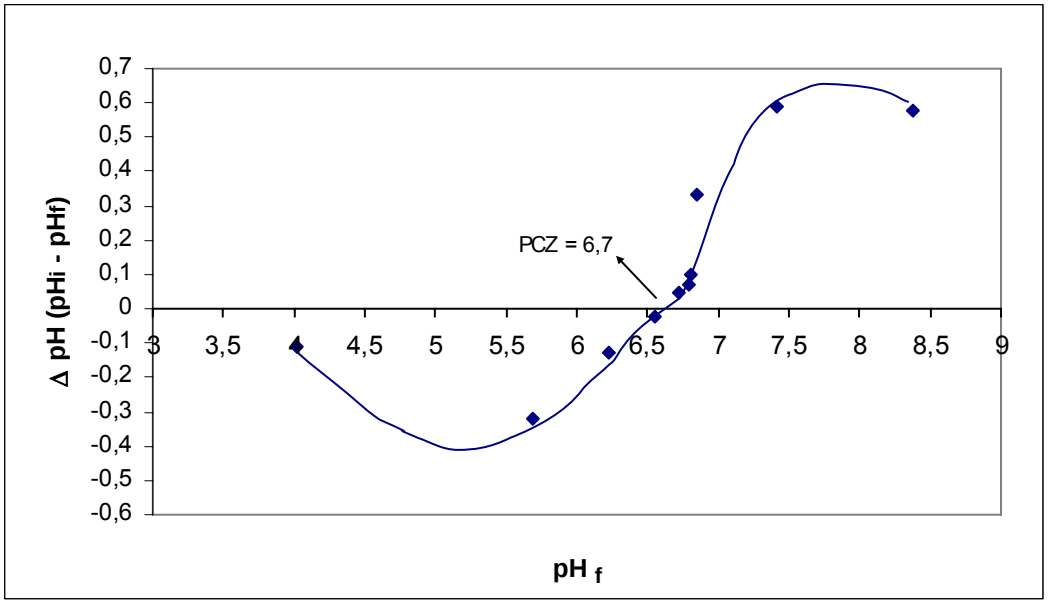


Figura 5.2 – Gráfico de ΔpH em função de pHfinal para hematita

5.3. Determinação do Potencial Zeta das amostras minerais e da bactéria

O resultado da determinação da curva de potencial zeta para a bactéria e amostras minerais é apresentado na figura 5.3. A tabela com todas as medições de potencial encontra-se no anexo 5.

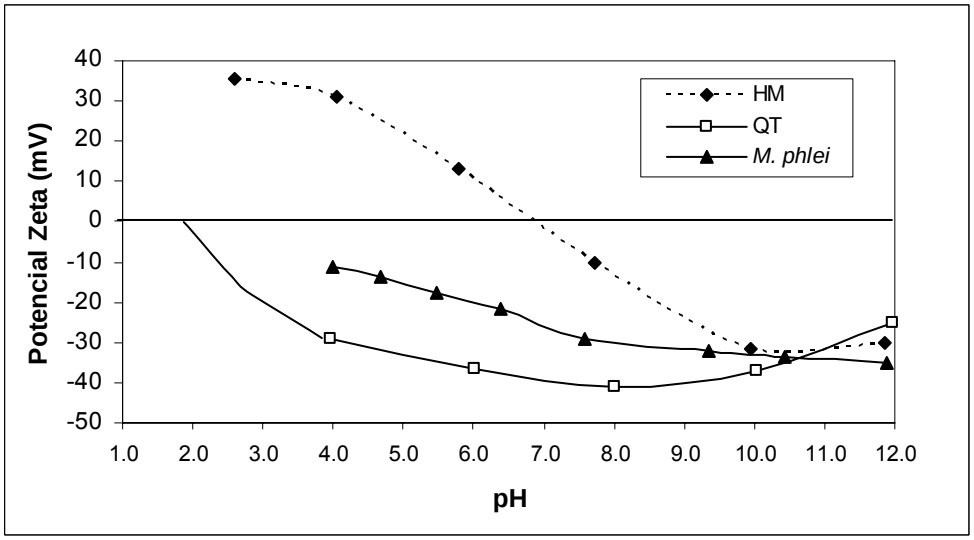


Figura 5.3 – Curva de Potencial Zeta das amostras minerais e da bactéria

De acordo com a figura 5.3 a bactéria apresenta carga negativa para a toda faixa de pH, tornando-se menos carregada negativamente na faixa mais ácida. Este resultado é compatível com DUBEL, et al. (1992) que encontraram uma curva de potencial zeta para a *M. phlei* bem semelhante à curva levantada na figura 5.3.

Segundo ainda a figura 5.3, as partículas de hematita encontram-se carregadas negativamente acima do pH 7 e carregadas positivamente abaixo do pH 7. O pH correspondente ao ponto isoelétrico da hematita definido pela curva de potencial zeta (pH~7) encontra-se em acordo com o valor medido no item 5.2 (PCZ = 6,7).
Para as partículas de quartzo pode-se observar que as mesmas se encontram carregadas negativamente desde a faixa alcalina até a faixa mais ácida, com ponto isoelétrico em torno do pH 2.

5.4. Curva de Crescimento da Bactéria

Na tabela V-3 são apresentados os resultados do levantamento da curva de crescimento da *M. phlei*. As variáveis n (número de gerações), g(tempo de geração) e K (taxa de crescimento) foram calculadas. De acordo o valor de k pode-se constatar que a fase de crescimento exponencial tem início após 48h da inoculação, uma vez que o valor de k cresce até 48h e depois tem um decréscimo após 72h.

Tabela V-3– Resultado curva de crescimento *M. phlei*.

Tempo (h)	UFC/mL	Absorbância (600nm)	n Nº de gerações	g Tempo de geração (h)	K Taxa de crescimento
0,00	4,87E+04	0,0001			
7,58	8,90E+03	0,009	-2,45	-3,09	-0,224
23,75	9,00E+04	0,008	0,89	26,81	0,026
31,43	2,90E+05	0,008	2,57	12,21	0,057
47,93	4,52E+06	0,009	6,54	7,33	0,095
72,05	3,00E+07	0,106	9,27	7,78	0,089

A curva de crescimento da *M. phlei* (figura 5.4) também confirma que a fase exponencial de crescimento tem início após aproximadamente 48h. O resultado encontrado está de acordo com a bibliografia existente: BARDOUNIOTIS et al. (2001)

levantaram a curva de crescimento para *M. phlei* em meio Middlebrook 7H9, constatando o início da fase de crescimento exponencial após 48h. Apesar do meio utilizado por BARDOUNIOTIS et al. (2001) ser mais rico em nutrientes do que o meio Pratt, a bactéria apresentou curvas de crescimento bem semelhantes tanto para o meio mais rico quanto para o meio mais pobre.

RAICHUR et al.(1996) e MISRA et al. (1993), também cultivaram a *M. phlei* em meio Pratt, a 35ºC, durante 48h para realização de testes de flotação e floculação com amostras minerais.

Dessa forma o cultivo da bactéria para obtenção de massa para realização de todos os testes foi realizado durante 48h.

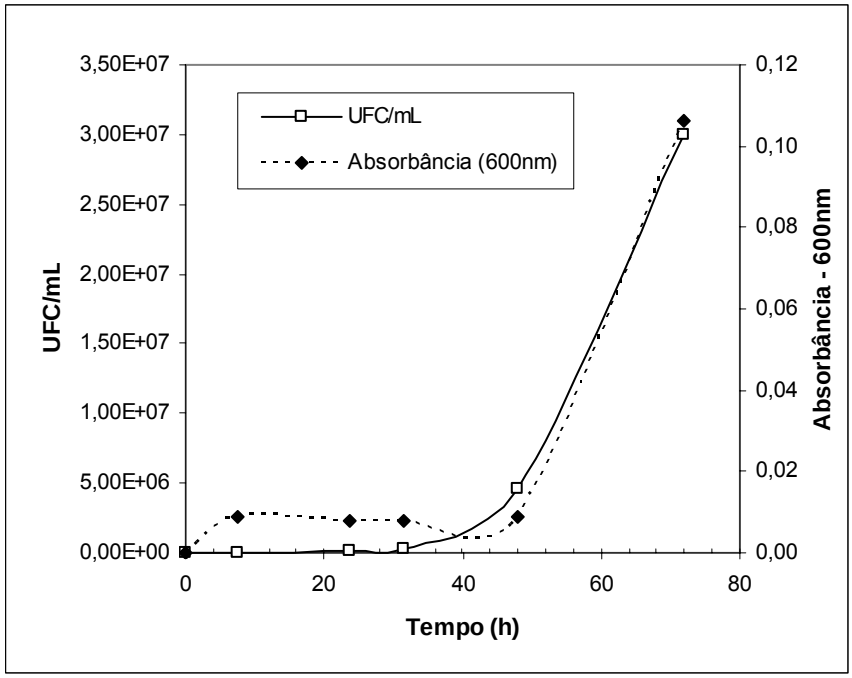


Figura 5.4 – Curva de Crescimento da *M. phlei* em meio Pratt, 36ºC, 120RPM

5.5. Teste de Sedimentação em Proveta

Todos os resultados apresentados nos itens 5.5.1 e 5.5.2 são referentes à amostra de hematita, uma vez que para a amostra de quartzo não foi possível visualizar a interface para nenhum valor de pH ou % de sólidos, mesmo com a utilização de luz focada na proveta.

Este problema se deve provavelmente ao efeito de parede nas partículas de quartzo, uma vez que todos os ensaios foram realizados com proveta de pequeno diâmetro (~Ø 5cm). O mesmo problema não foi observado para a amostra de hematita, provavelmente porque as partículas de hematita apresentam densidade quase 2 vezes maior do que as partículas de quartzo.

Os ensaios de sedimentação em proveta para a hematita (-38μm) foram realizados com polpa a 35% de sólidos em massa.

5.5.1 Influência do pH da polpa.

Como pode ser verificado na tabela V-4 e nas figuras 5.5 e 5.6, nas proximidades do ponto de carga zero da hematita (PCZ = 6,7) observou-se uma maior velocidade de sedimentação e uma menor turbidez do sobrenadante. À medida que o pH da polpa se afasta do PCZ, a velocidade de sedimentação diminui e a turbidez do sobrenadante aumenta significativamente chegando à ordem de 30000NTU no pH 4 e acima de 40000NTU para pH ≥10. Este fato se deve provavelmente ao aumento da repulsão eletrostática entre as partículas à medida que o pH da polpa se afasta do PCZ principalmente em pH ≥ 9 e pH ≤ 4. Possivelmente, também devido à repulsão eletrostática entre as partículas não foi possível enxergar a interface em pH 4, 10 e 12. Observando-se ainda a figura 5.6, verifica-se uma assimetria na curva de turbidez x pH, quanto aos valores obtidos na faixa alcalina e na faixa ácida respectivamente, uma vez que na faixa alcalina foi observado maiores valores de turbidez do que na faixa ácida.

Tabela V-4 – Resultados ensaios de sedimentação de polpa de hematita 35% de sólidos

pH	Vs (cm/s)	Turbidez (NTU)
4,01	nv	31250
5,51	0,0211	6500
6,00	0,0204	550
7,00	0,0286	20
8,01	0,0273	10
8,95	0,0255	18750
10,04	nv	40625
12,00	nv	75000

Nv – Não foi possível visualizar a interface nesta condição.

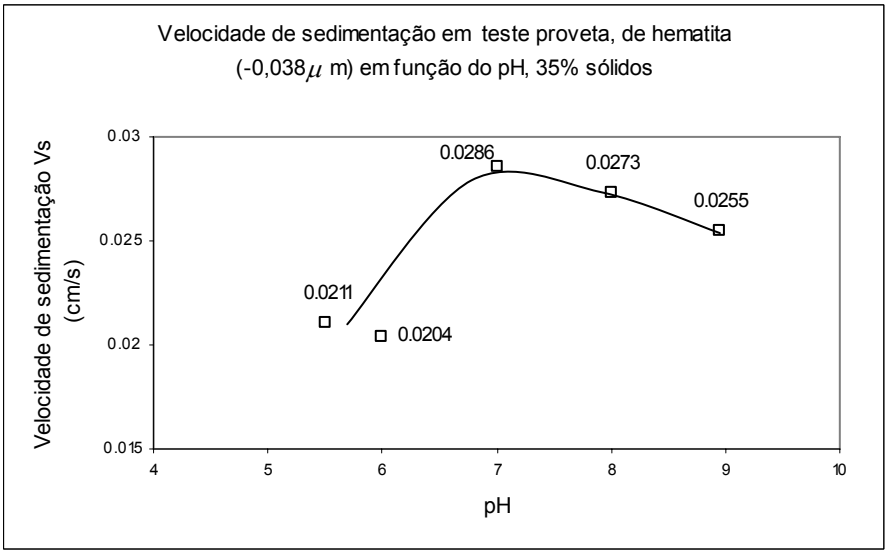


Figura 5.5 – Velocidade de sedimentação (Vs) para polpa de hematita x pH

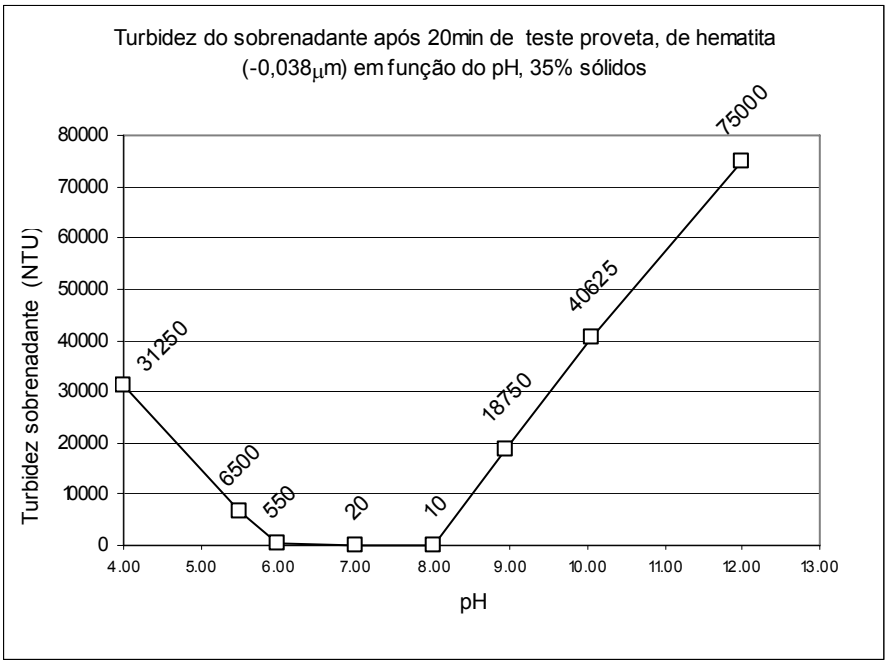


Figura 5.6 – Turbidez do sobrenadante para polpa de hematita x pH

5.5.2 Influência da presença da *M. phlei* na velocidade de sedimentação (Vs) e turbidez do sobrenadante

Na figura 5.7 é apresentado um gráfico de Vs x pH para a concentração de 1000ppm *M. phlei*. De acordo com a mesma, observa-se que na presença de *M. phlei* houve um acréscimo no valor de Vs para todos os valores de pH (exceto pH = 7) quando comparamos com o respectivo valor de Vs na ausência de *M. phlei* .

Em pH 7, a adição da *M. phlei* não alterou o valor de Vs de forma significativa provavelmente porque as partículas de hematita já se encontravam naturalmente coaguladas devido à proximidade ao PCZ (pH=6,7).

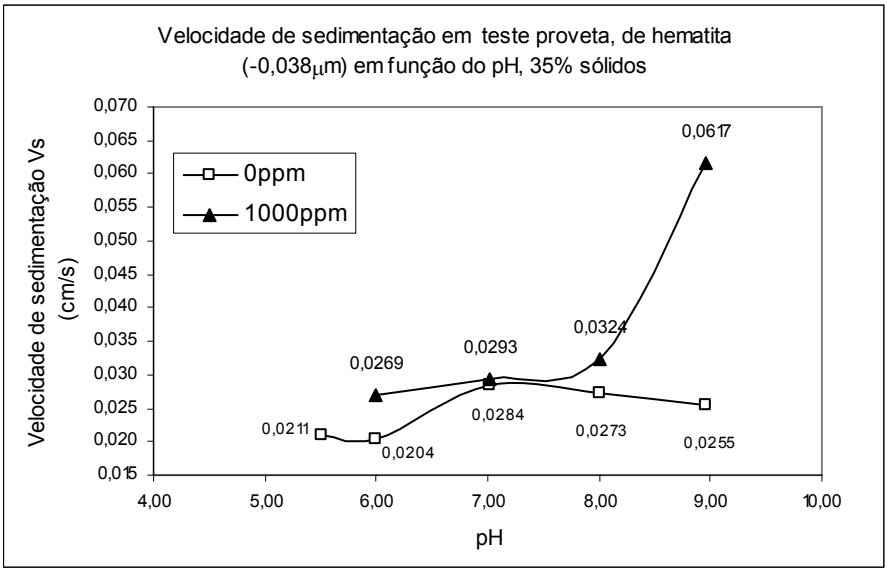
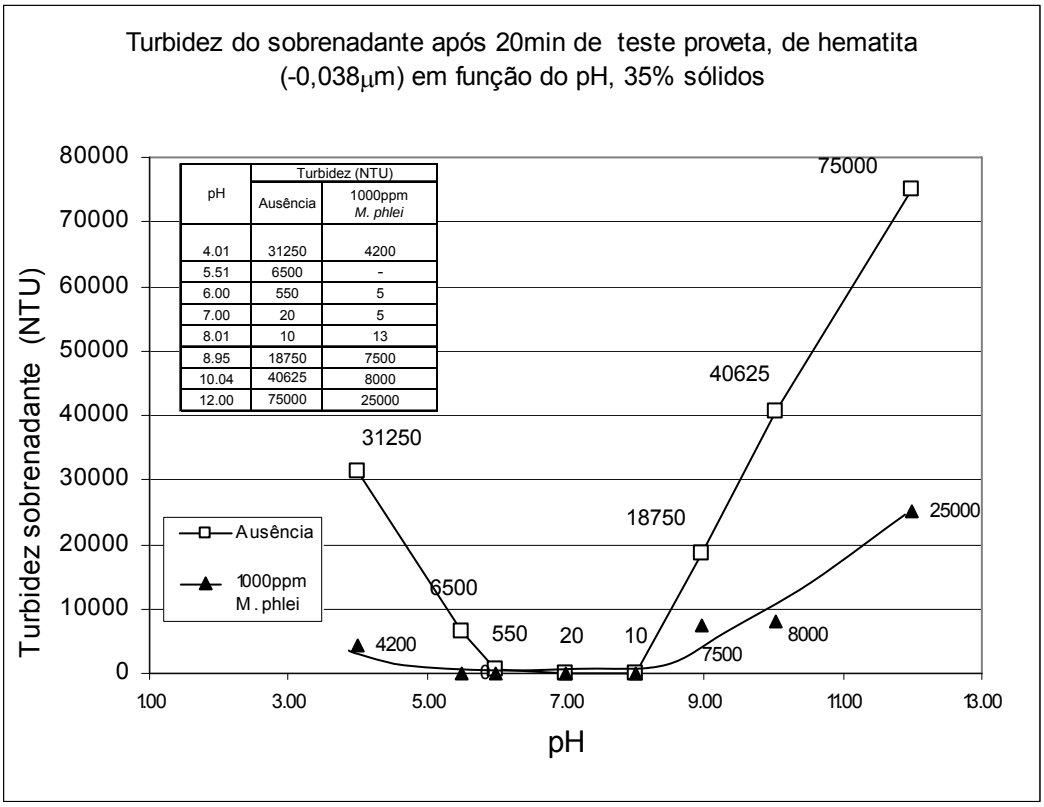


Figura 5.7 – Vs de polpa de hematita x pH na ausência e presença de1000ppm *M. phlei*

Na figura 5.8 é apresentado um gráfico de turbidez do sobrenadante x pH na presença de 1000ppm *M. phlei*. Observa-se, na figura 5.8, que na presença de *M. phlei* houve um decréscimo significativo na turbidez do sobrenadante, para todos os valores de pH (exceto no pH 8), quando comparamos com o respectivo valor da turbidez na ausência de *M. phlei*. É relevante colocar também que, tanto na presença quanto na ausência da bactéria, a curva de turbidez do sobrenadante, apresenta-se assimétrica, ou seja os

valores de turbidez encontrados na faixa alcalina são maiores do que os valores de turbidez encontrados na faixa ácida.

Tal como se observou para Vs, estes resultados permitem dizer que a presença da bactéria desestabilizou o sistema modificando o estado de agregação das partículas, o que contribui para o decréscimo significativo da turbidez do sobrenadante e para o aumento de Vs.



pH	Turbidez (NTU)	
	Ausência	1000ppm *M. phlei*
4.01	31250	4200
5.51	6500	-
6.00	550	5
7.00	20	5
8.01	10	13
8.95	18750	7500
10.04	40625	8000
12.00	75000	25000

Figura 5.8 – Turbidez do sobrenadante de polpa de hematita na presença de 1000ppm *M. phlei* x pH

Com o objetivo de avaliar o efeito da concentração de *M. phlei* na Vs (velocidade de sedimentação) e turbidez do sobrenadante, foram realizados novos ensaios de sedimentação para os seguintes valores de pH 6, 7, 8 e 9 (figura 5.9 a 5.11)

As tabelas com os dados que originaram as figuras 5.9 a 5.11 encontram-se no anexo 6.

Para o pH 9, em relação à influência da concentração de *M. phlei* na variável Vs, observa-se uma variação no valor de Vs a partir de 250ppm de *M. phlei* (25%), aumentando gradativamente até 750ppm (42%), sendo que na concentração de 1000ppm ocorre um aumento abrupto de 142% no valor de Vs. Com relação a turbidez do sobrenadante, observa-se que, já a partir de 760ppm, ocorre uma queda de 53% no valor da turbidez, mantendo-se este praticamente constante até a concentração de 2000ppm da bactéria.

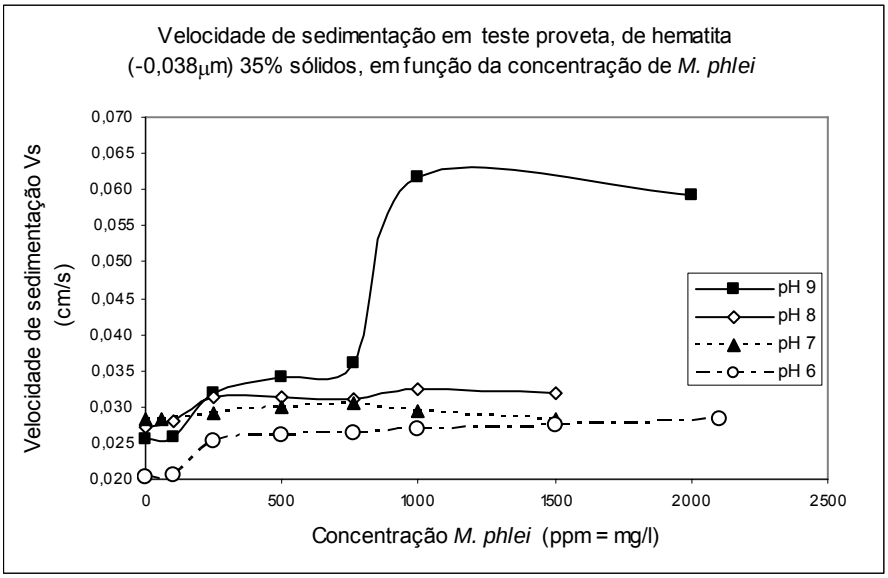


Figura 5.9 – Vs de polpa de hematita x concentração de *M. phlei*

Em pH 8, como pode ser observado na figura 5.12, não houve variação significativa na turbidez do sobrenadante em função da concentração de *M. phlei*. No que diz respeito à velocidade de sedimentação, foi observado um aumento de 19% no valor de Vs para a concentração de 1000ppm da bactéria.

Em pH 7, a variável Vs não se mostrou sensível à variação da concentração de *M. phlei*. No que diz respeito a turbidez do sobrenadante foi observada uma queda de 22NTU na ausência da bactéria para 6NTU na presença de 500ppm da *M. phlei*.

Em pH 6 foi observado um aumento de 24% no valor de Vs a partir de 250ppm, chegando a 32% de aumento para 1000ppm de *M. phlei*. Um decréscimo significativo

da turbidez também foi observado a partir de 250ppm (88%), passando de 550NTU para 62,5NTU.

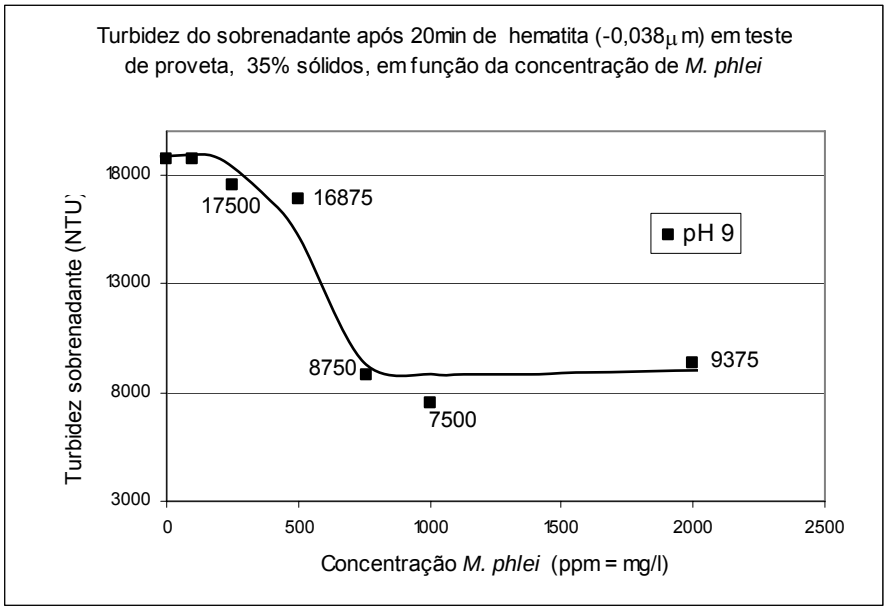


Figura 5.10 – Turbidez do sobrenadante x concentração de *M. phlei* (pH 9)

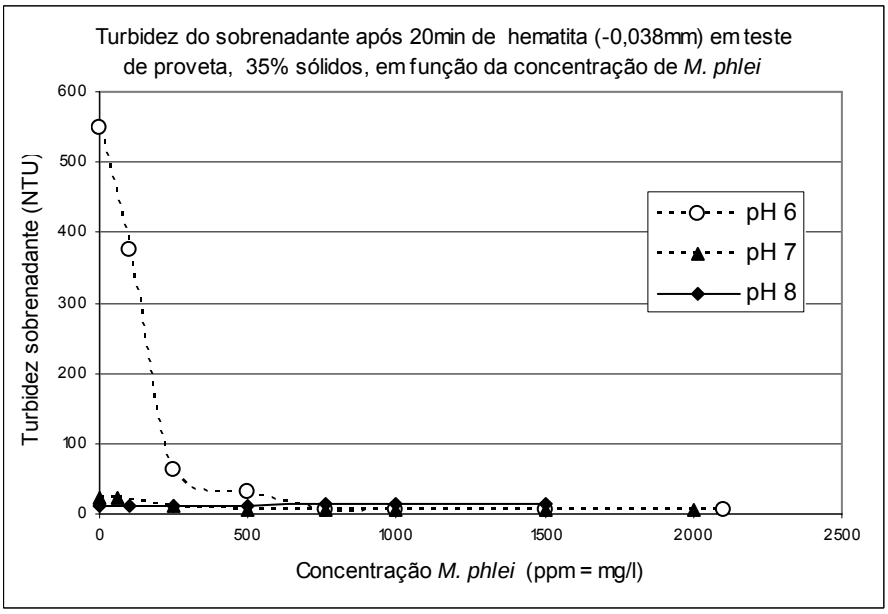


Figura 5.11 – Turbidez do sobrenadante x concentração de *M. phlei* (pH 6, 7 e 8)

5.6. Teste de Filtragem

5.6.1 Amostra de Hematita

Na figura 5.12 é apresentado o resultado para a amostra de hematita da % de sólidos no filtrado em função do pH e da concentração de *M. phlei*.

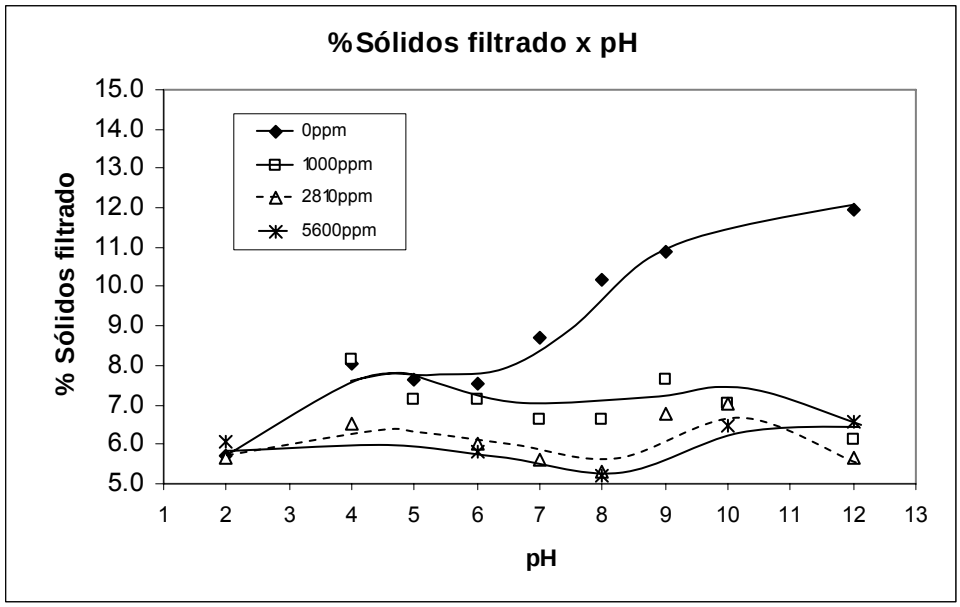


Figura 5.12 – % de sólidos de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei*.

Como pode ser verificado o aumento da concentração da bactéria na polpa diminui a % de sólidos no filtrado para toda a faixa de pH (exceto pH 2). Observa-se a maior queda da % de sólidos na faixa alcalina (pH≥ 7). Sendo que o maior decréscimo ocorreu em pH 12, de 12% ara 6% de sólidos, na presença de 1000ppm de *M. phlei*. Na faixa de pH ácida (6≥pH≥ 4) foi necessária uma maior concentração da bactéria (≥2810ppm) para que fossem observados decréscimos da ordem de 1 a 2 pontos percentuais. Em pH 2 não foi observado decréscimo, para nenhuma concentração da bactéria uma vez que naturalmente a % de sólidos no filtrado era muito baixa (~6 %).

Como pode ser verificado nas figuras 5.13 e 5.14 os menores tempos de formação de torta (TF), tanto na ausência quanto na presença da bactéria, encontram-se nas

proximidades do ponto de carga zero (8≥pH≥6). A curva de tempo de formação em função do pH apresenta visível assimetria em relação ao comportamento na faixa alcalina e na faixa ácida: na faixa alcalina pH >9 foram observados valores de tempo de formação muito maiores (até 732s) do que na faixa mais ácida (no máximo de 113s).
Na presença de 1000ppm *M. phlei* observa-se queda no tempo de formação (TF) para toda a faixa de pH (exceto pH 9), sendo que o maior decréscimo foi observado na faixa mais alcalina (pH ≥10). Em pH 10, o tempo de formação decresceu de 436 para 111s (decréscimo de 75%) e em pH 12, passou de 732 para 629s (decréscimo de 14%). Na faixa mais ácida, em pH 2, houve decréscimo de 42% no tempo de formação passando de 113 para 64s na presença de 1000ppm *M. phlei.*

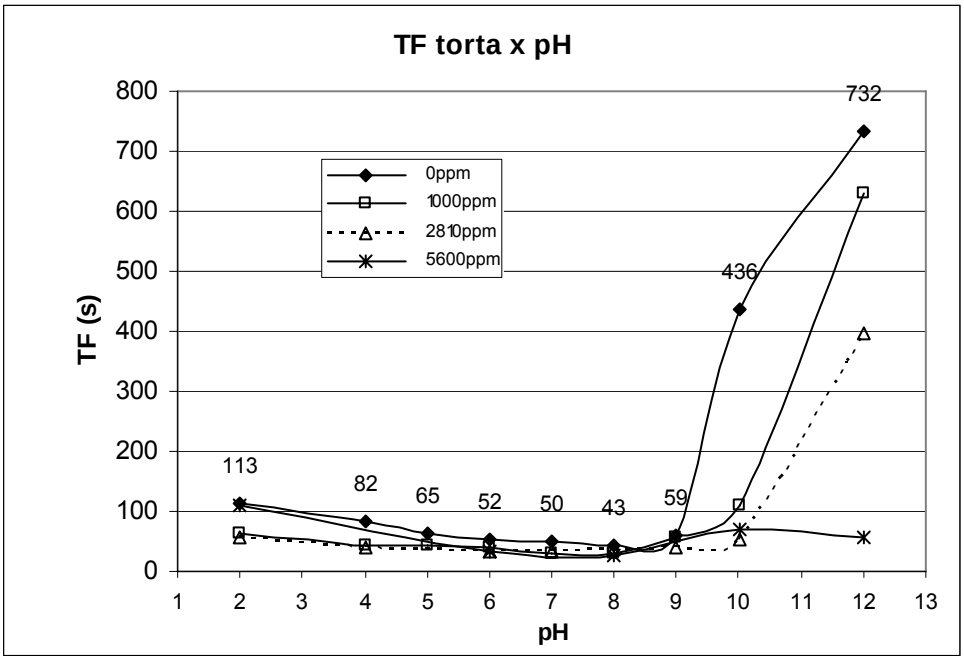


Figura 5.13 – Tempo de formação de torta (TF) de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei*.

Para a concentração de 5600ppm não foi observado decréscimo significativo no valor de tempo de formação em relação aos respectivos valores obtidos na concentração de 1000ppm, (exceto pH 12). Em pH 12, o tempo de formação da torta decresceu em cerca de 100% passando de 629s(1000ppm *M. phlei*) para 58s (5600ppm *M. phlei*).

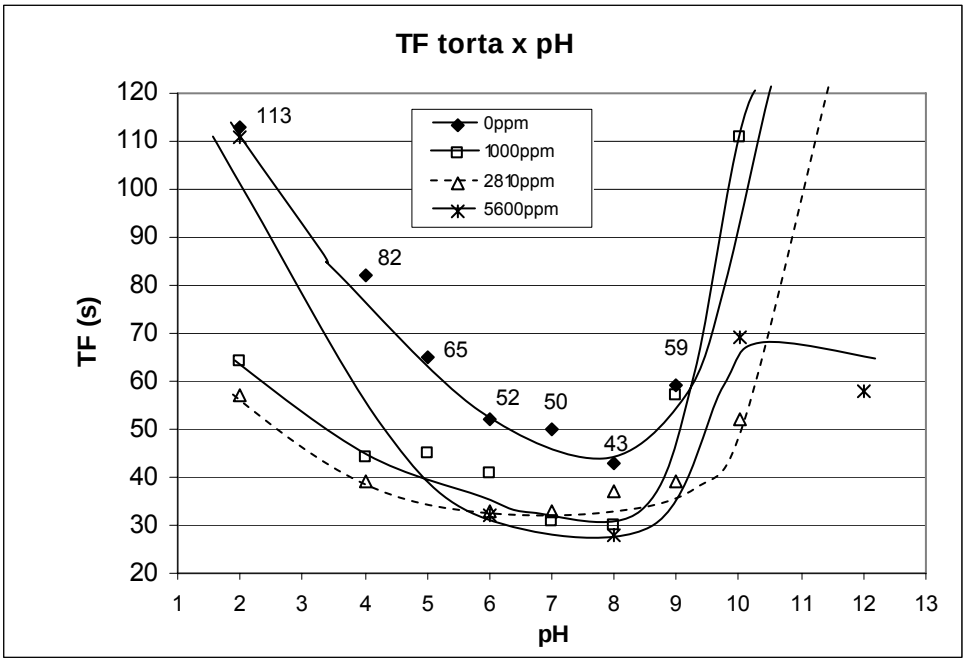


Figura 5.14 – Tempo de formação de torta (TF) de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei* (Escala maior)

Na figura 5.15 são apresentados os resultados de umidade final de torta em função do pH e da concentração da bactéria. Na ausência da bactéria, os menores valores de umidade final encontram-se também nas proximidades do ponto de carga zero. Os valores de umidade crescem tanto na faixa mais alcalina (pH ≥10), quanto na faixa mais ácida (pH ≤5).

De acordo com a figura 5.15 observa-se que para concentração de *M. phlei* maior ou igual a 2810ppm houve um aumento na umidade final da torta para toda a faixa de pH, exceto para pH> 10 onde a umidade manteve-se praticamente constante. Na presença de 1000ppm a umidade permaneceu praticamente constante, em relação aos valores de umidade na ausência da bactéria, para toda a faixa de pH exceto na faixa pH>9 onde houve decréscimo de cerca de um ponto percentual.

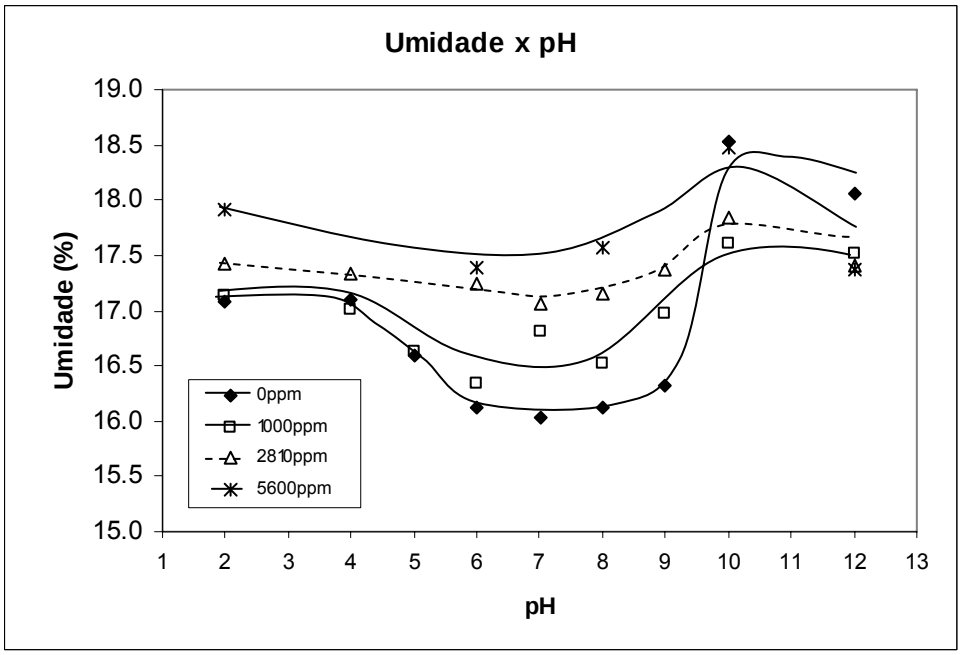


Figura 5.15 – Umidade final de torta de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei*

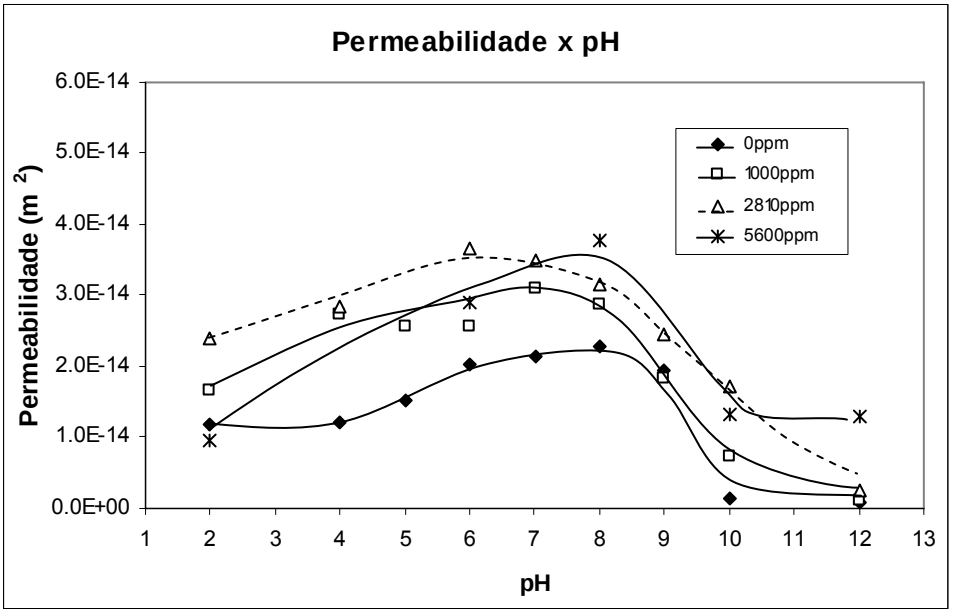


Figura 5.16 – Permeabilidade de torta de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei*

Como pode ser verificado na figura 5.16, na ausência da bactéria a maior permeabilidade de torta também ocorre nas proximidades do ponto de carga zero, sendo que a permeabilidade de torta decresce tanto na faixa mais alcalina (pH >9), quanto na

faixa mais ácida (pH≤5). Na presença de 1000ppm *M. phlei* a permeabilidade de torta aumenta para toda a faixa de pH (exceto pH 9). Aumentando-se mais a concentração de *M. phlei* observa-se um aumento maior da permeabilidade de torta sendo que o maior acréscimo ocorre na faixa pH ≤8, comparando-se com o respectivo valor na ausência da bactéria.

De acordo com as figuras 5.17 e 5.18, na ausência da bactéria os menores valores de resistência específica de torta também encontram-se nas proximidades do ponto de carga zero, sendo que a resistência aumenta ligeiramente na faixa mais ácida (pH≤5) e aumenta abruptamente na falsa mais alcalina (pH>9). Na presença de 1000ppm de *M. phlei* a resistência diminui para todo a faixa de pH (exceto pH 9). Aumentando-se mais a concentração de *M. phlei* observa-se um decréscimo gradativo na resistência específica de torta sendo que o maior decréscimo ocorre na faixa pH ≤10, comparando-se com o respectivo valor na ausência da bactéria.

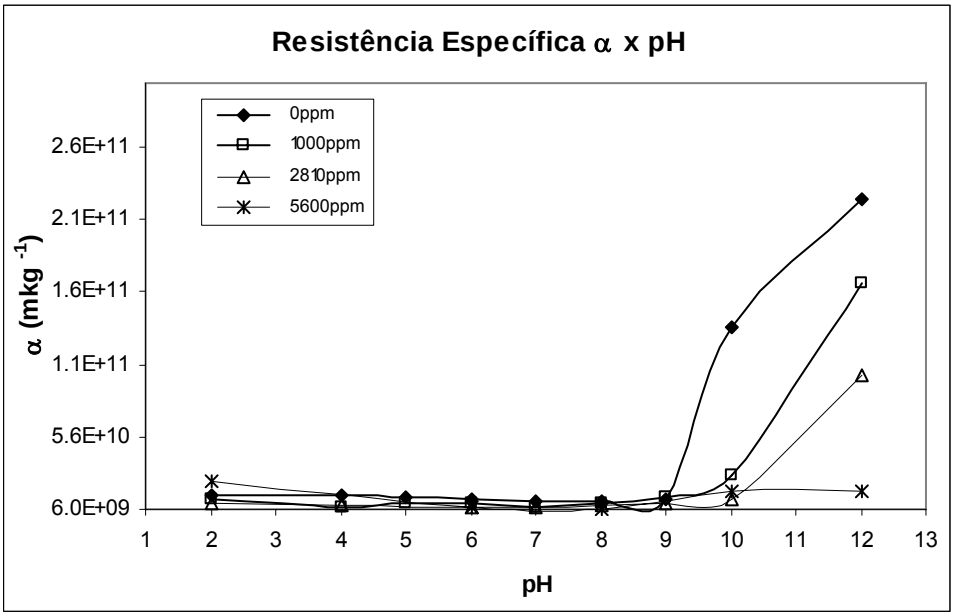


Figura 5.17 – Resistência específica de torta de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei*

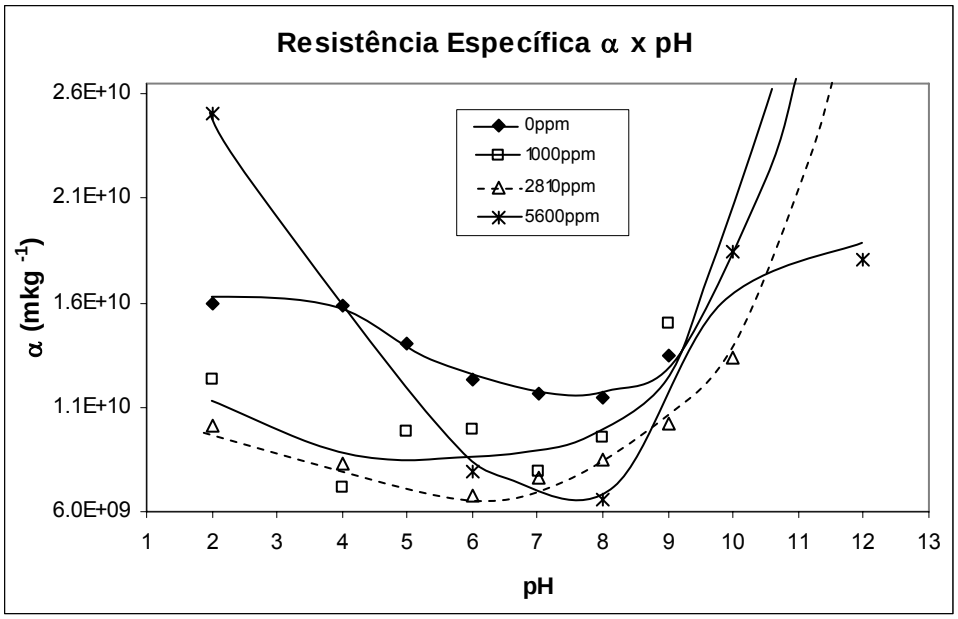


Figura 5.18 – Resistência específica de torta de amostra de hematita em função do pH e da concentração de *M. phlei* (Escala maior)

5.6.2 Amostra de Quartzo

Na figura 5.19 é apresentado o resultado para a amostra de quartzo da % de sólidos no filtrado em função do pH e da concentração de *M. phlei*.

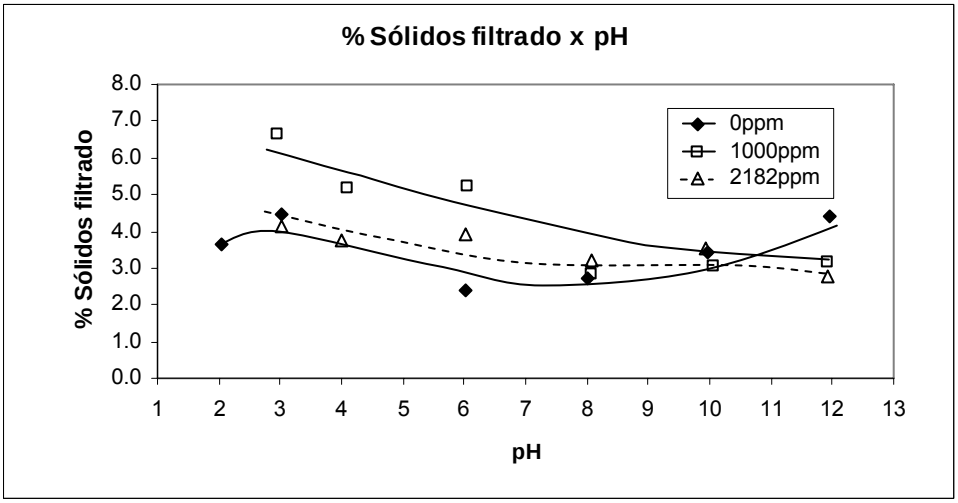


Figura 5.19 – % de sólidos de amostra de quartzo em função do pH e da concentração de *M. phlei*.

O aumento da concentração da bactéria na polpa aumentou ligeiramente a % de sólidos no filtrado na faixa de pH≤8, enquanto que na faixa alcalina a % de sólidos manteve-se constante.

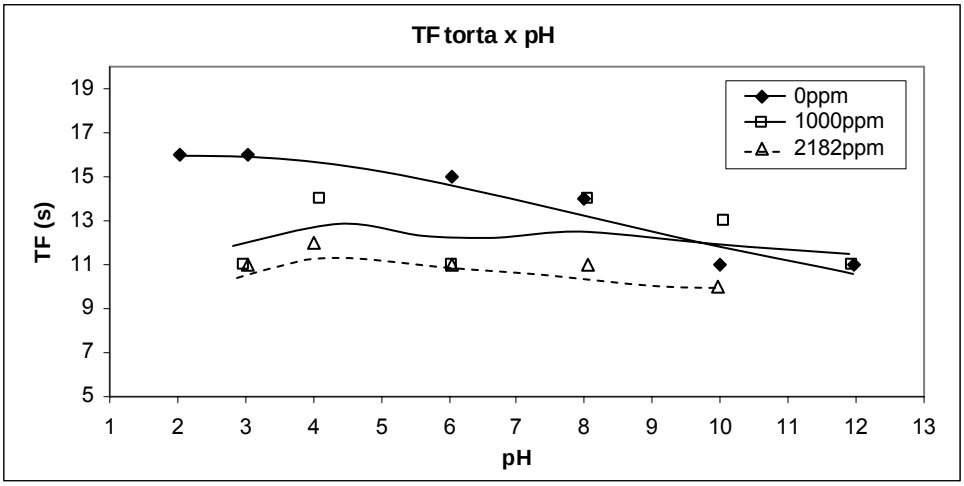


Figura 5.20 – Tempo de formação de torta (TF) de amostra de quartzo em função do pH e da concentração de *M. phlei*.

Como pode ser verificado na figura 5.20, na presença de 2182ppm de *M. phlei* observa-se uma pequena queda no tempo de formação de torta para a faixa de pH≤8), sendo que em pH 3 o tempo decresceu de 16 para 11s (decréscimo de 31%). Na faixa mais alcalina, não foi observada variação significativa no tempo de formação em função da concentração da bactéria.

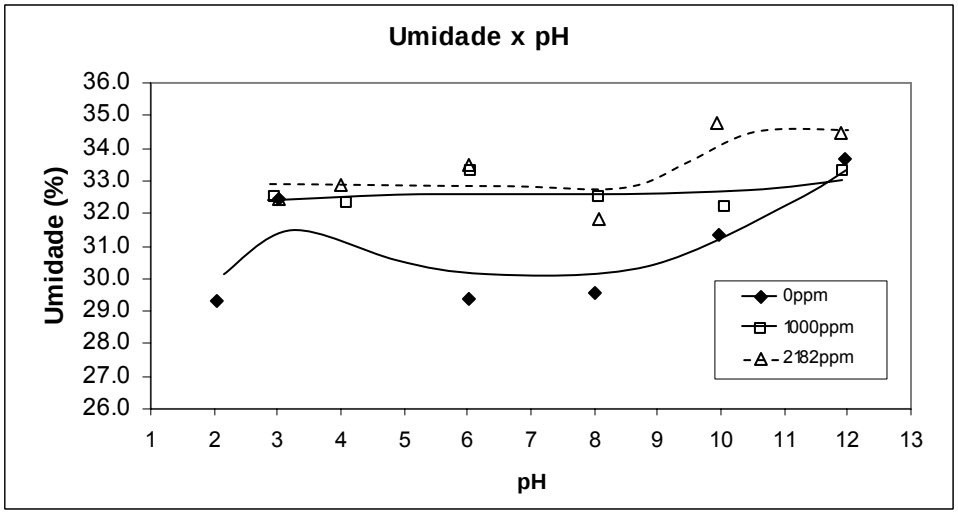


Figura 5.21 – Umidade final de torta de amostra de quartzo em função do pH e da concentração de *M. phlei*

De acordo com a figura 5.21, na presença de *M. phlei* houve acréscimo no valor da umidade para toda a faixa de pH (exceto pH 12) quando comparado com o respectivo valor na ausência da bactéria. É importante observar que o menor valor de umidade de torta na ausência da bactéria foi observado em pH 2, o qual encontra-se próximo ao ponto isoelétrico da amostra de quartzo (~pH = 2,0).

Como pode ser verificado na figura 5.22, na presença da bactéria, a permeabilidade de torta apresenta um acréscimo de cerca de 20% na faixa de pH ≤8. Em pH 12 foi observado um decréscimo de cerca de 26% em relação ao respectivo valor na ausência da bactéria.

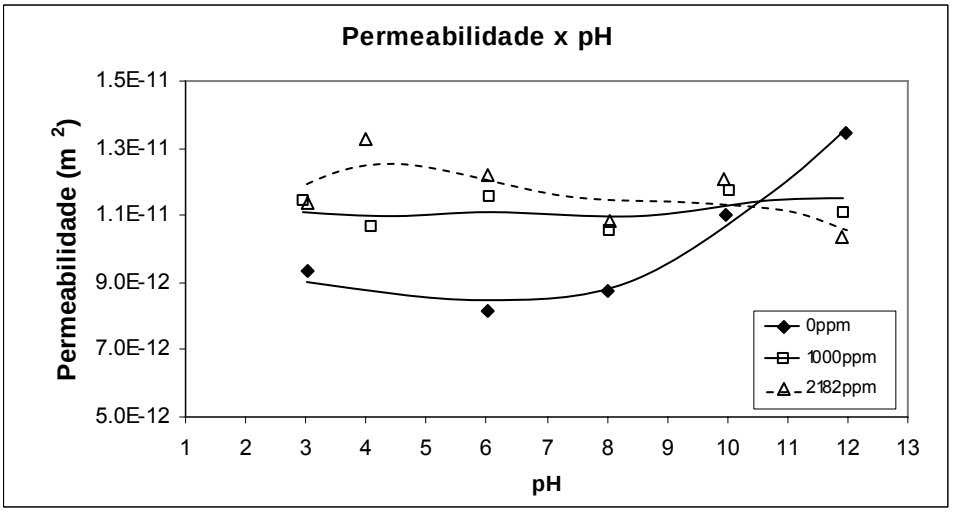


Figura 5.22 – Permeabilidade de torta de amostra de quartzo em função do pH e da concentração de *M. phlei*

De acordo com as figuras 5.23, na presença da bactéria, a resistência específica de torta apresenta um decréscimo de cerca de 34% na faixa de 4<pH ≤8. Na faixa de pH mais ácida (pH≤4) e na mais alcalina pH>8 não foi observado variação significativa da resistência de torta na presença da bactéria.

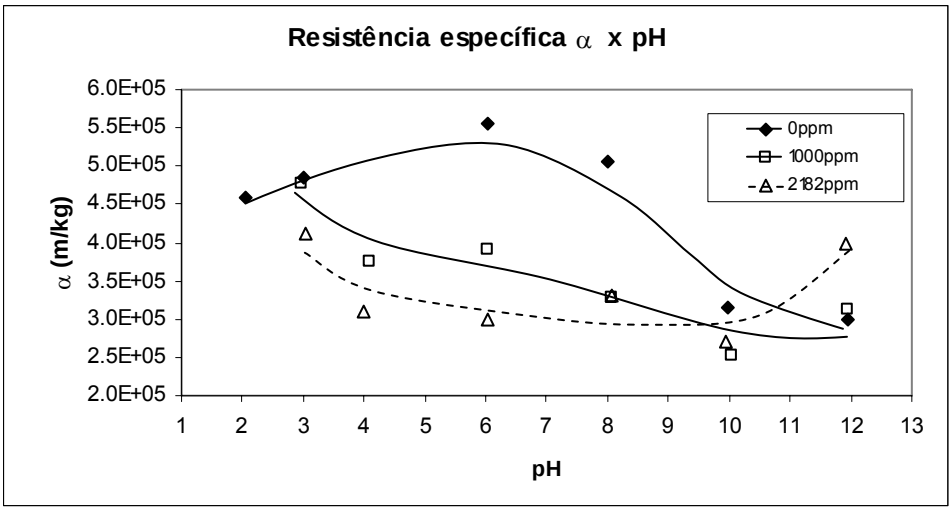


Figura 5.23 – Resistência específica de torta de amostra de quartzo em função do pH e da concentração de *M. phlei*

6. CONCLUSÃO

- A bactéria *M. phlei* apresenta em meio Pratt, 36ºC, 120RPM, curva de crescimento caracterizada pelo início da fase de crescimento exponencial após 48h, com tempo de geração de aproximadamente 7h;
- Tanto a amostra de quartzo, quanto a amostra de hematita apresentaram área de superfície específica (Indice de Blaine) muito elevadas, da ordem de 3000 cm^2/g, compatível com a distribuição granulométrica;
- Não foi possível visualizar a interface nos ensaios de sedimentação para a amostra de quartzo em proveta de 250mL para nenhuma faixa de pH ou % de sólidos da polpa;
- Os ensaios de filtragem da amostra de quartzo não foram positivos quanto à adição da *M. phlei*, uma vez que não foi observada variação significativa em nenhuma das variáveis estudadas.
- Nos ensaios de sedimentação, para amostra de hematita, observou-se que:
  - na ausência da bactéria, uma maior velocidade de sedimentação e uma menor turbidez do sobrenadante, nas proximidades do ponto de carga zero (PCZ = 6,7);
  - a presença da bactéria (1000ppm), desestabilizou o sistema modificando o estado de agregação das partículas, em toda a faixa de pH, o que contribui para o decréscimo significativo da turbidez do sobrenadante (exceto no pH 8) e para o aumento da velocidade de sediemntação (exceto no pH 7);
- Nos ensaios de filtragem, para amostra de hematita, na ausência da bactéria observou-se que:
  - Os menores tempos de formação de torta, de umidade final e resistência específica de torta foram observados nas proximidades do PCZ (pH= 6,7);
  - As curvas de tempo de formação, umidade final de torta e resistência da torta em função do pH, apresentaram visível assimetria em relação ao comportamento na faixa alcalina e na faixa ácida: os valores de tempo de formação, umidade e resistência específica de torta foram sistematicamente maiores na faixa alcalina do que na faixa ácida de pH. No que diz respeito ao tempo de formação de torta por exemplo foi observado que, na faixa alcalina o valor máximo foi de 732s

(pH 12), enquanto que na faixa ácida o maior valor de tempo de formação foi de 113s (pH 2);

- os maiores valores de % sólidos no filtrado foram observados na faixa alcalina (pH>7);

- Nos ensaios de filtragem, para amostra de hematita, na presença da bactéria observou-se que para a variável:
  - % de sólidos no filtrado: na concentração de 2810ppm *M. phlei*, a % de sólidos no filtrado decresceu, para toda a faixa de pH (exceto pH 2), principalmente na faixa de pH≥7, quando comparado com o respectivo valor na ausência da bactéria;
  - tempo de formação de torta: na concentração de 1000ppm *M. phlei,* o tempo de formação decresceu para toda a faixa de pH (exceto pH 8), sendo que os menores tempos de formação de torta, foram observados nas proximidades do PCZ (pH= 6,7). Ainda na concentração de 1000ppm, em pH 10, houve um decréscimo de 75% no tempo de formação em relação ao valor observado na ausência da bactéria;
  - umidade final de torta: na concentração de 1000ppm *M. phlei,* houve acréscimo de cerca de 0,5 ponto percentual na umidade final da torta na faixa de pH >6;
  - permeabilidade de torta: na concentração de 2810ppm de *M. phlei* houve acréscimo da permeabilidade de torta, para toda a faixa de pH (exceto em pH 12), sendo que os maiores valores de permeabilidade de torta foi observado também nas proximidades do PCZ;
  - resistência específica de torta: na concentração de 2810ppm de *M. phlei,* os valores de resistência de torta decresceram significativamente para toda faixa de pH, sendo que em pH 10 ocorreu um decréscimo de 90% na resistência da torta comparando-se com o respectivo valor na ausência da bactéria;

  Portanto, no caso da amostra de hematita, a adição da bactéria (1000ppm a 2810ppm de *M. phlei*) aumentou a filtrabilidade da polpa através da agregação das partículas de hematita. Este resultado é evidenciado pela diminuição do tempo de formação de torta e da resistência de torta em toda a faixa de pH testada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, A.A.R. Fotos de *Mycobacterium phlei*: aspectos coloniais e colorações características ao microscópio ótico. Inédito. 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro. NBR NM 76. Rio de Janeiro, 1998. 12p.

BARDOUNIOTIS, E; HUDDLESTON, W.; CERI, H.; OLSON, M. E. Characterization of biofilm growth and biocide susceptibility testing *Mycobacterium phlei* using the MBEC assay system. *FEMS Microbiology Letters*, v.203, p.263-267, 2001.

BOSECKER, K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, v.20, p.591-604, 1997.

CHAVES, A. P. *Teoria e Prática do Tratamento de Minérios*. 1. ed. São Paulo: Signus Editora, 1996. v.2, p.238-424.

CHANDRAPRABHA, M.N.; NATAJARAN, K.A.; SOMASUNDARAN, P. Selective separation of pyrite from chalcopyrite and arsenopyrite by biomodulation using *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Int. J. Miner. Process.* v. 5, p.113-122, ago. 2005.

CYTEC. *MSDS 9859;* Superfloc ® 103G Flocculant. 17/10/2005. 6p.

DEO, N. & NATARAJAN, K.A. Studies on interaction of *Paenibacillus polymyxa* with iron ore minerals in relation to beneficiation. *Int. J. Miner. Process,* v. 55: p41-60, jun. 1998.

DIAS, C.L.P. *Influência dos Reagentes Auxiliares nos Parâmetros de Filtragem.* Belo Horizonte: Escola de Engenharia da UFMG, 2002. 84p.(Dissertação, Mestrado em Engenharia de Minas)

DUBEL, J.; SMITH, R.W.; MISRA, M.; CHEN, S. Microorganisms as Chemical Reagents: The Hematite System. *Minerals Engineering*, v.5, n.3-5. p.547-556, 1992.

HAAS, S.H. & SCHNEIDER, I.A. Seleção de bactérias para floculação de finos de fluorita. *Anais da II Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente,* 1998.

HATZIKIOSEYIAN, A. *et al.* Biosorption and biological reduction of chromium by microbial biomass in batch and pilot scale rotating biological contactor (RBC). In: Biohydrometallurgy: Fundamentals, Technology and Sustainable Development, Part B. p.265-277, 2001.

HAYASHI, A.M.; AMORIN, W.B.; PEREIRA, D.M.; PIMENTEL, P.F.; SILVA, M.G.C. Biosorption of Cr(VI) in algae biomass kinetic study. In: Biohydrometallurgy: Fundamentals, Technology and Sustainable Development, Part B. p.199-206, 2001.

HYDROCHEM. *MSDS W202;* Flocculant W202. 15/01/2001. 6p.

KONEMAN, E.W.*et al. Diagnóstico Microbiológico*. 5 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001. 1465p.

MESQUITA, L.M.S. *Bioflotação de Hematita e Quartzo – Um Estudo de Seletividade*. Rio de Janeiro: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2000. 93p. (Tese, Doutorado em Tecnologia Mineral).

MISRA, M.; BUKKA, K.; CHEN, S. The effect of growth medium of *Thiobacillus ferrooxidans* on pyrite flotation. *Minerals Engineering*, v.9, n.2, p. 157-168, out. 1996.

MISRA, M.; CHEN, S.; SMITH, R.W.; RAICHUR, A.M. *Mycobacterium phlei* as a flotation collector for hematite. *Minerals Metall. Processing*, v.10, p.170-175, nov. 1993b.

MISRA, M.; SMITH, R.W.; DUBEL, J.; CHEN, S. Selective flocculation of fine coal with hydrophobic *Mycobacterium phlei*. *Minerals Metall. Processing*, v.10, p.20-23, feb. 1993a.

MONTGOMERY, D.C. *Design and analysis of experiments*. New York: John Willey Sons. 1991. 640p.

MULAR, A. L.; ROBERT, B. A *simplified Method to Determine Isoeletric Points of Oxides*. CIM Bulletin. 1966.

MULLIGAN, C. N. *et al.* Heavy metal removal from sediments by biosurfactants. *Journal of Hazardous Materials*, v.85, p. 111-125, 2001.

MURRAY, P.R. *et al. Microbiologia Médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 513p.

RAICHUR, A. M.; MISRA, AM.; BUKKA, K.; SMITH, R.W. Flocculation and flotation of coal by adhesion of hydrophobic *Mycobacterium phlei*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 8, p.13-24, mai. 1996.

RIGO, L.N. Produção da bactéria *Corynebacterium xerosis* para floculação de minerais. In ENTMME, 19, 2002, Recife. Anais do XIX ENTMME. Recife, 2002. p.11-15.

SOMASUNDARAN, P.; DEO, N.; DEO, P.; NATAJARAN, K.A. Role of biopolymers on bacterial adhesion and mineral beneficiation. *Minerals and Metallurgical Processing*, v.22, n.1, p.1-11, feb. 2005.

SUUTARI, M.; LAAKSO, S. Effect of growth temperature on the fatty acid composition of *Mycobacterium phlei*. *Arch Microbiol*, v. 159, p. 119-123, 1993.

SMITH, R.W.; MISRA, M.; CHEN, S. Adsorption of a hydrophobic bacterium onto hematite: implications in the froth flotation of the mineral. *J. Ind. Microbiol.*, v.11, p. 63-67, set. 1993.

DNPM, Brasília. *Sumário Mineral*; Brasília, 2003. p.70-71

SUZUKI, I. Microbial leaching of metals from sulfide minerals. *Biotechnology Advances*. v.19, p.119-132, 2001.

TORTORA, G.J. *et al. Microbiologia.* 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 827p.

VALADÃO, G.S. *Separação sólido líquido*. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia de Minas da UFMG. 2004. 77p.

VIEIRA, A.M. *Efeito da Granulometria na Flotação de Quartzo*. Belo Horizonte: Escola de Engenharia da UFMG, 2005. p. (Tese, Doutorado em Engenharia de Minas).

ZHENG, X.; ARPS, P.J.; SMITH, R.W. Adhesion of two bacterial onto dolomite and apatite: their effect on dolomite depression in anionic flotation. *Int. J. Miner. Process.* v. 62, p.159-172, jul. 2001.

ANEXO I

- Meio Lowenstein.

Composição

Quantidade (g)	Composição
3,6g	Asparagina
2,4g	Fosfato monopotássco
0,24	Sulfato de magnésio
0,6g	Citrato de magnésio
30,0g0	Fécula de batata
0,4g	Verde malaquita
12,0g	Glicerol
600 mL	Água destilada (qsp)
400 mL	Ovos inteiros

A preparação do meio Lowenstein é feita da seguinte maneira: todos os ingredientes, exceto os ovos são misturados e autoclavados a 121ºC durante 15min. Os ovos são imersos em álcool etílico 70% durante 30min. O conteúdo dos ovos é colocado assepticamente em um balão contendo pérolas de vidro previamente esterilizado. O balão é agitado até que a mistura de ovos fique homogênea. A mistura de ovos é então filtrada com gaze e misturada assepticamente ao meio autoclavado e distribuída em tubos inclinados. O meio é então coagulado a 85ºC por 45min. Um dia depois, os tubos contendo o meio são novamente aquecidos a 70ºC por 30 minutos.

- Meio Middlebrook 7H9.

Composição meio Middlebrook 7H9

Quantidade	Composição
0.5 g	Sulfato de amônia
0.5 g	Acido L-Glutamico
0.1 g	Citrato de Sódio
1.0 mg	Pyridoxina
0.5 mg	Biotina
2.5 g	Fosfato Bisódico
1.0 g	Fosfato Monopotássico
0.04 g	Citrato Férrico Amoniacal
0.05 g	Sulfate de Magnésio
0.5 mg	Cloreto de Cálcio
1.0 mg	Sulfato de Zinco
1.0 mg	Sulfato Cobre
900mL	Água destilada

Composição Enriquecimento Middlebrook ADC

Quantidade	Composição
8,5g	Cloreto de Sódio
50,0g	Albumina Bovina (Fraction V)
20,0g	Dextrose
0,03g	Catalase
1000mL	Água destilda

Suspender 4.7 g de pó de middlebrook em 900 mL de água destilada (contendo 2mL de glicerol ou 0,5g de polisorbato). Autoclavar a 121°C por 10 minutes. Assepticamente adicionar 100 mL de enriquecimento Middlebrook ADC ao meio (45°C).

- Meio TSA – Trypticase Soya Agar.

Composição meio TSA

Quantidade	Composição
15,0 g	Triptona
5,0 g	Peptona de Soja
5,0 g	Cloreto de sódio
15,0 g	Ágar
1000,00mL	Água destilada

Misturar os componentes e autoclavar a 121ºC por 15min. Distribuir ainda quente (~60ºC) em placas estéreis (~15mL por placa), assepticamente. Conservar em geladeira.

ANEXO 2

Resultados Cyclosizer para hematita (-38μm)

Cyclosizer	Tamanho (38μm)	massa (g)	% Retida	d_e	% Retida acumulada	% Passante acumulada
C1	42,7	12,816	26,79	25,3	26,79	73,21
C2	30,5	10,312	21,56	18,0	48,34	51,66
C3	22,1	5,496	11,49	13,1	59,83	40,17
C4	15	6,264	13,09	8,9	72,93	27,07
C5	12	2,777	5,80	7,1	78,73	21,27
Passante	<12	10,175	21,27	-	100,00	0,00

Variáveis operacionais x Fator de correção (f)

		f
Temperatura	20,5ºC	0,980
Vazão água	195mbar	0,988
Densidade	5,23g/cm^3	0,640
Tempo elutriação	20min	0,955

*$d_e = d_i \times f_1 \times f_2 \times f_3 \times f_4$

Resultados Cyclosizer para quartzo (-38μm)

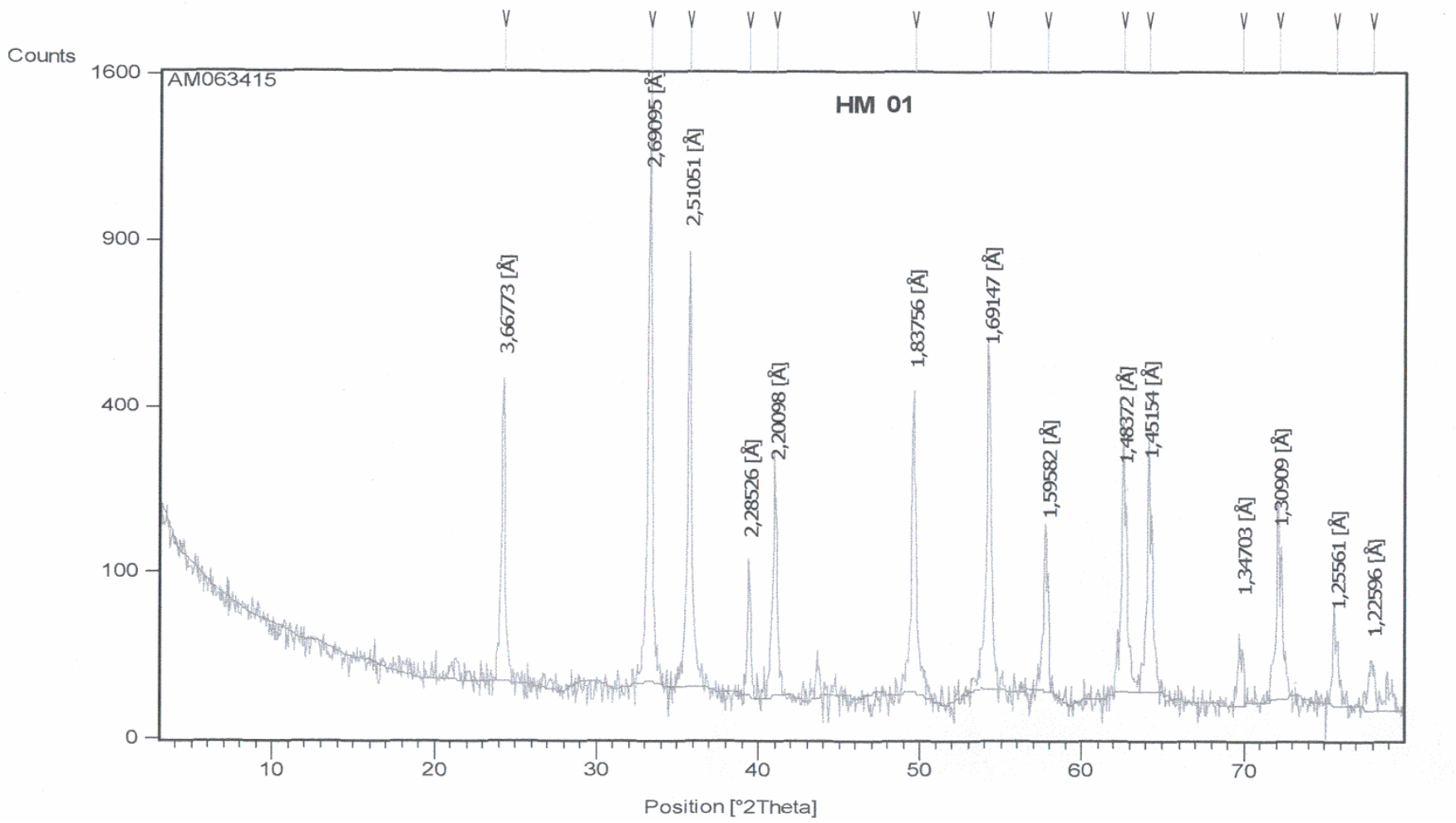
Cyclosizer	Tamanho (38μm)	massa (g)	% Retida	d_e*	% Retida acumulada	% Passante acumulada
C1	42,7	1,1	2,45	38,8	2,45	97,55
C2	30,5	8,6	19,19	27,7	21,64	78,36
C3	22,1	8	17,85	20,1	39,49	60,51
C4	15	11,6	25,88	13,6	65,37	34,63
C5	12	4,5	10,04	10,9	75,41	24,59
Passante	<12	11,02	24,59	-	100,00	0,00

Variáveis operacionais x Fator de correção (f)

		f
Temperatura	25ºC	0,945
Vazão água	195mbar	0,988
Densidade	2,59g/cm^3	1,020
Tempo elutriação	20min	0,955

*$d_e = d_i \times f_1 \times f_2 \times f_3 \times f_4$

ANEXO 3



Difratograma da Amostra de Hematita

ANEXO 4

Resultados PCZ para hematita

pH_i	pH_f	ΔpH
2,96	2,98	-0,02
3,91	4,02	-0,11
5,37	5,69	-0,32
6,10	6,23	-0,13
6,53	6,55	-0,02
6,77	6,72	0,05
6,86	6,79	0,07
6,90	6,80	0,10
7,18	6,85	0,33
8,00	7,41	0,59
8,96	8,38	0,58

ANEXO 5

Resultados Medidas de Potencial Zeta

Hematita - HM						
pH	T (°C)	Potencial Zeta (mV)	Desvio padrão (mV)	Número de medidas	Condutividade	Voltagem
2,59	20	35,31	4,6	20	2190	50
4,04	20	30,96	3,1	20	1005	50
5,80	20	12,99	3,1	20	942	100
7,72	20	-10,1	1,6	20	1044	150
9,95	20	-31,7	2,2	20	968	150
11,85	20	-30,2	2,9	20	2180	50

Quartzo - QT						
pH	T (°C)	Potencial Zeta (mV)	Desvio padrão (mV)	Número de medidas	Condutividade	Voltagem
3,96	22,1	-29,3	2,249	15	1531	50
6,02	22,3	-36,4	1,468	15	1241	50
8,01	22,9	-41,2	2,937	15	1282	50
10,02	23,1	-37,3	2,703	15	1425	50
11,98	23,2	-25,2	2,203	15	2560	50

M. phlei						
pH	T (°C)	Potencial Zeta (mV)	Desvio padrão (mV)	Número de medidas	Condutividade	Voltagem
3,99	21,5	-11,1	3,4	15	1014	50
4,68	24	-13,8	2,8	15	1082	50
5,47	24	-17,9	0,9	15	1207	50
6,40	24	-21,5	2,6	15	1027	50
7,57	21	-29,0	1,7	15	1261	50
9,35	21	-32,2	3,0	15	1022	50
10,42	22	-33,5	3,0	15	1442	50
11,88	21,5	-35,1	2,5	15	1998	50

ANEXO 6

Ensaios de sedimentação de polpa de hematita (-38μm) contendo 35% de sólidos: Vs e turbidez em função da concentração de *M. phlei*.

pH 6

Conc. *M. phlei* (ppm)	Vs (cm/s)	Aumento de Vs (%)	Turbidez (NTU)	Decréscimo da turbidez (%)
0	0,0204	-	550	
100	0,0206	1	375	32
250	0,0253	24	62,5	89
500	0,0260	28	30	95
760	0,0263	29	5	99
1000	0,0269	32	5	99
1500	0,0275	35	5	99
2104	0,0283	39	5	99

pH 7

Conc. *M. phlei* (ppm)	Vs (cm/s)	Aumento de Vs (%)	Turbidez (NTU)	Decréscimo da turbidez (%)
0	0,0284		22	
60	0,0282	-1	22	0
250	0,0291	3	12	45
500	0,0299	5	6	73
760	0,0306	8	5	77
1000	0,0293	3	5	77
1500	0,0284	0	5	77
2000	0,0255	-10	5	77

pH 8

Conc. *M. phlei* (ppm)	Vs (cm/s)	Aumento de Vs (%)	Turbidez (NTU)	Decréscimo da turbidez (%)
0	0,0273	-	10	-
100	0,0279	2	10	0
250	0,0314	15	11	-10
500	0,0312	14	11	-10
760	0,0311	14	13	-30
1000	0,0324	19	14	-40
1500	0,0320	17	14	-40

pH 9

Conc. *M. phlei* (ppm)	Vs (cm/s)	Aumento de Vs (%)	Turbidez (NTU)	Decréscimo da turbidez (%)
0	0,0255	-	18750	-
100	0,0259	2	18750	0
250	0,0318	25	17500	7
500	0,0342	34	16875	10
760	0,0361	42	8750	53
1000	0,0617	142	7500	60
2000	0,0592	132	9375	50

ANEXO 7

Ensaios de filtragem de polpa de hematita (-38μm) contendo 65% de sólidos em função da concentração de *M. phlei*.

0ppm

pH	α (mkg^{-1})	Umidade Torta (%)	% Sólidos filtrado	TF (s)	K (L/R)
2	1,59E+10	17,08	5,70	113	1,19E-14
4	1,59E+10	17,10	8,04	82	1,20E-14
5	1,41E+10	16,59	7,63	65	1,52E-14
6	1,23E+10	16,12	7,56	52	2,02E-14
7	1,16E+10	16,04	8,69	50	2,14E-14
8	1,15E+10	16,13	10,18	43	2,29E-14
9	1,35E+10	16,32	10,90	59	1,93E-14
10	1,31E+11	18,53		436	1,41E-15
12	2,20E+11	18,06	11,97	732	8,85E-16

1000ppm

pH	α (mkg^{-1})	Umidade Torta (%)	% Sólidos filtrado	TF (s)	K (L/R)
2	1,23E+10	17,14	13,87	64	1,67E-14
4	7,11E+09	17,00	8,15	44	2,74E-14
5	9,88E+09	16,62	7,12	45	2,58E-14
6	9,89E+09	16,34	7,15	41	2,56E-14
7	7,90E+09	16,81	6,63	31	3,10E-14
8	9,57E+09	16,53	6,60	30	2,86E-14
9	1,50E+10	16,98	7,65	57	1,82E-14
10	2,91E+10	17,61	7,02	111	7,38E-15
12	1,62E+11	17,51	6,13	629	1,20E-15

2810ppm

pH	α (mkg^{-1})	Umidade Torta (%)	% Sólidos filtrado	TF (s)	K (L/R)
2	1,01E+10	17,43	5,68	57	2,38E-14
4	8,32E+09	17,33	6,52	39	2,84E-14
6	6,77E+09	17,24	6,02	33	3,67E-14
7	7,67E+09	17,06	5,59	33	3,49E-14
8	8,45E+09	17,16	5,28	37	3,16E-14
9	1,02E+10	17,38	6,79	39	2,46E-14
10	1,33E+10	17,84	7,05	52	1,72E-14
12	9,85E+10	17,40	5,64	397	2,48E-15

5600ppm

pH	α (mkg^{-1})	Umidade Torta (%)	% Sólidos filtrado	TF (s)	K (L/R)
2	2,50E+10	17,91	6,08	111	9,55E-15
6	7,88E+09	17,39	5,80	32	2,91E-14
8	6,57E+09	17,56	5,20	28	3,76E-14
10	1,84E+10	18,47	6,49	69	1,33E-14
12	1,80E+10	17,38	6,57	58	1,30E-14

ANEXO 8

Ensaios de filtragem de polpa de quartzo (-38μm) contendo 40% de sólidos em função da concentração de *M. phlei*.

0ppm

pH	α (mkg^{-1})	Umidade Torta (%)	% Sólidos filtrado	TF (s)	K (L/R)
2.04	4.58E+05	29.32	3.67	16	
3.02	4.84E+05	32.42	4.47	16	9.35E-12
6.03	5.55E+05	29.39	2.38	15	8.15E-12
8	5.05E+05	29.57	2.72	14	8.74E-12
9.98	3.15E+05	31.32	3.44	11	1.10E-11
11.96	2.98E+05	33.68	4.40	11	1.35E-11

1000ppm

pH	α (mkg^{-1})	Umidade Torta (%)	% Sólidos filtrado	TF (s)	K (L/R)
2.97	4.77E+05	32.52	6.66	11	1.14E-11
4.09	3.75E+05	32.32	5.16	14	1.06E-11
6.04	3.90E+05	33.27	5.21	11	1.15E-11
8.06	3.28E+05	32.51	2.84	14	1.05E-11
10.05	2.53E+05	32.18	3.07	13	1.18E-11
11.94	3.13E+05	33.32	3.14	11	1.11E-11

2810ppm

pH	α (mkg^{-1})	Umidade Torta (%)	% Sólidos filtrado	TF (s)	K (L/R)
3.03	4.11E+05	32.43	4.11	11	1.14E-11
4	3.10E+05	32.86	3.76	12	1.33E-11
6.03	2.98E+05	33.50	3.89	11	1.22E-11
8.06	3.32E+05	31.86	3.24	11	1.08E-11
9.95	2.71E+05	34.75	3.52	10	1.21E-11
11.91	3.98E+05	34.49	2.75		1.04E-11