



Biowzbogacanie surowców mineralnych – modele adhezji bakterii do powierzchni mineralnej

Anna HOŁDA¹⁾, Aldona KRAWCZYKOWSKA¹⁾

¹⁾ AGH University of Science and Technology, Faculty of Mining and Geoengineering

<http://doi.org/10.29227/IM-2020-02-44>

Submission date: 22-10-2020 | Review date: 10-12-2020

Abstract

Użyteczność mikroorganizmów jako modyfikatorów powierzchni w procesach biowzbogacania wzbudza ostatnio duże zainteresowanie. Właściwości powierzchniowe minerałów i mikroorganizmów odgrywają główną rolę w określaniu adhezji mikroorganizmów do minerałów, a tym samym skuteczności procesów bioługowania, bioflokulacji i bioflotacji. Do przewidywania adhezji bakterii wykorzystuje się modele Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) i rozszerzone modele DLVO (XDLVO). Klasyczna teoria DLVO wyjaśnia podwójną warstwę elektryczną (EL) na powierzchni cząstek i oddziaływanie Liftshitz-van der Waalsa (LW). W teorii XDLVO zostały dodane siły solwatacyjne, aby uwzględnić oddziaływanie kwasowo-zasadowe Lewisa (AB).

Słowa kluczowe: bioługowanie, adhezja bakterii do powierzchni minerałów

Wstęp

Biomodyfikacja powierzchni mineralnej, wpływająca na zachowanie ziarn w procesach biowzbogacania, jest złożonym procesem. Pierwszy krok interakcji bakteria-minerał zależy od warunków wstępnej hodowli, takich jak siła jonowa, pH i źródło energii. Czynniki te wpływają na hydrofobowość powierzchni bakterii, właściwości elektryczne i funkcje powierzchni określając w ten sposób, jak bakterie przyczepiają się do powierzchni mineralnych. Końcowym efektem jest nie tylko modyfikacja powierzchni mineralnej, ale również selektywne rozpuszczenie składników mineralnych, bioakumulacja rozpuszczonych jonów metali oraz utworzenie bądź konwersja różnych form mineralnych. Z punktu widzenia oceny skuteczności procesów bioflotacji i bioługowania bardzo ważna jest możliwość przewidywania interakcji mikroorganizmy-minerały a tym samym sterowania procesem biowzbogacania.

Adhezja komórek bakteryjnych do powierzchni mineralnej

Przewidywanie oddziaływania pomiędzy bakteriami a powierzchnią mineralną jest możliwe dzięki zastosowaniu rozszerzonej teorii DLVO albo podejściu termodynamicznemu z wyznaczeniem energii swobodnej adhezji (Rys.1) (Sharma i inni, 2002; Volpe i inni, 1997, 2004; Siboni i inni, 2004; Żenkiewicz, 2007). Metody te formułują oddziaływanie Lifschitz-van der Waalsa, elektrostatyczne, hydrofilowo-hydrofobowe w równania matematyczne pozwalające wyznaczyć energię powierzchniową i jej składowe.

Podejście termodynamiczne

Warunkiem wstępnym biomodyfikacji powierzchni mineralnej jest adhezja komórek bakteryjnych (Sharma i inni, 2001). Należy tu uwzględnić energetyczne aspekty konstytuowania warstwy adhezyjnej, w których to upatruje się źródła implikacji niektórych zjawisk oraz procesów. Konsekwencją takiego stanu rzeczy jest poszukiwanie optymalnego parametru charakteryzującego stan energetyczny warstwy powierzchniowej, którego obserwacje i pomiary umożliwiłyby

sterowanie właściwościami tej warstwy pod kątem przydatności w procesie biowzbogacania. Wydaje się, że parametrem, który najlepiej nadaje się do tego celu jest swobodna energia powierzchniowa. Adhezja komórek bakteryjnych na powierzchni mineralnej powoduje powstanie nowego układu mikroorganizmy-minerał kosztem istniejących układów mikroorganizmy-pożywka i minerał-ciecz. W związku z tym energię swobodną adhezji można wyrazić za pomocą wzoru:

$$\Delta G^{\text{adh}} = \gamma_{\text{bs}} - \gamma_{\text{bl}} - \gamma_{\text{sl}}$$

gdzie:

ΔG^{adh} – energia swobodna adhezji

γ_{bs} – napięcie międzyfazowe (interfacial free energy) bakteria-minerał

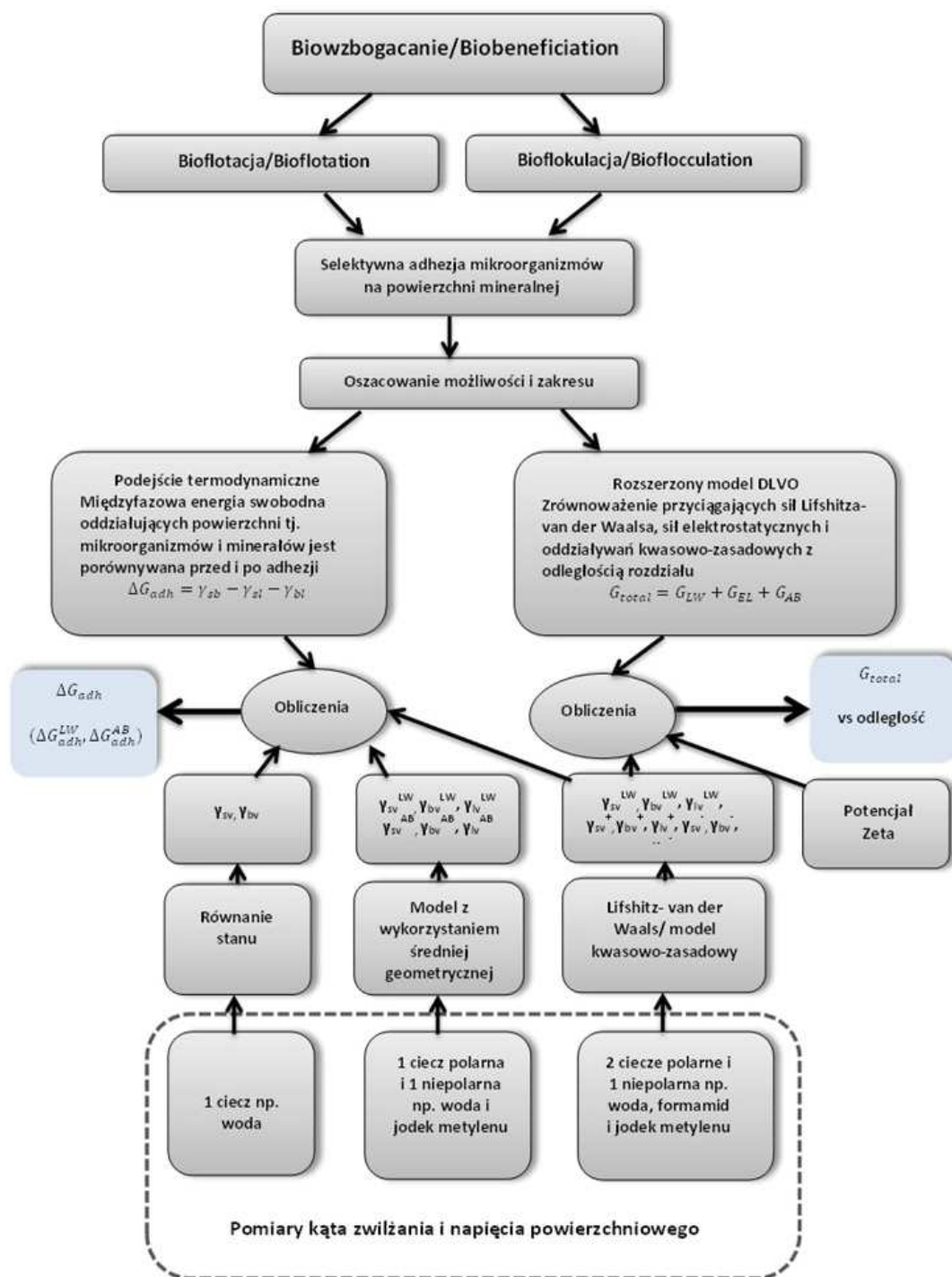
γ_{bl} – napięcie międzyfazowe bakteria-ciecz

γ_{sl} – napięcie międzyfazowe na granicy ciała stałego i cieczy.

Z termodynamicznego punktu widzenia części składowe swobodnej energii powierzchniowej nie są zdefiniowane, dlatego nie ma możliwości zmierzenia ich w sposób bezpośredni. Ilościowe określenie tych składników jest możliwe dzięki zastosowaniu modeli zawartych w Tabeli 1.

Powszechnie stosowane modele traktują swobodną energię powierzchniową jako sumę sił dyspersyjnych γ_{d} i sił polarnych γ_{p} (takich jak wiązania wodorowe). Napięcia międzyfazowe wyznaczone na ich podstawie zawierają składowe dotyczące cieczy γ_{l} oraz ciał stałych γ_{s} . Podczas gdy wartości $\gamma_{\text{l}}^{\text{d}}$ i $\gamma_{\text{l}}^{\text{p}}$ są dostępne w literaturze dla powszechnie stosowanych cieczy (Tabela 2), to składowe dotyczące energii powierzchniowej ciał stałych $\gamma_{\text{s}}^{\text{d}}$ i $\gamma_{\text{s}}^{\text{p}}$ wymagają znajomości kątów zwilżania co najmniej dwóch cieczy o różnej polarności (Clint, 2001).

Bardziej rozszerzony model zaproponowany przez van Ossa (van Oss i inni, 1988) bierze pod uwagę chemiczną naturę faz sugerując, że charakterystyki części polarnej najlepiej dokonać w oparciu o teorię kwasów i zasad Lewisa. Składowa dyspersyjna natomiast charakteryzowana jest na podsta-



Rys. 1. Teoretyczne oszacowanie możliwości i zakresu adhezji drobnoustrojów na powierzchni ciał stałych
 Fig. 1. Theoretical estimation of the possibility and extent of microbial adhesion on solid surfaces. (Sharma i inni, 2002)

Tab. 2. Napięcia powierzchniowe i jego składowe (Kwok, 1999)
 Tab. 2. Surface tensions and components (mJ/m²)

Ciecz	γ	γ^d / γ^{LW}	γ^+	γ^-
Woda	72.8	21.8	25.5	25.5
Gliceryna	64	34	3.92	57.4
Formamid	58	39	2.28	39.6
Glikol etylenowy	48.0	29	1.92	47.0
Dimetylosulfotlenek	44	36	0.5	32
Dijodometan	50.80	50.8	0	0
1-Bromonaftalen	44.4	44.4	0	0
Heksadekan	27.5	27.5	0	0
Tetradekan	26.6	26.6	0	0
Dodekan	25.4	25.4	0	0
Dekan	23.8	23.8	0	0
Pentane	16.1	16.1	0	0

Tab. 1. Metody wykorzystywane do obliczenia energii powierzchniowej (Sharma i inni, 2001; Kwok, 1999; Chibowski, 2003; Clint, 2001; Chibowski i inni, 2002)

Tab. 1. The methods used to calculate the surface energy

Model	Składowa całkowitej energii powierzchniowej	Napięcie międzyfazowe	Równania pozwalające obliczyć składowe energii powierzchniowej ciała stałego
Równanie stanu	brak	$\gamma_{12} = \frac{(\sqrt{\gamma_1} - \sqrt{\gamma_2})^2}{1 - 0.015\sqrt{\gamma_1\gamma_2}}$	$\cos\theta = \frac{(0.015\gamma_{sv} - 2.00)\sqrt{\gamma_{sv} + \gamma_{lv} + \gamma_{lv}}}{\gamma_{lv}(0.015\sqrt{\gamma_{lv}\gamma_{sv}} - 1)}$
Model Fowkesa tylko γ_i^d	$\gamma = \gamma_i^d + \gamma_i^p$	$\gamma_{12} = \gamma_1 + \gamma_2 - 2\sqrt{\gamma_1^d\gamma_2^d}$	$\cos\theta = -1 + 2\sqrt{\gamma_{sv}^d\left(\frac{\gamma_{sv}^d}{\gamma_{lv}^d}\right)}$
Metoda z wykorzystaniem średniej geometrycznej	$\gamma = \gamma_i^d + \gamma_i^p$	$\gamma_{12} = \gamma_1 + \gamma_2 - 2\sqrt{\gamma_1^d\gamma_2^d} - 2\sqrt{\gamma_1^p\gamma_2^p}$	$1 + \cos\theta = 2\sqrt{\gamma_{sv}^d\left(\frac{\gamma_{sv}^d}{\gamma_{lv}^d}\right)} + 2\sqrt{\gamma_{sv}^p\left(\frac{\gamma_{sv}^p}{\gamma_{lv}^p}\right)}$
Lifshitz-van der Waals/ model kwasowo-zasadowy	$\gamma = \gamma_i^{LW} + \gamma_i^{AB}$ $\gamma_i^{AB} = 2\sqrt{\gamma_i^+ \gamma_i^-}$	$\gamma_{12} = (\gamma_1^{LW} - \gamma_2^{LW})^2 + 2(\sqrt{\gamma_1^+} - \sqrt{\gamma_2^+})(\sqrt{\gamma_1^-} - \sqrt{\gamma_2^-})$	$(1 + \cos\theta)\gamma_i = 2\left(\sqrt{\gamma_{sv}^{LW}\gamma_{lv}^{LW}}\right) + 2\left(\sqrt{\gamma_{sv}^+\gamma_{lv}^+} + \sqrt{\gamma_{sv}^-\gamma_{lv}^-}\right)$
Metoda oparta na pomiarach histerezy kąta zwilżania	$\gamma = \gamma_i^d + \gamma_i^p$	$\gamma_{12} = \gamma_1 - \gamma_2 \cos\theta_a$	$\gamma_i^d = \gamma_i \left(\frac{1 + \cos\theta_a}{4}\right)$ $\gamma_i^p = \gamma_i^d \left(1 + \frac{2 - \cos\theta_a - \cos\theta_r}{2 + \cos\theta_a + \cos\theta_r}\right)$

i – faza; γ^d – apolarna składowa dyspersyjna energii powierzchniowej, γ^p – polarna składowa energii powierzchniowej związana z tworzeniem wiązań wodorowych, γ^{LW} – apolarna składowa związana z oddziaływaniami dalekiego zasięgu: dyspersyjnymi, polarnymi i indukcyjnymi, γ^{AB} – polarna składowa związana z oddziaływaniami kwasowo-zasadowymi, γ^+ – parametr elektroakceptorowy, γ^- – parametr elektronodonorowy; θ_a – kąt postępujący; θ_r – kąt cofający; γ_{sv} – napięcie międzyfazowe ciało stałe-powietrze; γ_{lv} – napięcie międzyfazowe ciecz-powietrze

wie oddziaływań Lifshitz, które stanowią część oddziaływań międzycząsteczkowych van der Waalsa (stąd oddziaływanie Lifshitz- van der Waalsa). Zgodnie z tymi założeniami występujący we wzorach indeks „LW” oznacza składową Lifshitz- van der Waalsa, indeks „A” oznacza część kwasową składowej polarnej, indeks „B” oznacza część zasadową składowej polarnej. Składowa polarna zawiera dwa nieaddytywne parametry – elektroakceptorowy γ^+ (electron-accepting parameter) oraz elektronodonorowy γ^- (electron-donating parameter) co prowadzi do trzech niewiadomych odnoszących się do ciał stałych γ_s^{LW} , γ_s^+ , γ_s^- których obliczenie wymaga wartości kątów zwilżania trzech cieczy pomiarowych (z których dwie muszą być polarne) (Kwok, 1999; Clint, 2001).

Należy jednak zaznaczyć, że wyznaczanie swobodnej energii powierzchniowej zarówno metodami w oparciu o teorię kwasowo-zasadową (Volpe i inni, 1997, 2004; Siboni i inni, 2004; Żenkiewicz, 2007), jak i innymi metodami opartymi na pomiarze kąta zwilżania (Chibowski i inni, 2008; Terpilowski i inni, 2008; Kwok i inni, 1999) nie pozwala wyznaczyć całkowitej wartości swobodnej energii powierzchniowej minerałów. Metody te jednak można zastosować do oszacowania składowych dyspersyjnych oraz polarnych, które pozwalają na stosunkowo szczegółową analizę oddziaływań międzyfazowych oraz identyfikację zmian, jakie mogą zachodzić w warstwie wierzchniej na poziomie technologicznym.

Teoria DLVO

Po raz pierwszy teorię DLVO (od nazwisk twórców: Derjaguin, Landau, Verwey i Overbeek) do opisu bakteryjnej adhezji zastosował Marshall w 1971 roku (Marshall K.C. i inni, 1971). Zasugerował on, że proces adhezji bakteryjnej do powierzchni obejmuje wstępną odwracalną sorpcję, po której następuje wolniejszy etap, zależny od powierzchni, prowadzący do nieodwracalnej adsorpcji. Wpływ stężenia elektrolitu w początkowej fazie odwracalnej może być wyjaśniony w oparciu o teorię stabilności koloidalnej DLVO. Obecnie znacznie częściej używa się ulepszonej wersji rozszerzonej opisaną między innymi przez Boströma (Boström et al., 2006).

Klasyczna teoria DLVO

Teoria ta wychodzi z założenia, że oddziaływanie pomiędzy komórką bakteryjną a płaską powierzchnią mineralną jest zależne od równowagi pomiędzy dwoma grupami sił. Pierwsza to wszechobecne w materii oddziaływania van der Waalsa (V_A). Energia tych oddziaływań rośnie proporcjonalnie do odwrotności odległości pomiędzy komórką a minerałem gdzie współczynnikiem proporcjonalności jest stała Hamakera (A). Stała ta opisuje nie tylko siłę oddziaływania pomiędzy powierzchnią mineralną a komórką bakteryjną, ale uwzględnia również właściwości ośrodka, w której się te ciała znajdują. Drugą składową występujących sił są oddziaływania elektrostatyczne VR wynikające z nakładania się podwójnych warstw elektrycznych komórek bakteryjnych i powierzchni mineralnej. Są to oddziaływania zazwyczaj odpychające ze względu na ujemny ładunek powierzchniowy zarówno komórek jak i minerałów. Siły te zależą od rodzaju i stężenia jonów elektrolitu w ośrodku dyspersyjnym (Hermansson M., 1999).

$$V_{TOT} = V_A + V_R$$

$$V_A = -\frac{A}{6d}$$

gdzie A – stała Hamakera, d – odległość pomiędzy komórką a powierzchnią minerału, r – promień komórki bakteryjnej. Przyjmuje się, że kształt komórek bakteryjnych jest kulisty.

Energia elektrostatyczna pochodzi od oddziaływań pomiędzy naładowanymi molekułami a jej siła i zasięg jest zależna od potencjału powierzchni ψ oraz odległości między molekułami (maleje wykładniczo wraz z odległością). Wartość potencjału jest uzależniona od adsorpcji jonów potencjałotwórczych (najczęściej jony hydroniowe i wodorotlenowe), jonów powierzchniowoczynnych i stężenia elektrolitu. Ten ostatni wpływ jest następstwem ekranowania ładunku molekuły jonami elektrolitu co wyraża stała ekranowania Debye’a $1/\kappa$.

Można zatem zapisać (Hermansson M., 1999):

$$V_R \propto \psi^2 e^{-\kappa d}$$

Na ogół bakterie posiadają ujemny ładunek powierzchniowy przy neutralnym pH, ale oczywiście od tej reguły zdarzają

się wyjątki (Jucker B.A. i inni, 1996). Wzrost ładunku ujemnego na powierzchni komórki oraz powierzchni mineralnej skutkuje wzrostem odpychania. Niemniej jednak ponieważ grubość warstwy podwójnej zostaje zmniejszona przy wysokiej wartości siły jonowej roztworu oddziaływanie bakteria-minerał może być przyciągające dzięki istniejącym siłom van der Waalsa pomimo ujemnego ładunku powierzchni zarówno minerału jak i bakterii. Można zatem powiedzieć, że niska wartość siły jonowej może skutkować odpychaniem a wysoka przyciąganiem przy wszystkich odległościach w układzie bakteria – minerał (Hermansson M., 1999).

Rozszerzona teoria DLVO

Klasyczna teoria DLVO zawodzi w przypadku oddziaływań pomiędzy powierzchniami hydrofilowymi, dlatego zaproponowano uwzględnienie solwatacyjnych lub hydratacyjno-hydrofobowych oddziaływań strukturalnych, których pochodzenie można wiązać z obecnością specyficznych oddziaływań polarnych lub niepolarnych, występujących w tych układach. Jedno z podejść stosowanych do opisu tych sił zostało zaproponowane przez van Oss'a (van Oss, 1989).

Zgodnie z tym podejściem całkowita energia oddziaływań pomiędzy dwiema różnymi cząstkami zdyspergowanymi w środowisku wodnym może być przedstawiona jako suma udziałów:

- oddziaływań elektrostatycznych (EL), związanych z istnieniem na powierzchni cząstek podwójnej warstwy elektrycznej,
- oddziaływań Lifshitz-van der Waalsa (LW),
- sił solwatacyjnych, które mogą być wynikiem oddziaływań kwasowo-zasadowych (AB) lub w ujęciu Lewisa elektronoakceptorowych i elektrono-donorowych, pomiędzy fazami będącymi w kontakcie,
- oddziaływań osmotycznych (OS) – oddziaływanie bardzo słabe dlatego najczęściej pomijane.

Dwa pierwsze oddziaływania zaliczane są do klasycznego modelu DLVO, natomiast składowa AB została wprowadzona w celu wyjaśnienia oddziaływań pomiędzy cząstkami hydrofilowymi i hydrofobowymi w ośrodkach polarnych.

Możemy zatem zapisać, że całkowita energia adhezji wyraża się wzorem:

$$\Delta G^{\text{adh}} = \Delta G^{\text{EL}} + \Delta G^{\text{LW}} + \Delta G^{\text{AB}}$$

W ośrodkach polarnych, szczególnie w wodzie swobodna energia oddziaływań polarnych (AB) pomiędzy cząstkami rozproszonymi, jest zwykle nawet 100 razy większa niż energia wynikająca z oddziaływań LW oraz około 10 razy przekraczają one oddziaływania EL.

Podsumowanie

Do przeróbki surowców mineralnych stosuje się zazwyczaj tradycyjne metody fizyko-chemiczne jednak duże zainteresowanie kierowane jest w kierunku metod biologicznych, które mogą rozwiązać problemy ze wzbogacaniem rud o niskiej zawartości składnika użytecznego oraz mogą być stosowane tam gdzie metody tradycyjne zawodzą. Pod pojęciem metod biologicznych rozumiemy dobrze poznany proces bioflugowania oraz stosunkowo nowe procesy biowzbogacania takie jak bioflotacja i bioflokulacja, które w większości są ograniczone do badań laboratoryjnych. Ponieważ bakterie przylegają do powierzchni mineralnej w ciągu kilku minut i zmieniają właściwości powierzchni, które są istotne dla wzbogacania minerałów, mikroorganizmy mają ogromne znaczenie w procesach flotacji i flokulacji. Adhezja komórek bakteryjnych na powierzchni mineralnej jest zasadniczo najważniejszym aspektem decydującym o powodzeniu procesów biowzbogacania. Selektywna adhezja bakterii do minerałów jest kluczowym czynnikiem dla selektywnej modyfikacji powierzchni istotnym dla procesów flotacji i flokulacji. Dlatego tak ważna jest możliwość oceny lub przewidywania przyczepności bakterii do powierzchni mineralnej. Uwzględniając siły fizykochemiczne w postaci podejścia termodynamicznego i XDLVO możemy w przybliżeniu ocenić przydatność danego gatunku w procesie biowzbogacania oraz zoptymalizować parametry procesu co ma olbrzymie znaczenie w możliwości wdrożenia na skalę przemysłową.

Artykuł powstał w ramach projektu o numerze 16.16.100.215

Literatura – References

1. Boström, M., Deniz, V., Franks, G.V., Ninham, B.W., 2006. Extended DLVO theory: electrostatic and non-electrostatic forces in oxide suspensions. *Adv. Colloid Interface Sci*, 16, 123-126
2. Chibowski Emil, 2003. Surface free energy of a solid from contact angle hysteresis. *Advances in Colloid and Interface Science*, 103, 149-172
3. Chibowski Emil, Carpio Rafael Perea, 2002. Problems of contact angle and solid surface free energy determination. *Advances in Colloid and Interface Science*, 98, 245-264
4. Chibowski Emil, Terpilowski Konrad, 2008. Surface free energy of sulfur—Revisited I. Yellow and orange samples solidified against glass surface. *Journal of Colloid and Interface Science*, 319, 505-513
5. Clint John H., 2001. Adhesion and components of solid surface energies. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 6, 28-3
6. Hermansson M., 1999. The DLVO theory in mineral adhesion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 14, 105-119
7. Jucker B. A., Harms H., Zehnder A. J., 1996. Adhesion of the positively charged bacterium *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* 70401 to glass and Teflon. *J. Bacteriol.*, 178, (18), 5472-5479
8. Kwok D.Y, Neumann A.W. 1999. Contact angle measurement and contact angle interpretation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 81, 167-169
9. Kwok D.Y., 1999. The usefulness of the Lifshitz-van der Waals: acid-base approach for surface tension components and interfacial tensions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 15, 191-200
10. Marshall K. C., Stout R., Mitchell R, 1971. Mechanism of the Initial Events in the Sorption of Marine Bacteria to Surfaces. *Microbiology*, 68, 337-348
11. Sharma, K.E., Rao, Hunumantha K., 2002. Analysis of different approaches for evaluation of surface energy of microbial cells by contact angle goniometry. *Advances in Colloids and Interfaces Science*, 98, 341-463.
12. Sharma, P.K., Rao, H., Natarajan, K.A., Forssberg, K.S.E., 2001. Surface chemical characterisation of *Paenibacillus polymyxa* before and after adaptation to sulfide minerals. *Int. J. Miner. Process.*, 62, 3-25
13. Siboni S., C. Della Volpe, Maniglio D., Brugnara M., 2004. The solid surface free energy calculation II. The limits of the Zisman and of the "equation-of-state" approaches. *Journal of Colloid and Interface Science*, 271, 454-472
14. Terpilowski Konrad, Holysz Lucyna, Chibowski Emil, 2008. Surface free energy of sulfur—Revisited II. Samples solidified against different solid surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 319, 514-519
15. van Oss C.J., 1989. Energetics of cell-cell and cell-biopolymer interactions. *Cell Biophys.*, 14, (1), 1-16
16. van Oss C.J., Good R.J., Chaudhury M.K., 1988. Additive and nonadditive surface tension
17. Volpe C. Della , Siboni S., 1997. Some Reflections on Acid-Base Solid Surface Free Energy Theories. *Journal of Colloid and Interface Science*, 195, 121-136
18. Volpe C. Della ,Maniglio D., Brugnara M., Siboni S., Morra M., 2004. The solid surface free energy calculation I. In defense of the multicomponent approach. *Journal of Colloid and Interface Science*, 271, 434-453
19. Żenkiewicz Marian, 2007. Comparative study on the surface free energy of a solid calculated by different methods. *Polymer Testing*, 26, 14-19

Biobenefication of Mineral Resources – Models of Bacterial Adhesion to a Mineral Surface

The utility of microorganisms as surface modifiers in bioenrichment processes has recently attracted a lot of attention. The surface properties of minerals and microorganisms play a major role in determining the adhesion of microorganisms to minerals, and thus the effectiveness of bioleaching, bioflocculation and bioflotation processes. For predicting bacterial adhesion Derjaguin-Landau-Verwey-O-verbeek (DLVO) models and extended DLVO (XDLVO) models are used. The classical DLVO theory explains the electric double layer (EL) on the particle surface and the Lifshitz-van der Waals (LW) interaction. In XDLVO theory, solvation forces have been added to account for Lewis acid-base (AB) interactions.

Keywords: *biobenefication, bacterial adhesion to a mineral surface*