Journal of Mineral Resources Engineering, 8(4): 103-118, (2023)

Imam Khomeini International University
Vol. 8, No. 4, Winter 2023

نشریه مهندسی منابع معدنی
Journal of Mineral Resources Engineering (JMRE)

Research Paper

A Review on Bioflotation and Bioflocculation of Galena

Abedi Ashkavandi R.[1], Azimi E.[2*], Hosseini M.R.[3]

1- M.Sc, Dept. of Mining Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Dept. of Mining Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Dept. of Mining Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Received: 21 Sep. 2022 **Accepted: 22 Jan. 2023**

Abstract: In recent decades, the application of microorganisms and their products for the bioseparation of minerals, bioflotation, and bioflocculation, has been extensively recognized by researchers and industry. Considering several benefits of the bioseparation, in the current paper, a detailed review has been conducted on the bioseparation of galena from its most common accompanying minerals i.e. sphalerite, chalcopyrite, and pyrite using microorganisms and their extracellular products. Based on the findings, the bacterial cells of the *Thiobacillus* species have a good ability to depress and selectively flocculate galena, but the cells of the *Polymyxa* species have a lower ability. Therefore, they depress and flocculate most of the sulfide minerals present in the pulp. In addition, the adaptation of bacteria, especially *polymyxa* species with galena and other minerals will increase extracellular secretions of protein or polysaccharides. Adapted *Bacillus subtilis* and *Bacillus megatrium* can separate galena. Due to the hydrophobic nature of extracellular proteins, their less absorption on the surface of galena compared to sphalerite, causes the second mineral to be floated and the galena to be depressed. On the other hand, adaptation leads to more protein secretion in the presence of galena compared to pyrite, which will cause galena to float and the second mineral to be depressed. Also, it can be said that the tendency of extracellular polysaccharides to adsorb on galena and the tendency of extracellular proteins to adsorb on sphalerite causes that when the mixture of these two minerals comes into contact with bacterial EPS, galena is usually depressed or flocculated and sphalerite floats to some extent.

Keywords: Microorganism, Bioflotation, Bioflocculation, Galena.

How to cite this article
Abedi Ashkavandi, R., Azimi, E., and Hosseini, M. R. (2023). *"A review on bioflotation and bioflocculation of galena"*. Journal of Mineral Resources Engineering, 8(4): 103-118.
DOI: 10.30479/JMRE.2023.17861.1604

*Corresponding Author Email: *eazimi@cc.iut.ac.ir*

COPYRIGHTS
©2023 by the authors. Published by Imam Khomeini International University.
This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

INTRODUCTION

Galena ore consists of galena mineral with 86.6% lead content and is usually accompanied by economically valuable minerals containing Pb, Ag, Cu, and Zn containing minerals. Ore is usually processed using physical separation methods (i.e., shaking tables, jig, heavy media cyclone, Dayana whirlpool, spiral, etc.) or flotation for the production of 50 to 70% lead content concentrate, which is consequently processed further for pure lead by various methods such as direct melting or leaching.

Conventional flotation uses chemical agents to modify minerals surfaces in a fluid environment to selectively attach valuable minerals to the air bubbles and separate them accordingly. In chemical flocculation, agents such as flocculants and coagulant form flocs of fine particles and enhance their sedimentation rate as well as separation [1]. Recently the new methods of bioflotation and bioflocculation gained attention due to the high chemical agent cost, chemical stability of the toxic agents, and consequently raised environmental issues [2-4]. Numerous research conducted on bioflotation and bioflocculation of galena minerals has proved that the interaction between bacterial cells or extracellular polymeric substances (EPS) and galena modifies mineral surface and could be employed as a biocollector or bioflocculant.

The biological separation of valuable minerals, as a novel method of mineral treatment, has gained attention recently. In such a separation system, the interaction between the mineral surface and the microbial growth culture, cells, and microbial metabolites (i.e., extracellular proteins and polysaccharides) modify the surface and consequent functioning behavior similar to collector, depressant, and flocculants which cause particle separation.

METHODS

Microorganisms participate in varieties of environmental and geochemical processes by energy, electric charge, and material transfer between mineral and solution complexes. Considering the changes raised due to microorganisms' existence on the mineral surfaces, they are considered suitable alternatives to chemical reagents employed in mineral separation. Among the major classes of microorganisms like fungi, yeasts, algae, and lipids, bacterial species play a stronger role in the biotreatment of minerals [5,6]. Almost 90% of the mass of microorganisms consists of proteins, polysaccharides, lipids, phospholipids and nucleic acids.

Bacillus species such as *Bacillus subtilis*, *Bacillus polymyxa*, *Paenibacillus polymyxa* and *Bacillus megaterium* are the most common heterotroph, mesophile, gram-positive and rod-shape bacteria which are used vastly in the biotreatment of galena as the biocollectors, biodepressants and bioflocculants.

Cellular charge and hydrophilic characteristics of gram-negative bacteria originate from the polysaccharides forming their cellular walls [7-9].

Microorganisms approach mineral surfaces and adhere to them to access nutrition, if feasible. Three major mechanisms could affect the mineral-microorganism interaction: microbial cells' attachment to the solid surface, the occurrence of oxidation-reduction reactions and the surface adsorption or the chemical reaction between the mineral surface and EPS of microorganisms [10]. Generally, the surface of all microorganisms, due to the presence of phosphates, carboxylate, and sulfides in their cellular walls, presents a negative charge [6].

A review on the bioseparation of galena declared that mostly the heterotroph and mesophile bacteria and their products were considered for the biotreatment of galena compared to the other microorganisms. It should be mentioned that most of the studies focused on the separation of lead and zinc sulfide minerals (i.e., galena and sphalerite). the interaction of galena and bacterial cells or their EPS improves its hydrophilicity. This will result in the depression of galena in the flotation process and will improve its floc formation in separation through flocculation.

FINDINGS AND ARGUMENT

The effect of bacterial cells

Heterotroph and autotroph bacterial cells can modify the galena surface. Heterotrophic bacteria have rapid growth kinetics, high cell density and more EPS compared to autotrophic bacteria which attain their energy through the oxidation of mineral surfaces. Due to the consumption of organic carbon by heterotrophic bacteria, their attachment to the mineral surfaces is less probable and is strongly affected by environmental conditions [11,12]. Due to the abundance of necessary chemicals, room temperature adaptability and lower

energy requirements, in most bioflotation and bioflocculation studies, heterotrophic mesophilic bacteria are utilized. In the case of sulfide minerals, especially galena, since iron and sulfur-oxidizing bacteria are chemo-autotroph that require an acidic environment where biooxidation of galena surface as well as dissolution of other sulfide minerals occurs, heterotrophic bacteria are preferred.

Considering the published research results, *Thiobacillus* species present strong capacities for depression and selective flocculation of galena, but *Polymyxa* species act less selectively and depress all sulfides. Adsorption of *Thiobacillus* species is through the formation of insoluble lead sulfide on the galena surface that is pH-independent in the case of *Polymyxa* sp. proving the chemical adsorption of the bacterial cells on the sulfide minerals.

Effect of bacterial cells adaptation

Studies showed that bacterial cell adaptation improves bioseparation efficiency. During the adaptation phase, bacterial cells are in contact with minerals at the growth stage and produce certain compounds on the cell surface or in the form of EPS relevant to the contacted mineral. Adaptation might cause morphological changes in the bacterial cells, EPS production and also bacterial surface charge [7,13,14].

Studies showed that the adaptation of the microorganisms with galena and other minerals will increase the protein or polysaccharides portion of the produced EPS. The adapted *Bacillus subtilis* and *Bacillus megaterium* presented strong selective separation capacities for galena. Due to the lower hydrophobic characteristics of extracellular portions and their higher adsorption tendencies for the galena surface, they encourage sphalerite flotation while discouraging galena. On the contrary, more protein production in the presence of galena compared to pyrite, causes galena flotation against pyrite.

Effect of protein and extracellular polysaccharides

The EPS produced by bacteria has been tested for the selective separation of galena from other minerals. EPS consists of proteins, carbohydrates and organic acids, which could attach to the mineral surface, create a biofilm and alter surface characteristics. In general, amino acids of proteins reinforce surface hydrophobicity, while carbohydrates in the EPS strengthen the hydrophilicity of the minerals [6,15]. EPS characteristics are determined by the culture medium, bacterial growth and growth duration. Maximum production of protein and polysaccharides is obtainable if growth is kept at the exponential phase and there are no limitations on the necessary nutrition and elements for bacterial growth. Studies showed that the adaptation of the bacterial cells with galena enhances EPS production [13,16].

A thorough review of the reports reveals that the extracellular polysaccharides tend to be adsorbed on the galena while extracellular polymers are attracted to the sphalerite surface once both minerals are in contact with EPS. Therefore, galena is depressed or flocculated and sphalerite tends to float under the mentioned conditions. The floatability of sphalerite is significantly improved once some chemical collector is added to the process.

CONCLUSION

A review of the published papers and reports suggests a successful bioseparation of galena from the most common minerals accompanying it by bioflotation and bioflocculation processes. The adsorption of bacterial cells and their metabolic products on galena, sphalerite, chalcopyrite and pyrite surfaces occurs due to electrostatic, hydrophobic, Van der Waal's and acid-base forces.

Reviewing the available literature implies that extracellular proteins generally improve hydrophobicity, while extracellular polysaccharides enhance the hydrophilicity of the galena surface, which could be used in selective bioflotation or biodepression (i.e., bioseparation) of galena from accompanying minerals. It has been proved that the adaptation of the microorganisms with minerals improves bioflotation or bioflocculation of the mineral with bacterial cells or the produced EPS, compared to the independent growth of the microorganisms.

REFERENCES

[1] Wills, B. A., and Finch, J. (2015). *"Wills' mineral processing technology: an introduction to the practical aspects of ore treatment and mineral recovery"*. Butterworth-Heinemann, 265-380.

[2] Hosseini, M. R., Bahrami, A., Ahmadi, A., Azizinia, M. R., and Azimi, E. (2019). *"Application of differential bio-*

flocculation in the removal of hematite and goethite from kaolin and quartz". Chemical Engineering Communications, 206(6): 815-827.

[3] Rao, K. H., Vilinska, A., and Chernyshova, I. (2010). *"Minerals bioprocessing: R & D needs in mineral biobeneficiation".* Hydrometallurgy, 104(3-4): 465-470.

[4] Ashkavandi, R. A., Azimi, E., and Hosseini, M. R. (2022). *"Bacillus licheniformis a potential bio-collector for Barite-Quartz selective separation".* Minerals Engineering, 175: 107285.

[5] Singh, A., Van Hamme, J. D., and Ward, O. P. (2007). *"Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects".* Biotechnology Advances, 25(1): 99-121.

[6] Donati, E. R., and Sand, W. (2007). *"Microbial processing of metal sulfides"*. Springer, 35-58.

[7] Rea, S., McSweeney, N., Dwyer, R., and Bruckard, W. (2015). *"Application of biotechnology in iron ore beneficiation, in Iron Ore"*. Elsevier, 373-391. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-156-6.00013-7.

[8] Handraprabha, M., and Natarajan, K. (2009). *"Microbially induced mineral beneficiation".* Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review, 31(1): 1-29.

[9] Mozes, N. (1991). *"Microbial cell surface analysis"*. VCH Publishers, pp. 368.

[10] Rao, K. H., and Subramanian, S. (2007). *"Bioflotation and bioflocculation of relevance to minerals bioprocessing, in Microbial processing of metal sulfides"*. Springer, 267-286.

[11] Bosecker, K. (1997). *"Bioleaching: metal solubilization by microorganisms".* FEMS Microbiology Reviews, 20(3-4): 591-604.

[12] Groudev, S. (1987). *"Use of heterotrophic microorganisms in mineral biotechnology".* Acta Biotechnologica, 7(4): 299-306.

[13] Vasanthakumar, B., Ravishankar, H., and Subramanian, S. (2017). *"Selective bio-flotation of sphalerite from galena using mineral–adapted strains of Bacillus subtilis".* Minerals Engineering, 110: 179-184.

[14] Bleeze, B., Zhao, J., and Harmer, S. L. (2018). *"Selective attachment of Leptospirillum ferrooxidans for separation of chalcopyrite and pyrite through bio-flotation".* Minerals, 8(3): 86.

[15] Dunne, W. M. (2002). *"Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?"*. Clinical Microbiology Reviews, 15(2): 155-166.

[16] Vasanthakumar, B., Ravishankar, H., and Subramanian, S. (2013). *"Microbially induced selective flotation of sphalerite from galena using mineral-adapted strains of Bacillus megaterium".* Colloids Surfaces B: Biointerfaces, 112: 279-286.

نشریه مهندسی منابع معدنی، سال ۱۴۰۲، دوره هشتم، شماره ۴، ص ۱۱۸-۱۰۳

نشریه مهندسی منابع معدنی
Journal of Mineral Resources Engineering (JMRE)

دانشگاه بین المللی امام خمینی
IMAM KHOMEINI INTERNATIONAL UNIVERSITY

دوره هشتم، شماره ٤، زمستان ۱٤۰۲، صفحه ۱۰۷ تا ۱۱۸
Vol. 8, No. 4, Winter 2023, pp. 107-118

علمی-پژوهشی

مروری بر بیوفلوتاسیون و بیوفلوکولاسین کانی گالن

رسول عابدی اشکاوندی[۱]، ابراهیم عظیمی[۲*]، سید محمد رئوف حسینی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی معدن، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
۲- استادیار، دانشکده مهندسی معدن، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
۳- دانشیار، دانشکده مهندسی معدن، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

دریافت: ۱٤۰۱/۰٦/۳۰ پذیرش: ۱٤۰۱/۱۱/۰۲

چکیده

در چند دهه اخیر، استفاده از میکروارگانیسم‌ها و محصولات آنها برای جداسازی زیستی کانی‌ها، به ویژه بیوفلوتاسیون و بیوفلوکولاسیون، بیشتر مورد توجه محققان و صنایع قرار گرفته است. با توجه به مزایای روش‌های زیستی، در این پژوهش به بررسی مطالعات انجام گرفته بر روی جداسازی گالن از کانی‌های معمول همراه آن از جمله اسفالریت، کالکوپیریت و پیریت به کمک میکروارگانیسم‌ها و ترشحات خارج سلولی آنها و نتایج حاصله پرداخته شده است. بر اساس یافته‌ها، سلول‌های باکتریایی گونه *تیوباسیلوس*، توانایی مناسبی برای بازداشت و فلوکولاسیون انتخابی گالن دارند، لیکن سلول‌های گونه *پلیمیکسا*، توانایی بازداشت و فلوکولاسیون انتخابی پایینی داشته و اکثر کانی‌های سولفیدی حاضر در پالپ را بازداشت یا فلوکوله می‌کند. به علاوه، سازگار کردن باکتری‌ها، به ویژه گونه *پلیمیکسا* با گالن و کانی‌های همراه، باعث افزایش ترشحات خارج سلولی از جنس پروتئینی یا پلی‌ساکاریدی خواهد شد. باکتری‌های سازگار شده *باسیلوس سابتیلیس* و *باسیلوس مگاتریوم*، توانایی جداسازی گالن را دارند. با توجه به ماهیت آبرانی پروتئین‌های خارج سلولی، جذب کمتر آنها بر روی سطح گالن در مقایسه با اسفالریت، باعث شناوری کانی دوم و بازداشت گالن می‌شود. در مقابل، ترشح بیشتر پروتئین در حضور گالن نسبت به پیریت، در اثر سازگاری، باعث شناوری گالن و بازداشت کانی دوم خواهد شد. همچنین، می‌توان گفت که تمایل پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی به جذب بر روی گالن و تمایل پروتئین‌های خارج سلولی به جذب بر روی اسفالریت باعث می‌شود که در صورت تماس مخلوط این دو کانی با EPS باکتریایی، معمولا گالن بازداشت یا فلوکوله شده و اسفالریت تا حدی شناور شود.

کلمات کلیدی

میکروارگانیسم، بیوفلوتاسیون، بیوفلوکولاسیون، گالن.

استناد به این مقاله
عابدی اشکاوندی، ر.، عظیمی، ا.، حسینی، س. م. ر.؛ ۱۴۰۲؛ "**مروری بر بیوفلوتاسیون و بیوفلوکولاسین کانی گالن**". نشریه مهندسی منابع معدنی، دوره هشتم، شماره ۴، ص ۱۱۸-۱۰۳.

DOI: 10.30479/JMRE.2023.17861.1604

* نویسنده مسئول و عهده دار مکاتبات Email: eazimi@cc.iut.ac.ir

حق‌مؤلف © نویسندگان
ناشر: دانشگاه بین المللی امام خمینی(ره)

۱- مقدمه

کانسنگ گالن حاوی کانی گالن (PbS) با ٪۸۶٫۶ سرب و دیگر کانی‌های حاوی عناصری مانند سرب، نقره، مس و روی، اهمیت اقتصادی فراوانی دارد. عموما از سنگ معدن حاوی سرب با استفاده از روش‌های متعددی چون جدایش فیزیکی (میزلرزان، جیگ، سیکلون واسطه سنگین، دایناویرپول، اسپیرال و نظایر آن) و یا فلوتاسیون، کنسانتره‌ای با عیار ٪۵۰ تا ٪۷۰ سرب تهیه شده و سپس با استفاده از روش‌هایی چون ذوب مستقیم و لیچینگ، سرب خالص برای صنایعی مانند باطری‌سازی، صنایع رنگ و سرامیک، صنایع آلیاژی و پوششی (مقاوم به خورندگی) تولید می‌شود. با توجه به کاهش معادن حاوی سرب با عیار بالا، استفاده از روش فلوتاسیون برای تولید کنسانتره عیار بالا (گاه پس از یک مرحله پیش فرآوری فیزیکی)، طراحی و استفاده می‌شود.

در روش فلوتاسیون کلاسیک با بهره‌گیری از مواد شیمیایی مختلف جهت اعمال تغییرات انتخابی بر روی سطوح کانی‌ها در یک محیط سیال و در حضور حباب هوا، مواد با ارزش از گونه‌های ناخواسته جدا می‌شوند [۱]. در روش فلوکولاسیون شیمیایی نیز از مواد شیمیایی مختلفی مانند کواگولانت‌ها و یا فلوکولانت‌ها (عموما پلیمرهایی با زنجیره بلند) برای ایجاد لخته و افزایش سرعت ته‌نشینی ذرات برای جدایش استفاده می‌شود [۳،۲]. اخیرا دو فرآیند بیوفلوتاسیون[1] و بیو فلوکولاسیون[2] به جای روش‌های قدیمی به دلایلی چون هزینه بالای مواد شیمیایی و غیر قابل تجزیه بودن مواد به کار رفته در روش‌های معمول، که به مشکلات آلودگی محیط زیست و آب‌های زیرزمینی منجر می‌شود، مورد توجه محققان قرار گرفته است [۶-۴]. ایجاد و اعمال قوانین سختگیرانه محیط زیستی که عاملی محدودکننده برای استفاده بیش از حد مواد شیمیایی خطرناک و سمی در صنایع فرآوری مواد معدنی شده و همچنین هزینه‌های بسیار بالای حفظ سلامتی عمومی، محیط زیست، دفع، بازیافت و تصفیه باطله‌های معدنی که به طور مستقیم بر هزینه‌ها در بازار رقابتی این صنعت تاثیر منفی می‌گذارند، از دیگر مشوقین محققان و صنایع برای توجه بیشتر به استفاده از روش‌های دوستدار محیط زیست شده است [۸،۷]. در هر دو روش، به کمک میکروارگانیسم‌ها و مواد تولیدی آن‌ها که باعث ایجاد تغییرات در خواص سطحی کانی‌ها می‌شوند، می‌توان به همان اهداف مد نظر در روش‌های شیمیایی متناظر دست یافت. علیرغم انعطاف‌پذیری، غیرسمی بودن و کم بودن آلودگی محیط زیست، استفاده از روش‌های بیولوژیکی محدودیت‌هایی دارد که باعث عدم توسعه کامل این روش‌ها در مقیاس صنعتی شده است [۱۴-۹]. در تحقیقات انجام شده در زمینه بیوفلوتاسیون و بیوفلوکولاسیون کانی گالن، ثابت شده است که در اثر تعاملی که سلول‌ها و مواد پلیمری خارج سلولی[3] (EPS) میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها با کانی گالن دارند، با تغییر در خواص سطحی این کانی توانسته‌اند به عنوان کلکتور، بازداشت‌کننده و یا فلوکولانت زیستی در فرآوری آن عمل کنند.

هدف این مقاله، بررسی مبانی و مفاهیم عمومی فرآیندهای زیستی مرتبط با فرآوری مواد معدنی و بررسی و ارزیابی کارهای انجام گرفته در زمینه بیوفلوتاسیون و بیوفلوکولاسیون گالن و کانی‌های عمده همراه آن به واسطه وجود میکروارگانیسم‌ها یا محصولات آنها و تاثیر تعامل میکروارگانیسم‌ها با کانی‌های مذبور بر روی رفتار این کانی‌ها در دو فرآیند یاد شده است. در راستای نیل به این اهداف، ابتدا به تشریح مفاهیم عمومی جداسازی زیستی مواد معدنی و میکروارگانیسم‌ها پرداخته می‌شود، سپس تاثیر وجود سلول‌های باکتری سازگار شده و یا غیرسازگار با مواد معدنی و ترشحات خارج سلولی آن‌ها شامل پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها بر روی فلوتاسیون و فلوکولاسیون کانی گالن و کانی‌های عمده همراه آن بررسی می‌شود. در نهایت با توجه به مجموعه مطالعات انجام گرفته که بر حسب اطلاع نویسندگان اکثر مقالات علمی انتشار یافته در این زمینه هستند، نتیجه‌گیری کلی از این بررسی بیان می‌شود.

۲- جداسازی زیستی مواد معدنی

جداسازی زیستی کانی‌های باارزش که در چند دهه اخیر به عنوان روشی نوین در زمینه فرآوری مواد معدنی وارد شده است، در موارد متعددی از جمله جدایش گالن از کانی‌های همراه، توانسته نتایج امیدوارکننده‌ای را ارایه دهد. در این روش، با استفاده از تعامل عواملی همچون محیط کشت میکروبی، سلول‌ها و متابولیت‌های میکروبی (پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی[4]) با سطح کانی‌ها و ایجاد تغییر در سطوح کانی‌ها به عنوان عملگرهایی مانند کلکتور، بازداشت‌کننده و فلوکولانت جدایش قابل قبولی از کانی‌های منتخب به دست می‌آید. در قالب کلی و از دیدگاه فرآوری مواد معدنی، می‌توان جداسازی زیستی را به دو فرآیند بیوفلوتاسیون و بیوفلوکولاسیون تقسیم‌بندی کرد. عواملی مانند ترکیب محیط کشت، غلظت

تلقیح میکروارگانیسم، سازگاری سلول‌های میکروبی با کانی‌ها، زمان تماس سلول‌های میکروبی و ترشحات خارج سلولی آن‌ها با سطح کانی‌ها، اندازه ذرات، دانسیته پالپ و pH در کیفیت عملیات جداسازی زیستی مواد معدنی تاثیرگذار هستند [۱۶،۱۵،۴]. در ادامه، با توجه به منابع موجود، به بررسی نقش نوع میکروارگانیسم‌ها، محصولات تولیدی آنها و کاربرد آن‌ها در فرآوری زیستی گالن پرداخته می‌شود.

۳- میکروارگانیسم‌ها و نقش آنها در بیوفلوتاسیون و بیوفلوکولاسیون گالن

میکروارگانیسم‌ها با انتقال انرژی، بار الکتریکی و مواد در کمپلکس‌های زیستی حد فاصل بین کانی و محلول، فرآیندهای متنوع محیطی و ژئوشیمیایی را به وجود می‌آورند. با توجه به تغییرات ناشی از وجود میکروارگانیسم‌ها در خواص سطحی کانی‌ها، امروزه آنها به عنوان گزینه مناسبی برای جایگزینی برخی از مواد شیمیایی مورد استفاده در جدایش کانی‌ها مطرح شده‌اند. میکروارگانیسم‌های اصلی شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها[۵]، مخمرها[۶] و جلبک‌ها[۷] هستند، که از میان آنها گونه‌های باکتریایی در زمینه فرآوری زیستی کانی‌ها نقش پررنگ‌تری دارند [۱۷،۱۱،۹]. حدود ٪۹۰ از جرم مواد تشکیل‌دهنده میکروارگانیسم‌ها شامل پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، لیپیدها[۸]، فسفولیپیدها و نوکلئیک اسید است [۱۱].

در این میان، باکتری‌های گونه *باسیلوس* و محصولاتشان مانند باکتری‌های *باسیلوس سابتلیس*[۹]، *باسیلوس پلیمیکسا*[۱۰]، *پنی‌باسیلوس پلیمیکسا*[۱۱] و *باسیلوس مگاتریوم*[۱۲] پرکاربردترین باکتری‌های هتروتروف[۱۳]، مزوفیل، گِرَم مثبت[۱۴] و میله‌ای شکل‌اند که در تحقیقات انجام گرفته در زمینه فرآوری زیستی کانی گالن به عنوان کلکتور، بازداشت‌کننده و فلوکولانت زیستی مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

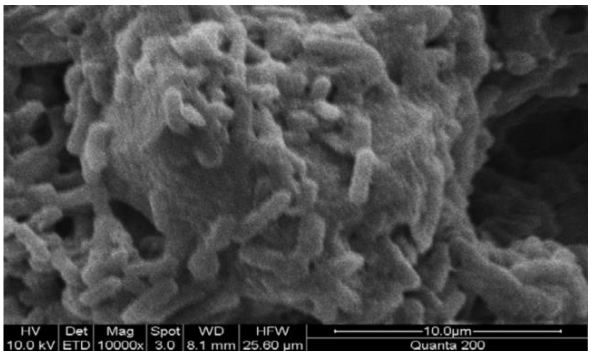
پاسخ باکتری‌ها به رنگ آمیزی گِرَم، یکی از معیارهای تقسیم‌بندی آنها است. در این روش، از رنگ کریستال بنفش، محلول ید، الکل و سافرانین استفاده می‌شود. در صورتی که باکتری‌ها رنگ ارغوانی ناشی از ترکیب رنگ کریستال بنفش با ثابت کننده محلول ید را با اضافه کردن الکل از دست داده و در وجود سافرانین به رنگ قرمز در آیند، به اصطلاح، گرم منفی و در صورت حفظ رنگ، گرم مثبت نامیده می‌شوند. تفاوت‌های شیمیایی و ساختاری در دیواره سلولی (بود یا نبود غشاء بیرونی) باعث بروز چنین رفتاری می‌شود [۱۸،۱۵].

در واقع، حدود ٪۴۰ تا ٪۹۰ دیواره باکتری‌های گرم مثبت از یک دیواره سلولی ضخیم شامل ۲۵ الی ۴۵ لایه پپتیدوگلیکان حاوی مشتقات قندی و اسیدهای آمینه تشکیل می‌شود و بقیه ساختار دیواره را پلیمرهای آنیونی (تیکوئیک اسید و تیکورونیک اسید) که به وسیله لایه پپتیدوگلیکان بهم متصل شده‌اند، تشکیل می‌دهند. در مورد باکتری‌های گرم منفی، یک لایه نازک پپتیدوگلیکان بدون تیکوئیک اسید به همراه یک غشاء فسفولیپید خارجی که حاوی پروتئین‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدها است، تشکیل‌دهنده دیواره سلول است. بار سلولی و خاصیت آبدوستی باکتری‌های گرم منفی تحت تاثیر پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای تشکیل‌دهنده دیواره سلول هستند [۲۱-۱۹]. وجود رشته‌های پلی‌ساکاریدی بر سطح باکتری‌های گرم منفی، به آنها خاصیت آبدوستی می‌دهد.

در واقع، میزان بار سلولی، خواص فیزیکی، شیمیایی و آبگریزی باکتری‌ها تابعی از پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای تشکیل‌دهنده سلول‌ها بوده و اتصال انتخابی آن‌ها بر روی سطوح مواد معدنی، به واسطه وجود مواد پلیمری و بیومولکول‌ها روی سطح سلول‌های باکتری، کنترل و انجام‌پذیر می‌شود. سطوح مواد معدنی که سلول‌ها بر روی آن جذب شده‌اند، مستقل از خواص سطحی آن کانی و تابع خواص ظاهری سطح باکتری جذب شده است. میکروارگانیسم‌ها به دلایل مختلفی از جمله دسترسی به مواد غذایی، خود را به سطح کانی‌ها نزدیک کرده و در صورت امکان، اتصال ایجاد می‌کنند. عموما تمام سطوح در معرض، برای اتصال مناسب نبوده و نقاطی با تفاوت قطبیت و یا با تمایلات آبگریزی (هیدروفوبی[۱۵]) در ارجحیت هستند [۲۲،۹]. سه مکانیزم عمده شامل اتصال سلول‌های میکروبی به سطح جامد و تغییر خواص سطحی آن، رخ دادن واکنش‌های اکسیداسیون-احیا و جذب سطحی و یا واکنش شیمیایی سطح کانی با مواد پلیمری خارج سلولی میکروارگانیسم‌ها برای تعامل میکروارگانیسم‌ها با سطوح کانی‌ها می‌توان در نظر گرفت [۱۵].

جذب سلول‌های میکروبی به برخی از سطوح جامد نیز به محیط رشد آن‌ها بستگی دارد که دلیل آن، ظرفیت‌های جذب مختلف برخی گونه‌های میکروبی رشد کرده در شرایط مختلف و تولید مواد پلیمری خارج سلولی و نقش مهم آن‌ها در اتصال است [۲۴-۲۲]. اتصال سلول‌های میکروبی و ترشحات خارج سلولی آن‌ها به سطح مواد معدنی شامل دو مرحله برگشت‌پذیر و برگشت‌ناپذیر است. نزدیک شدن باکتری‌ها به سطوح جامد

به صورت اتفاقی، بر اثر گرادیان شیمیایی[۱۶] و یا جابه‌جایی طبیعی خود باکتری اتفاق می‌افتد [۲۶،۲۵]. در مرحله برگشت‌پذیر، اتصال اولیه به وسیله عوامل فیزیکی و شیمیایی که در این تعامل نقش دارند، کنترل می‌شود. در حالی که در مرحله برگشت‌ناپذیر، پیوند قوی مولکولی ایجاد شده با سطح مواد معدنی به واسطه تولید مواد پلیمری خارج سلولی، بیشتر تثبیت شده و به تجمع باکتری‌ها در سطوح مواد معدنی و تشکیل بیوفیلم[۱۷] منجر می‌شود [۲۷،۲۵]. میکروارگانیسم‌ها تمایل بیشتری برای جذب و تشکیل بیوفیلم در مناطق ترک خورده، تراشیده و یا خرد شده دارند [۱۹]. نیروهای مختلفی مانند نیروهای الکترواستاتیکی[۱۸]، واندروالسی، تعاملات اسید و باز، آبگریزی و پیوند هیدروژنی همراه با ویژگی‌های سطحی میکروبی مانند بار سطحی، خاصیت آبگریزی سطح و انرژی‌های سطحی سلول‌ها، در ایجاد اتصال دخیل‌اند که می‌توان ماهیت برخی از آنها را با انجام مطالعات جذب، مقادیر پتانسیل زتا[۱۹] و آنالیزهای طیف‌سنجی (طیف مادون قرمز) مطالعه و تایید کرد [۲۸،۱۵،۱۰]. به طور کلی، بار سطحی همه میکروارگانیسم‌ها به دلیل وجود گروه‌های فسفات، کربوکسیلات و سولفات در دیواره سلولی آن‌ها، منفی است [۹]. در شکل ۱ جذب سلول‌های باکتری *باسیلوس پلیمیکسا* بر روی سطح کانی گالن به وسیله تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داده شده است.



شکل ۱: تصویر باکتری *باسیلوس پلیمیکسا* جذب شده بر روی سطح کانی گالن تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (ذرات با شکل کپسولی مانند نشانگر باکتری‌ها بوده و سطح کانی گالن، سطوح جامد عاری از باکتری‌ها و یا پوشیده شده از آن است) [۲۹]

خلاصه‌ای از تحقیقات انجام شده در زمینه بیوفلوتاسیون در جدول ۱ و تحقیقات انجام شده در زمینه بیوفلوکولاسیون کانی گالن در بود یا نبود کانی دیگر به کمک میکروارگانیسم‌های مختلف و محصولات خارج سلولی آن‌ها در جدول ۲ آورده شده است.

جدول‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهند که باکتری‌های مزوفیل و هتروتروف و محصولات تولیدی آن‌ها، بیش از دیگر میکروارگانیسم‌ها برای جدایش گالن مورد توجه محققان بوده است. لازم به ذکر است که اکثر کارهای انجام گرفته بر جدایش انتخابی دو کانی سولفیدی گالن و اسفالریت متمرکز بوده است. در نتیجه تعامل کانی گالن با سلول‌های باکتری‌ها و ترشحات خارج سلولی آن‌ها (پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی)، عموما این کانی در سیستم فلوتاسیون بازداشت و در سیستم فلوکولاسیون به خوبی فلوکوله شده و تقریبا به راحتی از بقیه کانی‌ها جدا می‌شود که در ادامه به بررسی بیشتر آن پرداخته شده است.

۳-۱- تاثیر سلول‌های باکتری

انواع باکتری‌های هتروتروف و آتوتروف[۲۰]، خواص سطحی گالن را تحت تاثیر قرار می‌دهند و به عنوان کلکتور و یا بازدارنده در عملیات فلوتاسیون و یا با ایجاد پل‌های چسبنده بین ذرات، باعث فلوکولاسیون ذرات گالن می‌شوند. باکتری‌های هتروتروف، سینتیک رشد سریع، تراکم سلولی بالا و تولیدات زیستی بیشتری در مقایسه با باکتری‌های آتوتروف دارند که از منبع کربن غیرآلی و با اکسید کردن سطح مواد معدنی انرژی خود را به دست می‌آورند. در عین حال، امکان اتصال باکتری‌های هتروتروف به سطح مواد معدنی با توجه به اینکه از منبع کربن آلی به عنوان منبع انرژی خود استفاده می‌کنند، کمتر از باکتری‌های آتوتروف بوده و به عوامل محیطی مختلف دیگری وابسته‌اند [۳۱،۳۰]. با این وجود، به دلیل تولید تنوع گسترده‌ای از مواد آلی جایگزین عوامل شیمیایی و نیاز به دمای محیط و مصرف انرژی پایین، بیشتر تحقیقات صورت گرفته در زمینه بیوفلوتاسیون و بیوفلوکولاسیون، با استفاده از باکتری‌های هتروتروف و مزوفیل انجام گرفته است. در ارتباط با کانی‌های سولفیدی، به ویژه گالن، از آنجا که باکتری‌های آتوتروف مناسب برای کاربردهای معدنی، غالبا از نوع کموتروف و اکسیدکننده آهن و گوگرد هستند، به دلیل نیاز به محیط اسیدی، بیواکسیداسیون سطحی گالن و همچنین، انحلال اکثر

جدول ۱: خلاصه‌ای از تحقیقات انجام شده در زمینه بیوفلوتاسیون کانی گالن (زمان فلوتاسیون برای همه موارد ۳ دقیقه بود)

میکرواگانیسم	نوع[۱]	کانی‌ها[۲]	اندازه ذرات (μm)	سازگاری[۳]	زمان تعامل (min)	pH	نتیجه	شناوری (٪)	منبع
تیوباسیلوس تیواکسیدان	A	Ga-Sp	(۱۰۵- و ۶۳+)	-	۱۲۰	۲/۵ -۹/۹	بازداشت	۱۰	[۳۲]
باسیلوس پلیمیکسا	H	Ga-Sp	(۱۰۵- و ۶۳+)	-	۱۵	۶/۷-۸	بازداشت	۳	[۳۴]
پلی‌ساکارید خارج سلولی *باسیلوس پلیمیکسا*	H	Ga-Sp	(۱۰۵- و ۶۳+)	-	۱۵	۹-۹/۵	بازداشت	۵	[۳۵]
ترشحات خارج سلولی *باسیلوس پلیمیکسا*	H	Ga-Sp	(۱۰۵- و ۶۳+)	-	۱۵	۲/۴ -۳/۳	بازداشت	۳	[۳۶]
سلول‌های *پنی باسیلوس پلیمیکسا*	H	Ga-Cp	(۱۰۵- و ۷۴+)	-	۳۰	۶	شناوری	۳۰	[۲۹]
پروتئین خارج سلولی *پنی باسیلوس پلیمیکسا*				-			شناوری	۶۵	
پلی‌ساکارید خارج سلولی *پنی باسیلوس پلیمیکسا*				-			بازداشت	۱۰	
باسیلوس مگاتریوم	H	Ga-Sp	(۱۵۰-و ۱۰۵+)	+	۳۰	خنثی	بازداشت	۱۰	[۳۷]
باسیلوس سابتلیس	H	Ga-Py	(۱۰۵- و ۷۵+)	+	۶۰	خنثی	شناوری	۹۲	[۳۸]
سلول‌های *پنی باسیلوس پلیمیکسا*	H	Ga-Sp	(۱۰۵- و ۷۴+)	-	۱۵	۵ -۶/۷	شناوری	۲۰	[۳۹]
پروتئین خارج سلولی *پنی باسیلوس پلیمیکسا*				-			شناوری	۶۰	
پلی‌ساکارید خارج سلولی *پنی باسیلوس پلیمیکسا*				-			شناوری	۱۰	
باسیلوس سابتلیس	H	Ga-Sp	(۱۵۰- و۱۰۵+)	+	۳۰	خنثی	بازداشت	۴۰	[۴۰]
پروتئین باسیلوس سابتلیس				+				۲۵	
آلیسیکلوباسیلیوس آسپارژنوس	H	Ga-Py	-۷۵	+	۱۲	۲-۹	شناوری	۹۰	[۶]

[۱] نوع میکروارگانیسم (H: هتروتروف و A: آتوتروف)

[۲] Ga: گالن، Py: پیریت، Sp: اسفالریت، Cp: کالکوپیریت

[۳] سازگاری میکروارگانیسم و یا محصولات تولیدی آنها با کانی‌ها (+)، عدم سازگاری میکروارگانیسم و یا محصولات تولیدی آنها با کانی‌ها (-)

کانی‌های سولفیدی در این شرایط، باکتری‌های هتروتروف ترجیح داده می‌شوند.

همان‌طور که در جدول ۱ آورده شده است، علاوه بر استفاده از باکتری‌های هتروتروف در بیوفلوتاسیون و تاثیر آن‌ها بر شناوری یا بازداشت بیولوژیکی کانی گالن، سانتیا[۲۱] و همکاران [۳۲] طی مطالعه‌ای نشان داده‌اند که باکتری آتوتروف و گرم منفی *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدان*[۲۲] به عنوان بازداشت‌کننده بیولوژیکی گالن عمل می‌کند. مطالعات پتانسیل زتا نشان دادند که نقطه بارصفر[۲۳] (ZPC) گالن پس از تعامل با سلول‌های باکتری به pH های بالاتری منتقل شده و بار سطحی آن کاهش می‌یابد. هر دو عامل، نشان‌دهنده جذب غیرالکترواستاتیکی سلول‌های باکتری به سطح گالن و بر اساس پیوند هیدروژنی است. در عین حال، باکتری *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدان* با توجه به اینکه باکتری اسیدی و اکسیدکننده گوگرد است، بر اساس مکانیسم تشکیل سولفیت، که توسط سوسوکی[۲۴] [۳۳] بیان شده بود، پس از تعامل با گالن به مدت ۱ h و در pH=۲/۲-۲/۵ با جذب در سطح گالن، سولفات سرب پایدار و نامحلول تشکیل می‌دهد. پس از تعامل سلول‌های این باکتری با گالن و فلوتاسیون در pH=۹-۹/۵، حدود ٪۹۰ گالن بازداشت شده و کانی اسفالریت شناور می‌شود. علت شناوری اسفالریت، احتمالا ورود مولکول‌های سولفات روی حاصل از بیواکسیداسیون سولفید روی سطحی ذرات اسفالریت به محلول، به دلیل حلالیت بالای ZnSO4 و تازه شدن سطح ذرات آبگریز اسفالریت است. عملکرد سلول‌های این باکتری بر روی فلوکوله کردن گالن نیز مشهود است. در pH=۹-۹/۵ و در غیاب سلول‌های باکتری، میزان فلوکوله شدن کانی گالن در حدود ٪۷۲ و در وجود سلول‌های باکتری میزان فلوکوله شدن آن به حدود ٪۹۵ افزایش می‌یابد.

جدول ۲: خلاصه‌ای از تحقیقات انجام شده در زمینه بیوفلوکولاسیون کانی گالن (در همه موارد گالن فلوکوله شده است)

میکروارگانیسم	نوع[۱]	کانی‌ها[۲]	اندازه ذرات (μm)	سازگاری[۳]	زمان تعامل (min)	زمان فلوکولاسیون (min)	pH	بازیابی (٪)	منبع
تیوباسیلوس تیواکسیدان	A	Ga-Sp	<۵	-	۱۲۰	۲	۲/۲-۵/۸	۳۰	[۳۲]
							۹-۹/۵	۹۵	
سلول‌های *پنی باسیلوس پلیمیکسا*	H	Ga-Cp	<۵	-	۳۰	۱۵	۵ -۶/۷	۹۵	[۲۹]
پروتئین *پنی باسیلوس پلیمیکسا*				-			۶-۶/۵	۲۵	
پلی‌ساکارید *پنی باسیلوس پلیمیکسا*				-			۳ -۹	۹۵	
باسیلوس پلیمیکسا	H	Ga-Sp	<۵		۱۵	۲	۹-۹/۵	۹۵	[۳۴]
پلی‌ساکارید خارج سلولی *باسیلوس پلیمیکسا*	H	Ga-Sp	<۵	-	۱۵	۲	۹-۹/۵	۹۵	[۳۵]
ترشحات خارج سلولی *باسیلوس پلیمیکسا*	H	Ga-Sp	<۵	-	۱۵	۲	۳-۳/۵	۴۷	[۳۶]
							۹-۹/۵	۹۳	
سلول‌های *پنی باسیلوس پلیمیکسا*	H	Ga-Py	<۳	-	۱۵	۱۵	۵ -۷/۶	۹۰	[۳۹]
پلی‌ساکارید *پنی باسیلوس پلیمیکسا*				-				۹۰	
پروتئین *پنی باسیلوس پلیمیکسا*				-				۲۰	
سلول‌های *باسیلوس سابتیلیس*	H	Ga-Py	۸-۵	+	۶۰	۳	۶/۵ -۷	۲۱	[۳۸]
پروتئین *باسیلوس سابتلیس*				+				۲۶	
ترشحات خارج سلولی *باسیلوس سابتلیس*				+				۲۵	

[۱] نوع میکروارگانیسم (H: هتروتروف و A: آتوتروف)

[۲] Ga: گالن، Py: پیریت، Sp: اسفالریت، Cp: کالکوپیریت

[۳] سازگاری میکروارگانیسم و یا محصولات تولیدی آنها با کانی‌ها (+)، عدم سازگاری میکروارگانیسم و یا محصولات تولیدی آنها با کانی‌ها (-)

این در حالی است که تحت چنین شرایطی، حدود ٪۹۵ از ذرات اسفالریت در حضور سلول‌های باکتری، پراکنده شده و جداسازی انتخابی قابل قبول این دو کانی را به واسطه هر دو روش بیوفلوتاسیون و بیوفلوکولاسیون و در اثر تعامل با این باکتری میسر می‌سازد [۳۲].

در مطالعه‌های مشابه [۴۱،۳۴]، مشاهده شد که جذب سلول‌های باکتری هتروتروف و گرم مثبت *باسیلوس پلیمیکسا* بر سطح گالن، تقریبا مستقل از pH (۱۰-۲) بوده و از ایزوترم جذب نوع لانگمویر[۲۵] پیروی می‌کند. آزمایش‌های فلوتاسیون همراه با باکتری حاکی از بازداشت شدن هر دو کانی اسفالریت و گالن (هر دو کانی ٪۹۶) به وسیله این باکتری است. برای دستیابی به فلوتاسیون انتخابی، پس از تعامل مخلوط دو کانی با سلول‌های باکتری، کلکتور پتاسیم ایزوپروپیل زنتات و سولفات مس برای فعالسازی مجدد سطح اسفالریت بازداشت شده به وسیله باکتری‌ها، به پالپ اضافه و به وسیله فلوتاسیون از گالن جدا شد. جدایش دو کانی به وسیله بیوفلوکولاسیون در حضور این باکتری و در pH=۶/۸-۷/۲ به دلیل فلوکوله شدن هر دو کانی موفقیت‌آمیز نبود. با افزایش pH به مقادیر بازی (۹/۲-۹/۵) و در نتیجه، افزایش دانسیته جذب باکتری بر روی گالن (بیشتر از اسفالریت) و کاهش زمان ته‌نشینی از ۱۵ به ۲ دقیقه، جداسازی انتخابی این دو کانی با استفاده از باکتری *باسیلوس پلیمیکسا* میسر شد. تحت شرایط یاد شده، ٪۹۵ گالن و ٪۲۰ اسفالریت ته‌نشین شدند.

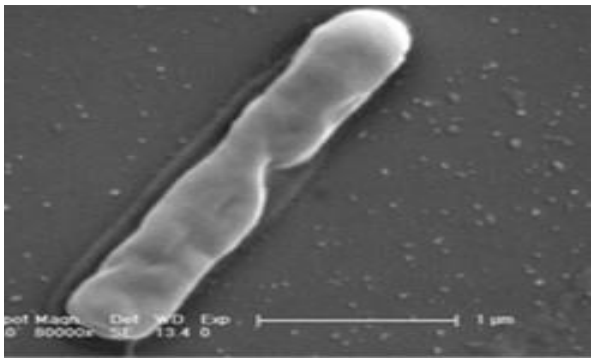
پاترا[۲۶] و همکاران [۳۹] تفاوت در میزان جذب باکتری *پنی باسیلوس پلیمیکسا* را بر روی گالن و پیریت مورد مطالعه و بررسی قرار دادند. آنها نشان دادند که با افزایش pH از مقادیر اسیدی به سمت بازی (۲-۱۰)، میزان جذب باکتری بر روی پیریت کاهش می‌یابد (به صورت پله‌ای در pH حدود ۷)، در حالی که میزان جذب این باکتری بر روی گالن تقریبا مستقل از pH محیط بوده و در یک بازه وسیعی از pH تغییرات بسیار اندکی را نشان داد. طی بررسی‌های انجام شده مشخص شد که میزان جذب این باکتری در pH=۶-۷ بر روی پیریت همچنان بیشتر از گالن است که با افزایش pH به ۱۰، این اختلاف کاهش می‌یابد. در مطالعات بیوفلوتاسیون، شناوری

گالن به میزان ٪۲۰ و در بیوفلوتاسیون نمونه مخلوط دو کانی و بعد از تعامل با سلول‌های باکتری و اضافه کردن کلکتور ایزوپروپیل زنتات، شناوری هر دو کانی به حدود ٪۴۴ رسید که حاکی از عدم موفقیت فرآیند جدایش به وسیله سیستم بیوفلوتاسیون بود. نتایج آزمایش‌های بیوفلوکولاسیون برای جدایش انتخابی دو کانی در محدوده pH=۳-۹ نیز مطلوب نبود. بدون توجه به pH سیستم و پس از تعامل با سلول‌های باکتری، گالن حدود ٪۹۰ و پیریت حدود ٪۹۰-۸۰ فلوکوله شدند و امکان جدایش انتخابی را میسر نکردند. در بررسی دیگری، شناوری و فلوکولاسیون گالن و کالکوپیریت در تعامل با باکتری *پنی باسیلوس پلیمیکسا* توسط همین محقق مقایسه شد که نتایج مشابهی را در پی داشت [۲۹]. میزان شناوری گالن، پس از تعامل با باکتری‌ها (بیوفلوتاسیون) از حدود ٪۲۰ به ٪۳۰ افزایش یافت. در حالی که در pH=۶-۷ حدود ٪۹۰ گالن و ٪۹۵ کالکوپیریت از طریق بیوفلوکولاسیون قابل بازیابی است که عملا جدایش با استفاده از مفهوم بیوفلوکولاسیون را غیرممکن ساخت، بنابراین با استناد به پژوهش‌های صورت گرفته، می‌توان چنین نتیجه گرفت که باکتری‌های گونه *تیوباسیلوس*، توانایی مناسبی برای بازداشت و فلوکولاسیون انتخابی گالن دارند، لیکن گونه *پلیمیکسا*، توانایی بازداشت و فلوکولاسیون انتخابی پایینی داشته و اکثر کانی‌های سولفیدی حاضر در پالپ را بازداشت یا فلوکوله می‌کند. همان‌طور که گفته شد، جذب سطحی باکتری‌های گونه *تیوباسیلوس* از طریق ترسیب سولفات سرب نامحلول بر سطح ذرات گالن انجام می‌شود، در حالی که عدم وابستگی جذب به pH در مورد گونه *پلیمیکسا*، نشان‌دهنده جذب شیمیایی و غیرانتخابی سلول‌ها بر سطح ذرات کانی‌های سولفیدی است.

۳-۲- تاثیر سازگار شدن سلول‌های باکتری

مطالعات انجام گرفته نشان داده است که سازگار کردن کانی‌ها با سلول‌های باکتری نقش بسزایی در افزایش کارآیی جداسازی کانی‌ها دارد. در سازگاری، باکتری‌ها در طول مدت زمان رشد خود در معرض کانی‌ها قرار می‌گیرند و ترکیبات خاصی را در سطح سلول یا در ترشحات خارج سلولی خود که مرتبط با آن ماده معدنی است تولید می‌کنند. سازگاری ممکن است، باعث تغییرات در مورفولوژی[۲۷] سلول‌های باکتری، تغییر در ترکیبات ترشح شده به وسیله باکتری و همچنین بار سطحی آن‌ها شود [۴۲،۴۰،۱۹].

سوبرامانیان[۲۸] و همکاران [۴۰] با سازگار کردن دو کانی سولفیدی گالن و اسفالریت با سلول‌های باکتری *باسیلوس سابتلیس* نشان دادند که سلول‌های باکتری سازگار شده با اسفالریت، پروتئین‌های خارج سلولی بیشتری در مقایسه با همان باکتری که با گالن سازگار شده‌اند، تولید می‌کنند. تفاوت در میزان ترشحات خارج سلولی باعث شناوری حدود ٪۹۰ اسفالریت (بیوفلوتاسیون اسفالریت) و بازداشت گالن شد. طی فرآیند سازگار کردن، ترکیب دیواره سلول باکتری‌های سازگار شده با هر دو کانی تغییر کرد، اما تغییرات مورفولوژی تنها در مورد باکتری‌های سازگار شده با گالن و برای دفع یون‌های سمی Pb^{2+}، مشهود بود (شکل ۲).



شکل ۲: تغییرات مورفولوژی ایجاد شده در سطح سلول‌های باکتری به واسطه سازگاری با گالن [۴۰]

به طور مشابه، سروامانگالا[۲۹] و همکاران [۳۸] جداسازی پیریت و گالن را با استفاده از سازگاری باکتری *باسیلوس سابتلیس* مورد بررسی قرار دادند. بعد از سازگار کردن ذرات هر دو کانی با سلول‌های باکتری، با استفاده از مطالعات جذب قرمز روتنیوم[۳۰] و روش سنجش پروتئین برادفورد[۳۱] [۴۳]، نشان دادند که در اثر سازگاری کانی گالن با سلول‌های باکتری پروتئین‌های خارج سلولی بیشتری در سطح ذرات آن تولید می‌شود و به علت همین امر، نقطه بارصفر کانی گالن که قبل از تعامل در pH=۲٫۲ بود بعد از تعامل با سلول‌های باکتری به pH=۳٫۲ افزایش می‌یابد. در حالی که نقطه بارصفر کانی پیریت نیز که قبل از تعامل در pH=۶٫۴ بود، بعد از تعامل با سلول‌های باکتری به علت تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی[۳۲] بیشتر در سطح ذرات آن، به pH=۴٫۵ کاهش یافت. در نتیجه، در آزمایش‌های شناوری، مخلوطی از کانی‌ها با

نسبت وزنی (۱:۱) حدود ٪۸۸ ذرات گالن شناور شد، در حالی که شناوری چندانی برای ذرات پیریت حاصل نشد. همچنین در آزمایش‌های بیوفلوکولاسیون، مخلوطی از کانی‌ها در اثر تعامل با سلول‌های باکتری، مشخص شد که به ترتیب ٪۲۱ و ٪۸۵ ذرات گالن و پیریت فلوکوله می‌شوند که جداسازی انتخابی قابل قبولی صورت نمی‌گیرد. به طور کلی این نتایج، دلالت بر افزایش تولید پروتئین‌های خارج سلولی باکتری در اثر سازگاری با کانی گالن و همچنین خاصیت شناوری آن‌ها دارد [۳۸].

در مطالعه‌ای، واسانتاکومار[۳۳] و همکاران [۳۷] که آزمایش‌های بیوفلوتاسیون گالن و اسفالریت با استفاده از باکتری *باسیلوس مگاتریوم* سازگار شده با هر دو کانی را انجام دادند، به نتایج متضادی دست یافتند. در مطالعات بیوفلوتاسیون، شناوری انتخابی کانی اسفالریت با سلول‌های عادی و ترمولیز[۳۴] شده سازگاری یافته این باکتری با اسفالریت کاملا مشهود بود. در حالی که انتظار نمی‌رفت، اما شناوری اسفالریت با سلول‌های عادی و ترمولیز شده سازگار یافته با گالن نیز به دست آمد. آنها در هیچ یک از حالات یاد شده، نتوانستند شناوری قابل ملاحظه‌ای از گالن به دست آورند و عموما این کانی بازداشت شد. همچنین مقدار پروتئین‌های خارج سلولی ترشح شده از سلول‌های باکتری سازگاری یافته با کانی گالن در مقایسه با سازگار شده با کانی اسفالریت کمتر بود و تاثیری در شناوری گالن از خود نشان نداد.

در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که سازگار کردن باکتری‌ها با گالن و کانی‌های همراه، باعث افزایش ترشحات خارج سلولی از جنس پروتئینی یا پلی‌ساکاریدی خواهد شد. باکتری‌های *باسیلوس سابتیلیس* و *باسیلوس مگاتریوم*، توانایی جداسازی گالن را دارند. با توجه به ماهیت آبرانی پروتئین‌های خارج سلولی، جذب کمتر آنها بر روی سطح گالن در مقایسه با اسفالریت باعث شناوری کانی دوم و بازداشت گالن می‌شود. در مقابل، ترشح بیشتر پروتئین در حضور گالن نسبت به پیریت، باعث شناوری گالن و بازداشت کانی دوم خواهد شد.

۳-۳- تاثیر پروتئین و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی

علاوه بر سلول های باکتری، کاربرد EPS باکتری‌ها در جدایش انتخابی گالن از سایر کانی‌های همراه آن، توسط محققان مورد بررسی قرار گرفته است. EPS ها که شامل پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای اورانیک هستند، می‌توانند به سطوح کانی‌ها متصل شده و علاوه بر تشکیل بیوفیلم، خواص سطحی مواد معدنی را تغییر داده و با آبگریز کردن آنها امکان جداسازی زیستی را فراهم کنند. به طور معمول، آمینواسیدهای موجود در پروتئین‌ها، باعث ایجاد خاصیت آبگریزی و کربوهیدرات‌های موجود در EPS باکتری‌ها باعث ایجاد خاصیت آبدوستی در سطح کانی‌ها می‌شوند [۲۵،۹]. خصوصیات ترشحات خارج سلولی باکتری‌ها وابسته به محیط کشت و رشد باکتری و مدت زمان رشد آن‌ها است. برای دستیابی به حداکثر میزان ترشح پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، باید علاوه بر در دسترس بودن عناصر و مواد مورد نیاز رشد باکتری، میزان رشد آنها نیز در حداکثر فاز نمایی خود باشند [۱۱]. همان‌طور که در مرور مطالعات گذشته نیز بیان شد، سازگاری سلول‌های باکتری با گالن در افزایش میزان ترشح EPS ها تاثیر می‌گذارد [۴۰،۳۷].

در مطالعه‌ای که سانتیا و همکاران [۳۵] با استفاده از پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی[۳۵] (ECP) باکتری *باسیلوس پلیمیکسا* انجام دادند، با توجه به منفی بودن بار سطحی آن‌ها در کل محدوده pH مورد مطالعه، جذب به صورت غیرالکترواستاتیکی و از نوع پیوند هیدروژنی و تعاملات شیمیایی تشخیص داده شد. آنها همچنین نشان دادند که تاثیر عملکرد پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی بر روی گالن و اسفالریت بعد از تعامل با آن‌ها و با اضافه کردن کلکتور و فعال‌کننده شیمیایی متفاوت خواهد بود. در مطالعات بیوفلوتاسیون مشخص شد که تعامل ECP با غلظت ppm ۵۰ با گالن و اسفالریت، هر دو کانی را بازداشت می‌کند. در حالی که بعد از تعامل آن با کانی‌ها و سپس اضافه کردن کلکتور زنتات و فعال‌کننده سولفات مس، اسفالریت شناور شده و گالن همچنان مانند قبل، بازداشت خواهد بود. طی آزمایش‌های بیوفلوکولاسیون، مخلوطی از هر دو کانی، حدود ٪۹۵ گالن بعد از تعامل با ECP باکتری و در pH=۹-۹٫۵ فلوکوله شد. در واقع، ECP باکتری *باسیلوس پلیمیکسا* توانایی بالایی در فلوکوله کردن گالن ازخود ارایه کرد.

در تحقیقی مشابه، سوبرامانیان و همکاران [۳۶] با استفاده از EPS باکتری *باسیلوس پلیمیکسا* نشان دادند که نقطه بارصفر گالن (pH=۲٫۲) پس از تعامل با EPS تغییر نمی‌کند، اما به دلیل جذب بیشتر پلی‌ساکاریدها نسبت به پروتئین‌ها مقادیر پتانسیل زتای آن کاهش می‌یابد. در بیوفلوتاسیون مخلوط اسفالریت و گالن در محدوده pH اسیدی (۳٫۲-۳٫۵)

به دلیل جذب بیشتر پروتئین‌ها در سطح اسفالریت، بیش از ٪۹۰ آن شناور می‌شود و این در حالی است که به دلیل عدم جذب EPS در سطح گالن، بیش از ٪۹۶ آن بازداشت شده و به منطقه کف نمی‌آید. با افزایش pH به مقادیر قلیایی (۹/۵-۹) به دلیل جذب بیشتر متابولیت‌های خارج سلولی در سطح گالن و کاهش جذب آن‌ها در سطح کانی اسفالریت، میزان آبگریزی هر دو افزایش یافته و حدود ٪۹۸ گالن و ٪۹۰ اسفالریت بازداشت می‌شود. در مطالعات بیوفلوکولاسیون در محدوده اسیدی، تنها ٪۴۷ از گالن فلوکوله می‌شود. در صورتی که با افزایش pH به مقادیر بازی یاد شده، ٪۹۳ گالن و ٪۵ اسفالریت فلوکوله می‌شوند و می‌توان گفت جداسازی انتخابی قابل قبولی حاصل شده است.

پاترا و همکاران [۲۹] نشان دادند که شناوری کانی گالن به تنهایی و در هر مقدار pH، ثابت و در حدود ٪۳۰ است ولی بعد از تعامل با پروتئین‌های خارج سلولی، باکتری *پنی باسیلوس پلیمیکسا* شناوری آن افزایش و در pH=۶ به حدود ٪۶۵ می‌رسد. برعکس، شناوری آن در اثر تعامل با پلی‌ساکارید های خارج سلولی جدا شده از این باکتری به حدود ٪۱۰ کاهش می‌یابد. برای افزایش کارآیی جداسازی انتخابی مخلوط کانی‌های گالن و کالکوپیریت (به نسبت وزنی ۱:۱) تعامل یافته با سلول‌ها، پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی باکتری *پنی باسیلوس پلیمیکسا*، از کلکتور پتاسیم ایزوپروپیل زنتات استفاده کردند. بیشترین شناوری گالن با بازیابی حدود ٪۸۲ در غلظت ۵×۱۰^{-۴} مولار کلکتور و در pH= ۶/۵-۶ به دست آمد. شناورسازی جداگانه این کانی‌ها، پس از تعامل با سلول‌های باکتری و استفاده از غلظت‌های بالاتر کلکتور، کاهش یافت و حدود ٪۴۴ و ٪۵۰ از گالن و کالکوپیریت شناور شدند. این مقدار بازیابی، پس از استفاده از پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی و کلکتور، دوباره کاهش یافت و به ٪۱۴ در مورد گالن و به حدود ٪۵۰ در مورد کالکوپیریت رسید. پس از حصول نتایج یاد شده به بررسی جذب گونه‌های مختلف پرداخته شد. مطالعات جذب نشان داد که در تمام محدوده pH، جذب پلی‌ساکاریدها بیشتر از جذب پروتئین‌های خارج سلولی باکتری در سطح گالن است و همین امر باعث می‌شود که در آزمایش‌های بیوفلوکولاسیون تاثیر آن در فلوکوله کردن کانی گالن چشمگیر بوده و بازیابی ٪۹۵ حاصل شود. در تعامل با پروتئین‌های خارج سلولی، تنها ٪۲۵ از گالن فلوکوله شد.

تاثیر پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی باکتری *پنی باسیلوس پلیمیکسا* در فلوکوله کردن کانی گالن در مطالعه بیوفلوکولاسیون کانی‌های گالن و پیریت نشان داد که در اثر تعامل و جذب آن در سطح گالن حدود ٪۹۰ از آن فلوکوله می‌شود. در حالی که پروتئین‌های خارج سلولی این باکتری حدود ٪۲۰ گالن را فلوکوله می‌کنند و تاثیر بسزایی در فلوکوله کردن آن ندارند [۳۹].

بنابراین، می‌توان گفت که تمایل پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی به جذب بر روی گالن و تمایل پروتئین‌های خارج سلولی به جذب بر روی اسفالریت است. در نتیجه، مشاهده می‌شود که در صورت تماس مخلوط این دو کانی با EPS باکتریایی، معمولا گالن بازداشت یا فلوکوله شده و اسفالریت تا حدی شناور می‌شود. با این وجود، در صورت اضافه کردن کلکتور، شناوری اسفالریت به نحو قابل ملاحظه‌ای افزایش خواهد یافت.

۴- نتیجه‌گیری

در مقاله مروری حاضر، نتایج مطالعات انجام گرفته در زمینه تاثیر نوع باکتری‌های مورد استفاده، مکانیسم اتصال باکتری‌ها یا محصولات آنها به سطوح کانی‌های مد نظر و تغییرات ناشی از اتصال‌های به وجود آمده در خواص سطحی گالن و کانی‌های عمده همراه آن (شامل اسفالریت، کالکوپیریت و پیریت) و تاثیر آنها بر روی فرآیندهای جداسازی زیستی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج ارایه شده در منابع در دسترس، می‌توان به جداسازی انتخابی گالن با استفاده از روش‌هایی همچون بیوفلوتاسیون و بیوفلوکولاسیون از دیگر کانی‌ها و کاهش و یا حذف کامل عوامل شیمیایی مورد استفاده امیدوار بود.

در اکثر مراجع بررسی شده، مکانیسم جذب سلول‌های میکروبی و محصولات متابولیکی آن‌ها بر روی سطوح کانی‌های مطالعه شده از نوع جذب بر اساس نیروهای الکترواستاتیکی، هیدروفوبی، واندروالس، نیروهای اسید و باز و پیوندهای هیدروژنی گزارش شده است. مقادیر پتانسیل زتا و نقطه بارصفر گالن، سلول‌های میکروبی و متابولیت‌ها بعد از تعامل عموما تغییر می‌کند. البته در مواردی نیز به علت عدم جذب ویژه، علیرغم تغییر در پتانسیل زتا، نقطه بارصفر تغییر چندانی نمی‌کند. تاثیر ترشحات خارج سلولی و مواد سطحی سلول‌ها بر روی گالن به نوع باکتری و گرم مثبت یا منفی بودن آن نیز وابسته است.

بر اساس نتایج به دست آمده، پروتئین‌های خارج سلولی عموما با آبگریز کردن سطح گالن و پلی‌ساکاریدهای خارج

سلولی با آبدوست کردن سطح آن، می‌توانند به جدایش انتخابی این کانی در فرآیند بیوفلوتاسیون کمک کنند. همچنین دیده شد که سازگاری میکروارگانیسم‌ها با هر یک از کانی‌ها به بهبود نتایج آزمایش‌های بیوفلوتاسیون و بیوفلوکولاسیون آن کانی با استفاده از خود میکروب یا محصولات متابولیکی آنها، کمک می‌کند.

۵- مراجع

[۱] رضائی، ب.؛ ۱۳۷۸؛ "**فلوتاسیون**". دانشگاه هرمزگان، ۴۲۵ صفحه.

[2] Wills, B. A., and Finch, J. (2015). *"Wills' mineral processing technology: an introduction to the practical aspects of ore treatment and mineral recovery"*. Butterworth-Heinemann, 265-380.

[3] Hosseini, M. R., Bahrami, A., Ahmadi, A., Azizinia, M. R., and Azimi, E. (2019). *"Application of differential bio-flocculation in the removal of hematite and goethite from kaolin and quartz"*. Chemical Engineering Communications, 206(6): 815-827.

[4] Rao, K. H., Vilinska, A., and Chernyshova, I. (2010). *"Minerals bioprocessing: R & D needs in mineral biobeneficiation"*. Hydrometallurgy, 104(3-4): 465-470.

[5] Ashkavandi, R. A., Azimi, E., and Hosseini, M. R. (2022). *"Bacillus licheniformis a potential bio-collector for Barite-Quartz selective separation"*. Minerals Engineering, 175: 107285.

[6] Sanwani, E., Chaerun, S. K., Husni, H., Pamungkas, T., and Rasyid, M. A. (2021). *"A biosurfactant-producing and iron-oxidizing mixotrophic bacterium as an environmentally friendly reagent for eco-green flotation of Indonesian complex Pb-Zn ores"*. Minerals Engineering, 170: 106824.

[7] Singh, A., Van Hamme, J. D., and Ward, O. P. (2007). *"Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects"*. Biotechnology Advances, 25(1): 99-121.

[8] Chipise, L., Ndlovu, S., and Shemi, A. (2021). *"Towards the Biobeneficiation of PGMs: Reviewing the Opportunities"*. Minerals, 12(1): 57.

[9] Donati, E. R., and Sand, W. (2007). *"Microbial processing of metal sulfides"*. Springer, 35-58.

[10] Ghashoghchi, R. A., Hosseini, M. R., and Ahmadi, A. (2017). *"Effects of microbial cells and their associated extracellular polymeric substances on the bio-flocculation of kaolin and quartz"*. Applied Clay Science, 138: 81-88.

[۱۱] وقار، ر.، اولیازاده، م.، وقار، م.؛ ۱۳۷۹؛ "**فناوری میکروبی در متالورژی**". دانشگاه صنایع و معادن ایران، ۳۷۲ صفحه.

[۱۲] حسینی، س.؛ ۱۳۹۷؛ "**زیست‌فناوری در فرآوری مواد معدنی**". جهاد دانشگاهی واحد اصفهان.

[13] Wahyuningsih, T., Chaerun, S. K., and Sanwani, E. (2020). *"Characterization of interaction of biosurfactant-producing bacteria with pyrite minerals as an alternative to depressant reagents in the bioflotation process of copper sulfide minerals that are more environmentally friendly"*. In: AIP Conference Proceedings, AIP Publishing LLC.

[14] Kinnunen, P., Miettinen, H., and Bomberg, M. (2020). *"Review of potential microbial effects on flotation. Minerals"*. 10(6): 533.

[15] Rao, K. H., and Subramanian, S. (2007). *"Bioflotation and bioflocculation of relevance to minerals bioprocessing, in Microbial processing of metal sulfides"*. Springer, 267-286.

[16] Koca, S., Aksoy, D., Ozdemir, S., Aytar Çelik, P., Çabuk, A., and Koca, H. (2022). *"Surfactin as an alternative microbial collector to oleate in magnesite-quartz selective flotation"*. Separation Science and Technology, 58: 1-12.

[17] Rea, S. M., Boxall, N. J., Dwyer, R. B., and Bruckard, W. J. (2022). *"Application of biotechnology in iron ore beneficiation, in Iron ore"*. Elsevier, 457-486. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820226-5.00002-1.

[18] Singleton, P. (2004). *"Bacteria in biology, biotechnology and medicine (No. Ed. 6)"*. John Wiley & Sons, pp. 526.

[19] Rea, S., McSweeney, N., Dwyer, R., and Bruckard, W. (2015). *"Application of biotechnology in iron ore beneficiation, in Iron Ore"*. Elsevier, 373-391. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-156-6.00013-7.

[20] Chandraprabha, M., and Natarajan, K. (2009). *"Microbially induced mineral beneficiation"*. Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review, 31(1): 1-29.

[21] Mozes, N. (1991). *"Microbial cell surface analysis"*. VCH Publishers, pp. 368.

[22] Harneit, K., Göksel, A., Kock, D., Klock, J.-H., Gehrke, T., and Sand, W. (2006). *"Adhesion to metal sulfide surfaces by cells of Acidithiobacillus ferrooxidans, Acidithiobacillus thiooxidans and Leptospirillum ferrooxidans"*. Hydrometallurgy, 83(1-4): 245-254.

[23] Sand, W., Florian, B. M., and Noël, N. (2009). *"Mechanisms of bioleaching and the visualization of these by combined AFM & EFM"*. Advanced Materials

Research, 71-73: 297-302.

[24] Sanwani, E., Chaerun, S. K., Husni, H., and Rasyid, M. A. (2021). *"Surface Modification of Galena Concentrate, Sphalerite Concentrate, and Silica by the Bacterium Citrobacter sp. and Its Application to Green Flotation of Complex Pb–Zn Ores"*. Journal of Sustainable Metallurgy, 7(3): 1265-1279.

[25] Dunne, W. M. (2002). *"Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?"*. Clinical Microbiology Reviews, 15(2): 155-166.

[26] Yee, N., Fein, J. B., and Daughney, C. J. (2000). *"Experimental study of the pH, ionic strength, and reversibility behavior of bacteria–mineral adsorption"*. Geochimica et Cosmochimica Acta, 64(4): 609-617.

[27] Hermansson, M. (1999). *"The DLVO theory in microbial adhesion"*. Colloids Surfaces B: Biointerfaces, 14(1-4): 105-119.

[28] Consuegra, G. L., Kutschke, S., Rudolph, M., and Pollmann, K. (2020). *"Halophilic bacteria as potential pyrite bio-depressants in Cu-Mo bioflotation"*. Minerals Engineering, 145: 106062.

[29] Patra, P., and Natarajan, K. (2008). *"Microbially-induced separation of chalcopyrite and galena"*. Minerals Engineering, 21(10): 691-698.

[30] Bosecker, K. (1997). *"Bioleaching: metal solubilization by microorganisms"*. FEMS Microbiology Reviews, 20(3-4): 591-604.

[31] Groudev, S. (1987). *"Use of heterotrophic microorganisms in mineral biotechnology"*. Acta Biotechnologica, 7(4): 299-306.

[32] Santhiya, D., Subramanian, S., and Natarajan, K. (2000). *"Surface chemical studies on galena and sphalerite in the presence of Thiobacillus thiooxidans with reference to mineral beneficiation"*. Minerals Engineering, 13(7): 747-763.

[33] Suzuki, I., Chan, C., and Takeuchi, T. (1992). *"Oxidation of elemental sulfur to sulfite by Thiobacillus thiooxidans cells"*. Applied Environmental Microbiology, 58(11): 3767-3769.

[34] Santhiya, D., Subramanian, S., and Natarajan, K. (2001). *"Surface chemical studies on sphalerite and galena using Bacillus polymyxa: I. Microbially induced mineral separation"*. Journal of colloid interface Science, 235(2): 289-297.

[35] Santhiya, D., Subramanian, S., and Natarajan, K. (2002). *"Surface chemical studies on sphalerite and galena using extracellular polysaccharides isolated from Bacillus polymyxa"*. Journal of Colloid Interface Science, 256(2): 237-248.

[36] Subramanian, S., Santhiya, D., and Natarajan, K. J. I. J. O. M. P. (2003). *"Surface modification studies on sulphide minerals using bioreagents"*. International Journal of Mineral Processing, 72(1-4): 175-188.

[37] Vasanthakumar, B., Ravishankar, H., and Subramanian, S. (2013). *"Microbially induced selective flotation of sphalerite from galena using mineral-adapted strains of Bacillus megaterium"*. Colloids Surfaces B: Biointerfaces, 112: 279-286.

[38] Sarvamangala, H., Natarajan, K., and Girisha, S. (2013). *"Microbially-induced pyrite removal from galena using Bacillus subtilis"*. International Journal of Mineral Processing, 120: 15-21.

[39] Patra, P. and Natarajan, K. (2006). *"Surface chemical studies on selective separation of pyrite and galena in the presence of bacterial cells and metabolic products of Paenibacillus polymyxa"*. Colloid Interface Science, 298(2): 720-729.

[40] Vasanthakumar, B., Ravishankar, H., and Subramanian, S. (2017). *"Selective bio-flotation of sphalerite from galena using mineral–adapted strains of Bacillus subtilis"*. Minerals Engineering, 110: 179-184.

[41] Santhiya, D., Subramanian, S., and Natarajan, K. (2001). *"Surface chemical studies on sphalerite and galena using Bacillus polymyxa: II. Mechanisms of microbe–mineral interactions"*. Journal of colloid interface Science, 235(2): 298-309.

[42] Bleeze, B., Zhao, J., and Harmer, S. L. (2018). *"Selective attachment of Leptospirillum ferrooxidans for separation of chalcopyrite and pyrite through bio-flotation"*. Minerals, 8(3): 86.

[43] Bradford, M. M. (1976). *"A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding"*. Analytical Biochemistry, 72(1-2): 248-254.

[1] Bio-flotation

[2] Bio-flocculation

[3] Extracellular polymeric substances

[4] Extracellular proteins and polysaccharides

[5] Fungi

[6] Yeasts

[7] Algae

[8] Lipids
[9] *Bacillus subtilis*
[10] *Bacillus polymyxa*
[11] *Paenibacillus polymyxa*
[12] *Bacillus megaterium*
[13] Heterotroph
[14] Gram-positive
[15] Hydrophobic
[16] Chemotaxis
[17] Biofilm
[18] Electrostatici
[19] Zeta potential
[20] Autotroph
[21] Santhiya
[22] *Acidi thiobacillus thiooxidans*
[23] Zero point of charge
[24] Susuki
[25] Langmuireian
[26] Patra
[27] Morphology
[28] Subramanian
[29] Sarvamangala
[30] Ruthenium red adsorption
[31] Bradford protein assay
[32] Exopolysaccharides
[33] Vasanthakumar
[34] Thermolysis
[35] Extracellular polysaccharides