

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



Département Génie Minier

Laboratoire de Recherche en Génie Minier

Thèse de doctorat en Génie Minier

**Réduction des impuretés contenues dans les phosphates
de Djebel Onk - cas de MgO**

Hakim RABIA

Sous la direction de **Mr M. OULD HAMOU** Professeur ENP

Et la codirection de **Mme. M. AUGUSTYNIAK** Professeur U.S (POLOGNE)

Présentée et soutenue publiquement le 07/10/2021

Composition du Jury :

Président **Mr M-Aguid BACHAR ASSED,** Professeur, ENP

Examineurs : **Mr Arezki AKKAL,** Professeur, ENP

Mr Abdelaziz IDRES, Professeur, U. Badji Mokhtar

Mr Abdelkrim KHELOUFI, Directeur de recherche, CRTSE

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
Ecole Nationale Polytechnique



Département Génie Minier

Laboratoire de Recherche en Génie Minier

Thèse de doctorat en Génie Minier

**Réduction des impuretés contenues dans les phosphates
de Djebel Onk - cas de MgO**

Hakim RABIA

Sous la direction de **Mr M. OULD HAMOU** Professeur ENP

Et la codirection de **Mme. M. AUGUSTYNIAK** Professeur U.S (POLOGNE)

Présentée et soutenue publiquement le 07/10/2021

Composition du Jury :

Président **Mr M-Aguid BACHAR ASSED,** Professeur, ENP

Examineurs : **Mr Arezki AKKAL,** Professeur, ENP

Mr Abdelaziz IDRES, Professeur, U. Badji Mokhtar

Mr Abdelkrim KHELOUFI, Directeur de recherche, CRTSE

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse Prof. Ould Hamou Malek pour son aide en tant que directeur de thèse et responsable du laboratoire de Génie Minier à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, et ma co-directrice de thèse Prof. Augustyniak Maria, professeur à l'Université de Silésie à Katowice, qui m'ont soutenu dans chaque étape de ma carrière scientifique, depuis le début jusqu'à la soutenance. Je voudrais également remercier Mme Merchichi Amira pour son soutien et son aide. Merci à la fois à Prof. Ould Hamou Malek, Prof. Augustyniak Maria, et Mme Merchichi Amira pour tous les conseils, et la révision de ma thèse. Grâce à leur aide, ma thèse de doctorat a pu prendre sa version définitive.

Je remercie également Prof. Mohamed Aguid Bachar Assed, professeur à l'ENP d'Alger, Dr. Arezki Akkal Maître de Conférence à l'ENP d'Alger, Prof. Abdelaziz IDRES, professeur à l'université Badji Mokhtar et Dr. Abdelkrim KHELOUFI, directeur de recherche au Centre de Recherche en Technologie des Semi-Conducteurs pour l'énergétique (CRTSE) d'avoir voulu accepter de juger mon travail de doctorat.

J'adresse mes remerciements à toute l'équipe du département de Génie Minier de l'ENP d'Alger qui m'ont aidé de prêt ou de loin depuis le début de mon doctorat jusqu'à ma soutenance. Je remercie également mes collègues, les doctorants du département de Génie Minier qui m'ont fait part de leurs expériences et m'ont soutenu avec leurs conseils.

Mes remerciements s'adresse aussi au personnel de l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger pour leur soutien.

Je tiens à remercier également, les équipes de l'Université de Silésie. Je suis particulièrement reconnaissant au Dr. Katarzyna Kasperkiewicz pour m'avoir supervisé pendant la période de mon travail au laboratoire microbiologique et pour son soutien inestimable pendant les expériences. Merci Dr. Karcz Jagna, Dr. Brozek Jolanta et Dr. Potocka Izabela, pour leur aide dans l'évaluation microscopique des échantillons. Grâce à elles, j'ai appris de nouvelles techniques et appris à interpréter les images microscopiques.

Je tiens également à remercier Dr. Krzykawski Tomasz pour son aide précieuse dans l'analyse minéralogique de mes échantillons et son soutien pour l'interprétation des résultats. Je tiens à remercier mes amis de l'Université de Silésie pour leur soutien dans les laboratoires et leur soutien émotionnel, social et spirituel. Ces remerciements vont à: Dr.

Nakonieczny Mirosław, Dr. Tarnawska Monika, Dr. Babczyńska Agnieszka, Dr. Dziewięcka Marta, Dr. Alina Kafel, Dr. Kędziorski Andrzej, et Mme Skowronek Magdalena.

Je remercie aussi le personnel de l'entreprise phosphates, qui m'ont facilité la récupération des échantillons.

Je tiens également à remercier toute ma famille. J'exprime ma gratitude à ma mère, mes sœurs et mon frère. Leur soutien, leurs paroles aimables et leur compréhension ont toujours été avec moi pendant tout mon parcours et tout au long de mon voyage dans le monde de la science. Je dédie ma thèse de doctorat à ma merveilleuse famille et la mémoire de mon père.

الملخص

غالبًا ما يُنسى، مقارنةً بالنفط والغاز، أن الاحتياطيات المعدنية بشكل عام والفوسفات بشكل خاص تضع الجزائر على رأس ثروة كبيرة. حيث تقدر احتياطيات الفوسفات الطبيعي في الجزائر بنحو 2,2 مليار طن وتتركز أغلبيتها في جبل عنق، في منطقة تبسة.

إذا تم استغلالها ومعالجتها بشكل صحيح، يمكن أن تسمح هذه الاحتياطيات بإنتاج ما بين 8 إلى 10 ملايين طن من حمض الفوسفوريك، مما يولد دخلًا سنويًا يزيد عن 8 مليارات دولار. وبالتالي يمكن أن تشكل هذه الإيرادات المصدر الثاني للدخل للجزائر. ومع ذلك، فإن هذه الاحتياطيات لا تحل مشكل نقص الفوسفور في المحاصيل، لأنه في طريقة استخدامه الحالية، يظل السوبر فوسفات غير مناسب لمعظم أنواع التربة المحلية. أيضًا، يجب تقليل مستوى أكسيد المغنيسيوم إلى معايير ملائمة لإنتاج حمض الفوسفوريك.

تتعلق دراستنا بمعالجة فوسفات كاف السنون بمنطقة جبل عنق بتبسة، ولا سيما إزالة أو تقليل كمية MgO، باستخدام الطرق الكلاسيكية والبيولوجية. حيث، تم استخدام التعويم التقليدي و البيولوجي على التوالي على مستوى مختبر هندسة المعادن في المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات ومختبر الأحياء الدقيقة في جامعة سيليزيا بكاتوفيسا.

سمح لنا استخدام التعويم التقليدي بتقليص محتوى أكسيد المغنيسيوم من 2,08% إلى 0,75%، مع استرداد 96% من P_2O_5 ، باستخدام كواشف كيميائية بتركيزات 1100 غ / طن من حمض الأوليك و 200 غ / طن من حامض الستريك. ومع ذلك، فإن هذه الطريقة تحتاج تكاليف عالية في الكواشف، وخاصة حمض الستريك، و كذلك يؤثر الاستخدام المفرط للمواد الكيميائية على البيئة خلال عملية تصفية الفوسفات.

من ناحية أخرى، أعطى التعويم البيولوجي نتائج مرضية مع انخفاض في MgO وصل إلى 0,86% واستعادة 94% من P_2O_5 . تم اختبار العديد من المواد الحيوية خلال الاختبارات العديدة التي أجريت على الفوسفات الخام؛ الكائنات الحية الدقيقة التجارية (بناءً على البحوث السابقة وخصائصها)، والكائنات الدقيقة التي تم عزلها من نفس الخام، ثم استخدامها في تجارب التعويم في ظل ظروف مختلفة، بهدف تقليل نسبة MgO.

النتائج التي تم الحصول عليها من خلال الطريقتين متشابهة مع الأخذ بعين الاعتبار تأثير الكواشف الكيميائية على البيئة وتكلفتها وتوفرها في السوق الوطنية، يمكن تجربة التعويم البيولوجي كوسيلة لمعالجة فوسفات جبل عنق، بما أن النتائج كانت مرضية في المختبر. ومع ذلك، فإن استخدامه في المجال الصناعي يعتمد على ظروف نمو ونشاط الكائنات الحية الدقيقة التي سيتم استخدامها.

الكلمات الدالة: الالتصاق، الأباتيت، التعويم البيولوجي، الدولوميت، التعويم التقليدي، أكسيد المغنيسيوم، الفوسفات.

ABSTRACT

Too often forgotten, compared to oil and gas, mineral reserves in general and phosphates in particular, place Algeria at the head of considerable wealth. These natural phosphate reserves are estimated at 2,2 billion tons and are mainly located in Djebel Onk, in the Tébessa region.

If properly exploited and processed, these reserves could allow 8 to 10 million tons of phosphoric acid production, generating an annual income of more than 8 billion dollars. This income could thus constitute the country's second source of income. However, these fabulous reserves do not protect us from the under-nutrition of phosphorus in crops because, in its current mode of use, superphosphate remains unsuitable for most local soils. In addition, the level of magnesium oxide should be reduced to the standards of phosphoric acid production.

Our study relates to the recovery of phosphates from the Kef Essnoun site of Djebel Onk in the Tébessa region, particularly reducing the MgO quantity by conventional and biological methods.

Indeed, flotation and bioflotation were successively used in the Mining Engineering Laboratory of the National Polytechnic School and the Katowice Microbiology Research Laboratory in Silesia.

The use of conventional flotation allowed us to obtain, a magnesium oxide with a rate of 0,75% on a total of 2,08% of MgO, with a recovery of 96% of P₂O₅, using reagents chemicals in quantities of 1100 g / t for oleic acid and 200 g / t for citric acid, respectively. However, this method generates high costs in reagents, especially citric acid and the excessive use of chemicals affecting the environment during the recovery of useful material.

On the other hand, Bioflotation has given satisfactory results with a MgO reduction of up to 0,86% and a P₂O₅ recovery of 94%. Several bio-reagents were tested during numerous tests carried out on crude phosphate ore, commercial microorganisms (based on the literature and their characteristics), and microorganisms isolated from the same ore and then used in treatment trials under different conditions reducing MgO.

The results obtained by the two methods being similar and considering the effect of the reagents on the environment, their cost and availability on the national market, bio

flotation can be experimented as a method of treating the phosphates of Djebel Onk, since the results are found to be satisfactory on a laboratory scale. However, its use on an industrial scale will depend on the conditions of growth and activity of the microorganisms to be used.

Keywords: Adhesion, Apatite, Bioflotation, Dolomite, Flotation, Magnesium oxide, Phosphate.

RESUME

Trop souvent oubliées, par rapport au pétrole et au gaz, les réserves minières en général et de phosphates en particulier placent l'Algérie à la tête d'une richesse considérable. Ces réserves de phosphates naturels sont estimées à 2,2 milliards de tonnes et sont principalement situées à Djebel Onk, dans la région de Tébessa.

Si elles sont convenablement exploitées et traitées, ces réserves pourraient permettre la production de 8 à 10 millions de tonnes d'acide phosphorique générant un revenu annuel de plus de 8 milliards de dollars. Ces revenus pourraient ainsi constituer la deuxième source de revenus du pays. Ces fabuleuses réserves ne nous préservent cependant pas d'une sous-nutrition en phosphore des cultures, car, dans son mode d'utilisation actuel, le super phosphate reste inadapté à la plupart des sols locaux. Aussi, le taux d'oxyde de magnésium doit être réduit aux normes pour la production de l'acide phosphorique.

Notre étude porte sur la valorisation des phosphates de Kef Essnoun de la région de Djebel Onk à Tébessa, particulièrement la réduction de la quantité de MgO, utilisant des méthodes classiques et biologiques.

En effet, la flottation et la bioflottation ont été successivement utilisées au niveau du laboratoire de Minéralurgie de Génie Minier de l'école nationale polytechnique et du laboratoire de recherche en microbiologie de Katowice en Silésie.

L'utilisation de la flottation conventionnelle a permis d'obtenir, un oxyde de magnésium titré à 0,75% à partir d'un tout venant à 2,08 % en MgO, avec une récupération de 96% de P_2O_5 , en utilisant des réactifs chimiques avec les concentrations de 1100 g/t d'acide oléique et 200 g/t de l'acide citrique. Cependant, cette méthode génère des coûts élevés en réactifs, particulièrement l'acide citrique et l'usage excessif des produits chimiques affecte l'environnement lors de la récupération de la matière utile.

La bioflottation quant à elle, a donné des résultats satisfaisants avec une réduction en MgO jusqu'à 0,86% et une récupération de 94% en P_2O_5 . Plusieurs bioréactifs ont été testés lors des nombreux essais opérés sur le minerai de phosphate brut; les microorganismes commerciaux (sur la base de la littérature et de leurs caractéristiques), et les microorganismes qui ont été isolés à partir du même minerai, puis utilisés lors des essais de traitement sous différentes conditions, visant la réduction du MgO.

Les résultats obtenus par les deux méthodes étant proches, et considérant l'effet des réactifs sur l'environnement, leur coût et disponibilité sur le marché national, la bioflottation peut s'expérimenter comme méthode de traitement des phosphates de Djebel Onk, puisque les résultats s'avèrent satisfaisants à l'échelle du laboratoire. Cependant, son utilisation à l'échelle industrielle, dépendra, des conditions de croissance et d'activité des microorganismes à utiliser.

Mots clé: Adhésion, Apatite, Bioflottation, Dolomite, Flottation, Oxyde de magnésium, Phosphate.

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLES	
INTRODUCTION GENERALE	20
CHAPITRE I: GENERALITES	
I. GENERALITES SUR LES PHOSPHATES	23
1.1. TYPES DE ROCHES PHOSPHATEES	23
1.2. CARACTERISATION DES PHOSPHATES NATURELS	24
1.2.1. MINERALOGIE DES PHOSPHATES NATURELS	24
1.2.2. CHIMIE DES PHOSPHATES	27
1.2.3. IDENTIFICATION DE LA QUALITE DES PHOSPHATES	27
2. ECONOMIE DES PHOSPHATES	28
2.1. PRODUCTION MONDIALE DES PHOSPHATES	28
2.2. CONSOMMATION MONDIALE DES PHOSPHATES	30
2.3. ESERVES	32
3. UTILISATIONS ET EXIGENCES DES PHOSPHATES	33
4. PHOSPHATES ALGERIENS	33
4.1. PHOSPHATES DE DJEBEL ONK	34
4.2. LOCALISATION GEOGRAPHIQUE	35
4.3. HISTORIQUE DU COMPLEXE DE DJEBEL ONK	36
4.4. GEOLOGIE DE LA REGION DE DJEBEL ONK	36
4.4.1. GISEMENT DE NORD DE DJEBEL ONK	37
4.4.2. GISEMENT DE KEF ESSNOUN	37
4.4.3. GISEMENT DE BLED EL HADBA	37
4.4.4. GISEMENT DE DJEMI DEJMA	38
4.4.5. GISEMENT DE OUED BETITA	38
II. GENERALITES SUR LES MICROORGANISMES	39
1. LES MICROORGANISMES	39
2. LES BACTERIES	41
3. LES CHAMPIGNONS	46
4. UTILISATION DES MICROORGANISMES DANS LE TRAITEMENT DES MINERAIS	46
CHAPITRE II: METHODES DE TRAITEMENT	
1. PREPARATION MECANIQUE	48
2. METHODES DE SEPARATION	49
2.1. SEPARATION PHYSIQUE	49
2.2. SEPARATION CHIMIQUE	52

2.3. SEPARATION BIOLOGIQUE	53
----------------------------------	----

CHAPITRE III: CARACTERISATION DU MIENRAI DE KEF ESSNOUN

1. INTRODUCTION	57
2. PREPARATION MECANIQUE	58
2.1. MINERAI UTILISE	58
2.2. CHOIX DE LA TAILLE DES PARTICULES	59
2.3. LA PREPARATION MECANIQUE	59
2.3.1. QUARTAGE	60
2.3.2. CONCASSAGE	60
2.3.3. BROYAGE	61
2.3.4. TAMISAGE	62
3. LA CARACTERISATION DU MINERAI DE KEF ESSNOUN	62
3.1. ANALYSES GRANULOMETRIQUE	62
3.1.1. METHODOLOGIE	62
3.1.2. RESULTATS ET INTERPRETATION	63
3.2. L'ANALYSE MINERALOGIQUE	66
3.2.1. METHODOLOGIE	66
3.2.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS	67
3.3. OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES PAR MICROSCOPE BINOCULAIRE	68
3.3.1. METHODOLOGIE	68
3.3.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS:	69
3.4. OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES PAR MEB ET EDS	75
3.4.1. METHODOLOGIE	76
3.4.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS	76
3.5. CARACTERISATION CHIMIQUE (FRX)	100
3.5.1. METHODOLOGIE	100
3.5.2. RESULTATS ET INTERPRETATION	101

CHAPITRE IV: PARTIE EXPERIMENTALE

1. INTRODUCTION	104
2. METHODES D'ENRICHISSEMENT CONVENTIONNELLES	105
2.1. LA FLOTTATION	105
2.1.1. METHODOLOGIE	105
2.1.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS	106
2.1.3. CARACTERISATION DU PRODUIT FINAL	113
2.2. CALCINATION	116
2.2.1. METHODOLOGIE	116

2.2.2. RESULTATS ET DISCUSSION	117
3. LES METHODES D'ENRICHISSEMENT BIOLOGIQUE.....	119
3.1. MICROORGANISMES	120
3.1.1. ORIGINE DES MICROORGANISMES	120
3.1.2. ISOLEMENT	121
3.1.3. PREPARATIONS DES MICROORGANISMES.....	122
3.2. TESTS D'ADHESION.....	124
3.2.1. METHODOLOGIE	124
3.2.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS	126
3.3. TEST DE BIOSORPTION.....	135
3.3.1. METHODOLOGIE	135
3.3.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS	135
3.4. TESTS DE BIOFLOTTATION.....	147
3.4.1. METHODOLOGIE	147
3.4.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS.....	150
CONCLUSION GENERALE	170
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	176
TRAVEAUX SCIENTIFIQUES	
ARTICLES	186
CHAPITRES.....	201
CONFERENCES	203

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Production mondiale des phosphates en 2017 et 2018 en Mt(15)	28
Tableau 2: Statistiques du marché de phosphates en Mt (1).....	31
Tableau 3: Réserves mondiales des phosphates en Mt(15)	32
Tableau 4: Principaux gisements de phosphates en Algérie.....	34
Tableau 5: Resultats de l'analyse granulométrique du phosphate de Kef Essnoun	64
Tableau 6: Facteurs de l'analyse granulométrique	65
Tableau 7: Composition minéralogique du minerai brut de Kef Essnoun	67
Tableau 8:Composition minéralogique en (%) du minerai de Kef Essnoun après la préparation mécanique	67
Tableau 9: caractérisation granulochimique du minerai de phosphate de Kef Essnoun ...	101
Tableau 10: Composition chimique du minerai de Kef Essnoun après la préparation mécanique	101
Tableau 11: Paramètres de la flottation classique du minerai de Kef Essnoun	106
Tableau 12: La récupération pondérale de dolomite en utilisant 1250 g/t de l'acide oléique.....	107
Tableau 13: La récupération pondérale de la flottation d'apatite en utilisant Silicate de sodium et acide citrique comme déprimants.....	108
Tableau 14: Résultats finaux de la flottation du mélange binaire.....	110
Tableau 15: Composition chimique du produit final de la flottation de phosphate de Kef Essnoun.....	115
Tableau 16: Résultats de tests d'adhésion des souches inconnues (Moy: Moyenne ET: Ecart Type), représenté sous forme de adhésion/sédimentation en %.....	133
Tableau 17 : Résultats du test post-hoc (ANOVA, LSD, $p < 0,05$) pour la concentration de Cd dans 7 souches de bactéries natives isolées du minerai de Djebel Onk. Abréviations: x - une paire donnée de moyennes diffère significativement en terme d'accumulation de Cd. (A) - contrôle, (B) - pH 4, (C) - pH 7 et (D) - pH 10.....	144
Tableau 18 : Résultats du test post-hoc (ANOVA, LSD, $p < 0,05$) pour la concentration de Mg dans 7 souches de bactéries natives isolées du minerai de Djebel Onk. Abréviations : x	

- une paire donnée de moyennes diffère significativement en terme d'accumulation de Cd.
(A) - contrôle, (B) - pH 4, (C) - pH 7 et (D) - pH 10..... 146

Tableau 19: La composition chimique du produit final de la bioflottation du minerai de Kef
Essnoun en utilisant l'acide oléique et HK2 3K (FRX)..... 161

Tableau 20: La composition chimique du produit final de la bioflottation du minerai de Kef
Essnoun en utilisant BYC et B. subtilis (FRX) 168

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Distribution mondiale des types de phosphates ((5, 6); modifiée).....	24
Figure 2: Fluorapatite de «Cerro de la mine de Mercado, Victoria de Durango, Municipalité de Durango, Mexico». Source: mindat.org	25
Figure 3: Fluorapatite bleu du Ipirá complexe, Bahia, Brésil». Source: mindat.org	25
Figure 4: Dahlite de «Francois Lake phosphate occurrence, Francois Lake». Source: mindat.org	26
Figure 5: Production mondiale de phosphate en 2012 en % (1).....	29
Figure 6: Production mondiale de phosphate depuis 1850 (6)	29
Figure 7: L'importation et l'exportation de phosphate par Mt (1) Source: à la base d'IFA data 2013.....	30
Figure 8: Localisation géographique des gisements de phosphates de la région de Djebel Onk ((14)d'après SO.NA.R.E.M., 1978, modifiée).....	35
Figure 9: Carte structurale de la région du Djebel Onk à l'intérieur du bassin de Gafsa-Métlaoui-Onk.(20). Source : (21)	37
Figure 10: Représentation des étapes de la croissance des microorganismes	40
Figure 11: Etapes de la coloration Gram	42
Figure 12: Différentes formes de bactéries (23)	42
Figure 13: Structure de la cellule bactérienne (24).....	43
Figure 14: Composants de cytoplasme (25)	44
Figure 15: Le peptidoglycane - structure générale et structure de la paroi des bactéries Gram positives et Gram négatives (26)	45
Figure 16: Schéma explicatif de la préparation mécanique	49
Figure 17: Méthodes appliquées par rapport à la taille des grains (28).....	52
Figure 18: Echantillon du minerai de Kef Essnoun utilisé pour les essais de valorisation	58
Figure 19: Exemple d'un échantillon utilisé pour l'isolement des microorganismes	59
Figure 20: Schéma technologique de la préparation mécanique du minerai de Kef Essnoun	60
Figure 21: Quartage de tout venant à l'aide d'un diviseur a couloirs.....	60

Figure 22: Broyeur planétaire à billes utilisé pour le broyage.....	61
Figure 23: Courbe granulométrique du minerai de Kef Essnoun	65
Figure 24: Diffractomètre «de poudre» PANalytical X’Pert PRO MPD	66
Figure 25: Palet utilisé pour DRX	66
Figure 26: Microscope Nokon SMZ1500 (à gauche) et microscope Nikon Eclipse 80i (à droit).....	68
Figure 27: Lames préparées pour l'analyse des fractions du minerai de Kef Essnoun	69
Figure 28: Observation des grains sous microscope (minerai noyé dans la résine)	75
Figure 29 : Microscope électronique à balayage Phenom XL.....	76
Figure 30:EDS (UHR FE-SEM Hitachi SU 8010)	76
Figure 31:Lames (tables métalliques) préparées pour l’observation du minerai au microscope électronique à balayage. Le minerai a été collé sur un ruban de charbon et recouvert d'une fine couche d'or	76
Figure 32: Diffractomètre des rayons fluorescence S8 TIGER.....	100
Figure 33: La récupération pondérale lors de la flottation de l’apatite pure en utilisant l’acide oléique.....	107
Figure 34: La récupération de la dolomite en utilisant le silicate de sodium et l’acide citrique pour un pH 9	108
Figure 35: Récupération d’apatite après la flottation de mélange binaire avec l’utilisation de l’acide oléique et silicate de sodium	109
Figure 36: Récupération d’apatite après la flottation de mélange binaire en utilisant de l’acide oléique et l’acide citrique.....	110
Figure 37: Schéma technologique de proposition de traitement du minerai de Kef-Essnoun par méthodes conventionnelles	112
Figure 38:L’image obtenue par microscope binoculaire Nikon SMZ 1500 du produit final de la flottation	113
Figure 39: L'analyse minéralogique du produit final de la flottation par DRX.....	115
Figure 40: Four de type Carbolite utilisé pour les essais de la calcination.....	116
Figure 41: Exemple de creusets utilisés pour la calcination	117

Figure 42: Composition chimique du produit de la calcination pour la température de 500°C	118
Figure 43: Composition chimique du produit de la calcination pour la température de 800°C	119
Figure 44: Etapes de dilutions de la suspension bactérienne (ISO 7218) (57)	122
Figure 45: Chambre laminaire pour les manipulations avec les microorganismes	125
Figure 46: Les échantillons ont été conservés dans des chambres stériles	125
Figure 47: Adhésion de <i>B. subtilis</i> à la surface de minerai de Kef Essnoun	130
Figure 48: Adhésion de <i>C. albicans</i> à la surface de minerai de Kef Essnoun	130
Figure 49: Cellule de <i>B. subtilis</i> adhérente à la surface d'apatite et de dolomite	131
Figure 50: Observation de l'adhésion de microorganismes à la surface du phosphate de Kef Essnoun avec le microscope confocal laser concentrique Olympus FV1000	132
Figure 51: Adhésion de HK2 3K a la surface des grains de phosphate de Kef Essnoun.	134
Figure 52: Accumulation des éléments Cd, Mg et Ca dans des différents microorganismes, mesurée par SAA	137
Figure 53: Accumulation des éléments Cd, Mg et Ca dans <i>B. subtilis</i> , mesurée par SAA	138
Figure 54: Accumulation des éléments Cd, Mg et Ca dans <i>B. subtilis</i> , mesurée par SAA	139
Figure 55: Accumulation de Cd dans la biomasse de <i>B. subtilis</i> et <i>C. albicans</i>	140
Figure 56: Accumulation de Mg dans la biomasse de <i>B. subtilis</i> et <i>C. albicans</i>	141
Figure 57: Accumulation de Ca dans la biomasse de <i>B. subtilis</i> et <i>C. albicans</i>	142
Figure 58: Accumulation de Cd par les microorganismes natifs et <i>B. subtilis</i>	144
Figure 59: Accumulation de Mg par les microorganismes natifs et <i>B. subtilis</i>	146
Figure 60: Tube Hallimond – principe de fonctionnement	148
Figure 61: Tube Hallimond - les différentes parties du tube et la méthode d'utilisation au laboratoire	148
Figure 62 : Tube Hallimond - la formation de mousse pendant la flottation a été visualisée	149
Figure 63: Récupération de la dolomite pure en fonction de concentration de <i>B. subtilis</i> et HK2 3K –avec un pH 9-	150

Figure 64: Récupération de la dolomite pure en fonction de concentration de l'enzyme uréase –avec un pH 7-.....	151
Figure 65:L'explication du fonctionnement de l'uréase dans la dépression de la dolomite	152
Figure 66: Le site actif de l'uréase. Le site actif de l'uréase contient deux atomes de nickel (vert) pontés par une lysine carboxylée et un groupe hydroxyle. Source: (59).....	153
Figure 67: Récupération de l'apatite pure en fonction de concentration de BYC –avec un pH 7-	154
Figure 68: Récupération de l'apatite en fonction de concentration de BYC –avec un pH 9 et concentration de HK2 3K égal à 100 µg/L	156
Figure 69: Récupération de l'apatite en fonction de concentration de la concentration de HK2 3K –avec un pH 9 et concentration de BYC égal à 1250 g/t	156
Figure 70:Explication du fonctionnement de la Bioflottation de l'apatite et de la dolomite en utilisant l'acide oléique et HK2 3K.....	157
Figure 71: Le produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant l'acide oléique et HK2 3K (binoculaire Nikon SMZ 1500)	158
Figure 72: La composition minéralogique du produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant l'acide oléique et HK2 3K (DRX).....	161
Figure 73: La récupération de l'apatite en fonction de la concentration de B. subtilis –avec un pH 7 et concentration de BYC égal à 160 mg/L.....	162
Figure 74: La Récupération de l'apatite en fonction de la concentration de BYC –avec un pH 7 et concentration de B. subtilis égal à 90 µg/L.....	163
Figure 75: Explication du fonctionnement de la bioflottation de l'apatite et de la dolomite en utilisant BYC et B. subtilis	164
Figure 76: Le produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant BYC et B. subtilis (binoculaire Nikon SMZ 1500)	165
Figure 77: La composition minéralogique du produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant BYC et B. Subtilis (DRX)	168
Figure 78: Caractérisation minéralogique des trois produits de la valorisation du minerai de Kef Essnoun.....	172

LISTES DES TABLES

Table 1: Photos de fractions du minerai avec les caractéristiques de base de la composition	70
Table 2 : Caractérisation générale de la classe 40 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS	77
Table 3:Caracterisaiton générale de la classe 63 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS	78
Table 4: Caractérisation générale de la classe 80 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS	79
Table 5: Caractérisation générale de la classe 125 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS	80
Table 6: Caractérisation générale de la classe 125 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS	81
Table 7: Caractérisation générale de la classe 160 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS	82
Table 8: Caractérisation générale de la classe 315 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS	83
Table 9: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la calsse 40 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX	84
Table 10: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 63 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX	85
Table 11: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 80 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX	87
Table 12: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 125 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX	89
Table 13: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 160 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX	91
Table 14: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 250 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX	93
Table 15: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 315 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX	95
Table 16: Distribution des éléments chimiques pour la classe 160 µm du Minerai de Kef Essnoun par EDS	97

Table 17: Distribution des éléments chimiques pour la classe 315 µm du Minerai de Kef Essnoun par EDS	98
Table 18: Images obtenues par MEB du produit finale de la flottation avec des différentes résolutions.....	113
Table 19: Caractérisation du produit final de la flottation par MEB/EDS	114
Table 20. Adhésion de différents microorganismes sur la surface de l'apatite et dolomite	129
Table 21: Le produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant l'acide oléique et HK2 3K (MEB).....	159
Table 22: Caractérisation générale du produit final de bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant l'acide oléique et HK2 3K (MEB/EDX)	160
Table 23: Le produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant BYC et <i>B. subtilis</i> (MEB).....	166
Table 24: Caractérisation générale du produit final de bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant BYC et <i>B. subtilis</i> (MEB/EDX)	167

INTRODUCTION GENERALE

Le phosphate est une ressource non renouvelable ayant une composition minéralogique et chimique très complexe.

Un grand intérêt est apporté à cette substance, compte tenu de son utilisation, tels que la production des engrais et les produits chimiques comme l'acide phosphorique.

Cependant, l'utilisation croissante des engrais dans le monde implique directement une hausse de production des phosphates, ce qui engendrera l'exploration de nouveaux sites d'exploitation ou l'exploitation des gisements à faible teneur en P_2O_5 .

L'Algérie avec des réserves de 2,2 milliards de tonnes (selon les déclarations du ministère de l'industrie et des mines Algérien) peut relever le défi, car ses réserves pourraient lui permettre la production de 8 à 10 millions de tonnes d'acide phosphorique générant un revenu annuel de plus de 8 milliards de dollars. Ces revenus pourraient constituer la deuxième source de revenus du pays. La production et l'exportation des phosphates, selon la même source, pourra s'accroître jusqu'à atteindre 2 millions de tonnes par an, et l'Algérie pourra ainsi concurrencer les grands pays producteurs de phosphate à leur tête le Maroc, les Etats Unis et la Chine (1).

Néanmoins, l'Algérie doit améliorer la qualité de son produit en réduisant le plus possible les impuretés. L'amélioration de la qualité des produits phosphatés passe par le bon traitement de phosphate naturel et l'utilisation des méthodes les plus adaptées et efficaces, en tenant compte de la protection de l'environnement.

Les méthodes classiques de traitement utilisées depuis longtemps, notamment la flottation, considérée comme la méthode la plus fiable parmi les méthodes de séparation conventionnelles de traitement des minerais, la calcination qui génère une grande consommation d'énergie et le débouillage, sont à ce jour les plus utilisées. Chaque méthode dépend des caractéristiques du minerai à traiter. Cela signifie qu'une caractérisation et une libération optimale du minerai sont indispensables pour le choix de ou des méthodes de traitement à appliquer.

Récemment, des publications scientifiques ont montré la possibilité d'utilisation des microorganismes sous différentes conditions, afin d'améliorer la sélectivité des minéraux lors de la séparation physique, sous le processus nommé : Bioflottation (2, 3).

D'un autre côté, les microorganismes ont été utilisés pour la séparation chimique dans des processus plus ou moins compliqués comme la biolixiviation(4).

Notre étude est consacrée au traitement du phosphate de Djebel Onk, Tébessa dans l'est d'Algérie. Actuellement ce gisement est exploité et traité par la compagnie algérienne FERPHOS. Le minerai de Kef Essnoun a été choisi pour notre étude, puisque le site est toujours en cours d'exploitation et de traitement.

Le plan de travail est le suivant:

1/La partie théorique qui comporte:

- Le premier chapitre qui est divisé en deux parties:
 - Généralités sur les phosphates: caractérisation, utilisation et son économie dans le monde et généralités sur le phosphate de Djebel Onk.
 - Généralités sur les microorganismes.
- Le deuxième chapitre, dédié aux méthodes de traitement conventionnelles et biologiques.

2/La partie expérimentale qui comporte:

- Les essais de valorisation avec des méthodes conventionnelles: Calcination et la flottation du phosphate de Djebel Onk.
- Les essais de valorisation avec des méthodes biologiques: Etude d'adhésion avec différentes microorganismes, soient commerciaux ou isolés du phosphate naturel de Djebel Onk, étude de la biosorption et des tests de la bioflottation.

CHAPITRE I

GENERALITES

I. GENERALITES SUR LES PHOSPHATES

1.1. TYPES DE ROCHES PHOSPHATEES

Le phosphate occupe une place particulière parmi les substances minérales. C'est un minerai naturel, constitué principalement de radical $(\text{PO}_4)^{3-}$ en combinaison avec différents cations. Deux principaux types de roches phosphatées peuvent être cités (5, 6):

Roche sédimentaire:

Elle représente 75% du phosphate mondial. Elle comprend aussi la roche biogénique et dépôts résultant de l'altération. Les plus grands gisements du monde sont sédimentaires à savoir les gisements de l'Afrique du nord (Maroc, Algérie), de l'USA (Florida) et de la Chine (1). L'apatite sédimentaire est formée près de la surface de la terre sous basse température et pression (7), elle se présente généralement sous forme de francolite (cas du gisement de Djebel Onk, Algérie). Ce type de phosphate se caractérise à travers le monde par le même groupe d'impuretés (argile, calcite, dolomite et quartz).

Pour la roche de type biogénique, elle représente 2-3% du phosphate mondial. Elle est très spécifique avec une forte concentration en phosphore (Oiseau Guano), et elle est exploitée et traitée pour être utilisée comme engrais(8).

Roche ignée:

Les gisements ignés représentent 15-20% du phosphate mondial. Les plus grands gisements actuellement connus sont les gisements du Brésil et la Russie.

L'apatite ignée se trouve sous forme de fluorapatite, elle se forme sous très haute température et pression (contrairement à la roche sédimentaire). Les phosphates d'origine ignée comprennent les veines hydrothermales, les différenciations marginales près des limites d'intrusions magmatiques et des pegmatites (9).

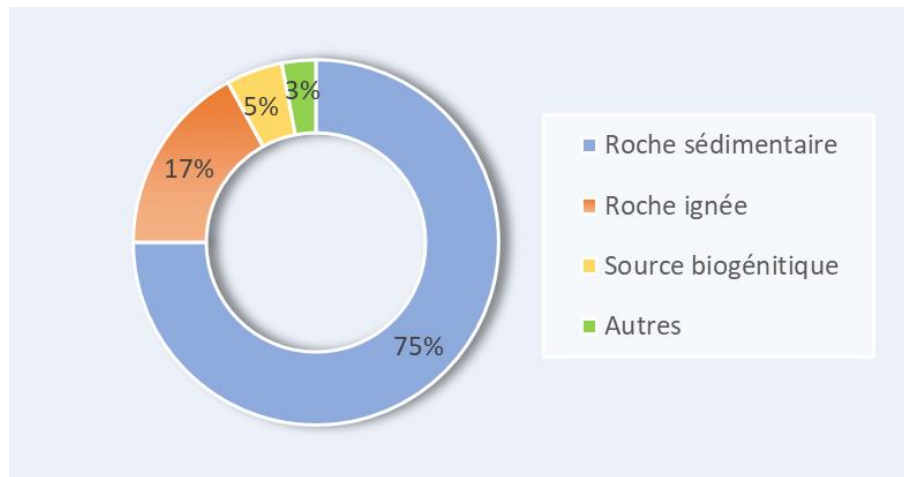


Figure 1: Distribution mondiale des types de phosphates ((5, 6); modifiée)

1.2. CARACTERISATION DES PHOSPHATES NATURELS

La caractérisation des phosphates naturels a fait l'objet de plusieurs études scientifiques, afin de comprendre leur genèse, leur évolution et déterminer leurs différents types. L'étude de ces propriétés nous renseigne sur les caractéristiques chimiques, physiques, géologiques et géochimiques de ces phosphates. Les propriétés minéralogiques et chimiques sont essentielles et nous permettent d'évaluer la qualité des produits phosphatés marchands (concentré de traitement).

1.2.1. MINERALOGIE DES PHOSPHATES NATURELS

La connaissance de la minéralogie de la roche phosphatée est le premier pas vers la séparation des différents éléments contenus dans la roche. Sur cette base, nous distinguons deux types de minéraux (10):

a) Minéral utile

Apatite: C'est un minéral appartenant au groupe du phosphate de calcium. Il existe trois principaux types: chlorapatite: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)(\text{Cl})_2$, l'hydroxyapatite: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)(\text{OH})_2$ et la fluorapatite: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)(\text{F})_2$.

Cette dernière (fluorapatite) se trouve principalement dans les gisements ignés contrairement aux deux autres minéraux qui sont moins connus. La fluorapatite est très connue par sa forme régulière, avec différentes couleurs comme : bleue, jaune, blanche (Figures 2 et 3).



Figure 2: Fluorapatite de «Cerro de la mine de Mercado, Victoria de Durango, Municipalité de Durango, Mexico». Source: mindat.org



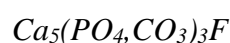
Figure 3: Fluorapatite bleu du Ipirá complexe, Bahia, Brésil». Source: mindat.org

Francolite: Elle est connue aussi comme «carbonate-fluorapatite» qui signifie une fluorapatite contenant une forte quantité de carbonates avec la présence de petites quantités de fluorine d'environ 1% (11). Elle se trouve principalement dans les gisements sédimentaires. La formule chimique générale de la francolite a été décrite par (12):



La connaissance de la formule exacte du minerai à étudier est très importante, pour la détermination de la concentration de MgO, étant donné la présence de ce dernier aussi bien dans la francolite que dans la dolomite qui est le minéral de gangue.

Collophane: Roche sédimentaire, qui contient du carbonate hydroxyle et du fluor. Nous la trouvons dans plusieurs gisements en Jordanie, Inde et Chine (10). Sa formule chimique est réduite sous forme:



Dahlite: C'est l'hydroxyapatite riche en carbonate avec la formule chimique spécifique $(Ca_5(PO_4,CO_3)_3(OH))$: elle se trouve dans les gisements sédimentaires, aussi en Jordanie (figure 4).



Figure 4: Dahllite de «Francois Lake phosphate occurrence, Francois Lake». Source: mindat.org

b) La gangue

La composition de la gangue des phosphates diffère dans chaque type de roche (sédimentaire, ignée) (6, 10):

Les minéraux carbonatés: Nous retrouvons principalement la dolomite ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) et la calcite CaCO_3 . Ces minéraux ont les mêmes caractéristiques de surface avec l'apatite, ce qui rend leur séparation très complexe.

Les minéraux siliceux: Le minéral le plus répandu est le quartz (SiO_2), qui s'identifie dans plusieurs gisements de phosphate comme celui de Florida et Jordanie (13). L'inconvénient de ce type de gangue est que sa dissolution dans les acides est plus difficile par rapport aux autres minéraux.

Les minéraux argileux: Ce sont des minéraux silicatés très fins, qu'on peut éliminer par simple lavage. Nous citons :

- Kaolinite $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$,
- Illite $(\text{K},\text{H}_3\text{O})(\text{Al},\text{Mg},\text{Fe})_2(\text{Si},\text{Al})_4\text{O}_{10}[(\text{OH})_2,(\text{H}_2\text{O})]$,
- Montmorillonite $(\text{Na},\text{Ca})_{0,3}(\text{Al},\text{Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2n\text{H}_2\text{O}\dots\text{etc.}$

1.2.2. CHIMIE DES PHOSPHATES

Il s'agit d'éléments majeurs et mineurs (14):

Eléments majeurs: Ils sont généralement donnés sous forme d'oxydes. Ces éléments permettent la détermination de la qualité des phosphates naturels ou produits après le traitement. Nous citons: P_2O_5 , SiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 , CaO , MgO , Na_2O , K_2O , CO_2 , SO_3 , F , Cl et H_2O .

Eléments mineurs: ou éléments traces, nous distinguons : Ag , As , Cd , Cr , Cu , Mo , Ni , V , Zn , Sb , Sr , Th et $Sr...$ etc. En raison de la haute toxicité du cadmium, la concentration de ce métal-dans les phosphates destinés à l'industrie des engrais, a fait l'objet de plusieurs études.

1.2.3. IDENTIFICATION DE LA QUALITE DES PHOSPHATES

Un contrôle de qualité doit se faire tout au long de la chaîne de production afin de respecter les normes internationales garantissant certaines caractéristiques du produit final. Le contrôle de la qualité du phosphate brut est lié principalement à la qualité de sa composition chimique (éléments majeurs et mineurs) (14) :

La teneur en P_2O_5 (%): C'est le paramètre le plus utilisé pour évaluer la qualité du produit phosphaté.

TPL (en anglais: Triphosphate of Lime) ou BPL(en anglais: Bone Phosphate of Lime): c'est un autre paramètre d'évaluation de la qualité du produit marchand, il indique le pourcentage de triphosphate $Ca_3(PO_4)_2$:

$$BPL = TPL = 2,185 P_2O_5 \text{ (14)}$$

Teneurs en MgO , CaO , Fe_2O_3 , Al_2O_3 , Na_2O , K_2O , SiO_2 et Cl : Elles sont exprimées aussi en pourcentage (%), et indiquent le taux des différents éléments de la gangue dans le produit de phosphate. Ces valeurs sont très importantes pour la validation de la qualité du produit destiné à l'industrie (Acide phosphorique, engrais, ...)(7).

2. ECONOMIE DES PHOSPHATES

2.1. PRODUCTION MONDIALE DES PHOSPHATES

Dans les prochains paragraphes, nous exposons quelques études effectuées sur l'estimation des réserves et les taux de production des phosphates dans le monde.

Un document rédigé par Stephen M. Jasinski (15), publié dans USGS(United States Geological Survey), résume la production des phosphates dans le monde pendant ces dernières années. Cette étude montre que la Chine est considérée comme premier producteur avec 140 millions de tonnes (Mt) en 2017. Le (tableau 1) ci-après récapitule, la production des phosphates des différents pays producteurs de phosphate dans le monde.

Tableau 1: Production mondiale des phosphates en 2017 et 2018 en Mt(15)

Pays	2017	2018
ETATS UNIS	27,9	27
ALGERIE	1,30	1,3
AUSTRALIE	3	3
BRESIL	5,2	5,4
CHINE	144	140
EGYPTE	4,4	4,6
FINLANDE	0,98	1
INDE	1,59	1,6
ISRAËL	3,85	3,9
JORDAN	8,69	8,8
KAZAKHSTAN	1,5	1,6
MEXIQUE	1,93	2
MAROC + SAHARA D'OUEST	30	33,
PEROU	3,04	3,1
RUSSIE	13,3	13
ARABIE SAOUDITE	5	5,2
SENEGAL	1,39	1,5
AFRIQUE DE SUD	2,08	2,1
SYRIE	0,1	0,1
TOGO	0.825	0,85
TUNISIE	4,42	3,3
OUZBEKISTAN	0,9	0,9
VIETNAM	3	3,3
AUTRES	1,1	1,3

L'étude effectuée par Heckenmüller en 2014 (1), a montré que la Chine était classée 3^{ème} producteur de phosphates en 2012 (figure 5).

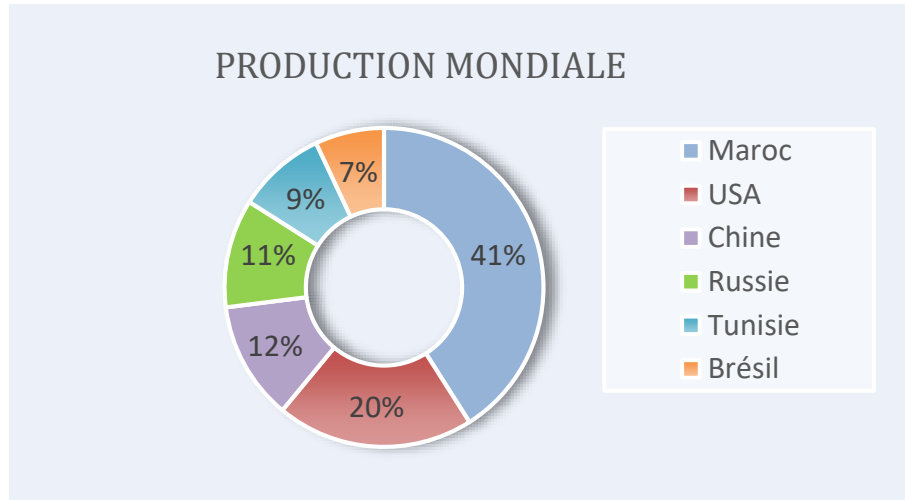


Figure 5: Production mondiale de phosphate en 2012 en % (1)

La figure 6 montre que la production de phosphates était en augmentation depuis 1850 (6). Cette production est en relation directe avec l'augmentation de la population mondiale, et le développement des méthodes de valorisation.

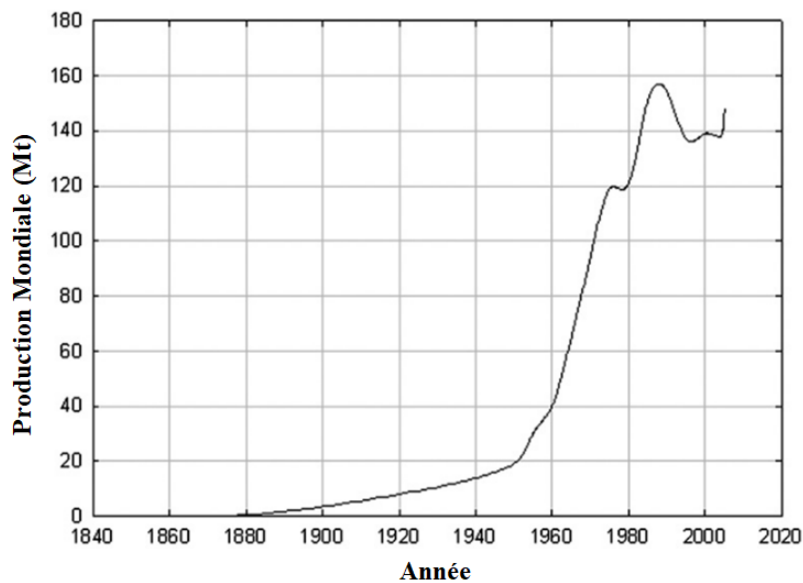


Figure 6: Production mondiale de phosphate depuis 1850 (6)

2.2. CONSOMMATION MONDIALE DES PHOSPHATES

La figure 7 montre les principaux pays importateurs de phosphates en comparaison avec l'exportation pour l'année 2011, IFA data (International Fertilizer Association). Ces données indiquent que les pays exportateurs de phosphates sont les pays africains et les pays de l'Asie d'ouest.

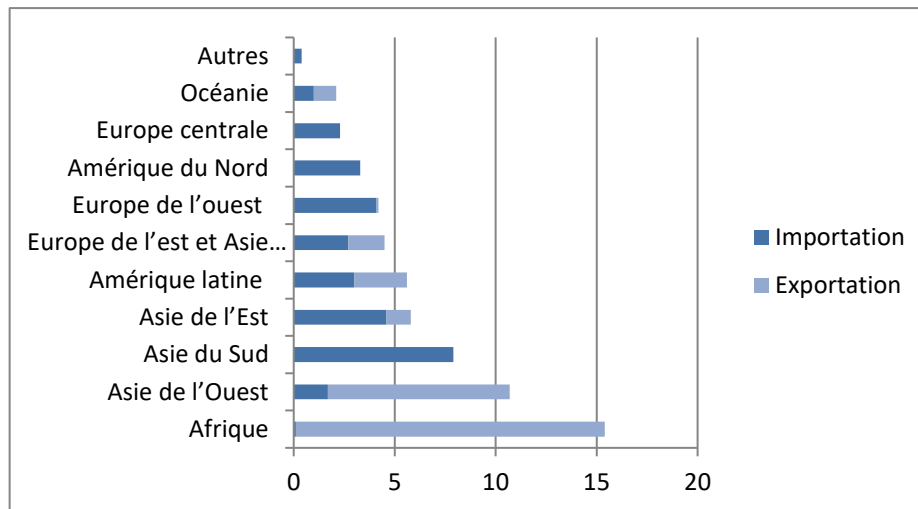


Figure 7: L'importation et l'exportation de phosphate par Mt (1) Source: à la base d'IFA data 2013

Une étude comparative de la production de l'acide phosphorique et d'engrais réalisée par IFA data pour l'année 2011 et qui a été citée par Heckenmüller (1), montre une forte production d'acide phosphorique et des engrais en Asie de l'est et en Amérique du nord.

Tableau 2: Statistiques du marché de phosphates en Mt (1)

Acide phosphorique		Phosphate dans les engrais			
Région	Production	Production	Exports	Imports	Consommation
Afrique	6,13	3,22	2,33	0,66	1,05
Asie de l'Est	17,61	18,42	4,15	1,81	14,06
Asie du Sud	1,54	4,85	0,01	5,23	9,22
Asie de l'Ouest	1,61	1,59	0,98	0,35	1,12
Amérique du Nord	8,75	6,45	2,77	0,71	4,83
Amérique latine et caraïbes	1,72	2,68	0,61	3,81	5,74
Europe de l'est et Asie centrale	3,39	3,76	2,93	0,40	1,21
Europe de l'ouest et Europe centrale	0,88	1,91	1,11	1,94	2,37
Océanie	0,45	0,96	0,23	0,51	1,22
Mondial	42,08	43,82	15,11	15,41	40,82

2.3. ESERVES

L'estimation des réserves a été rapportée par Jasinski pour l'agence USGS qui confirme que le Maroc et le Sahara occidental disposent des plus grandes réserves (50 Mt) en phosphates, puis la chine avec 3,2 Mt et l'Algérie avec 2,2 Mt. Le tableau 3 présente les réserves des phosphates en Mt:

Tableau 3: Réserves mondiales des phosphates en Mt(15)

Pays	Réserves
Etats Unis	1 000
Algérie	2 200
Australie	1 100
Brésil	1 700
Chine	3 200
Egypte	1 300
Finlande	1 000
Inde	46
Israël	67
Jordan	1 000
Kazakhstan	260
Mexique	30
Maroc + Sahara d'ouest	50 000
Pérou	400
Russie	600
Arabie saoudite	1 400
Sénégal	50
Afrique de sud	1 500
Syrie	1 800
Togo	30
Tunisie	100
Ouzbékistan	100
Vietnam	30
Autres	770

3. UTILISATIONS ET EXIGENCES DES PHOSPHATES

Les roches phosphatées constituent la source principale de phosphore pour les industries chimiques et les engrais (80-90%) (16). Nous citons :

- Fabrication des Engrais;
- Production de l'acide phosphorique;
- Produit alimentaire;
- Pharmaceutique;
- Métallurgie;
- Textile.

Exigences des phosphates dans l'industrie des engrais (17):

- Teneur en $P_2O_5 \geq 30\%$;
- Rapport des teneurs : $CaO / P_2O_5 = 1,6\%$;
- Teneur en $MgO < 1\%$.

Les exigences des phosphates dans l'industrie d'acide phosphorique en fonction des teneurs de P_2O_5 et MgO (14):

- Teneur en $P_2O_5 \geq 30\%$;
- Pour le MgO :

Teneur en $MgO < 0,8\%$ pour les acides courants;

Teneur en $MgO < 0,3-0,4\%$ pour les acides marchands à 54% de P_2O_5 ;

Teneur en $MgO < 0,1\%$ pour l'acide super phosphorique.

4. PHOSPHATES ALGERIENS

A ce jour, la production de phosphate est dominée par le Maroc, les Etats-Unis et la Chine mais l'Algérie a décidé d'investir dans ce secteur dans le but d'obtenir une place parmi les grands pays producteurs. Les réserves algériennes de phosphates sont principalement situées dans la région de Sétif aux monts de Hodna et la région de Tébessa au mont de Djebel Onk.

Les gisements de phosphate sont exploités par l'entreprise SOMIPHOS filière du groupe FERPHOS.

Le tableau 4 montre les principaux gisements d'Algérie avec leurs capacités et leur pourcentage en matière utile et impuretés(18).

Tableau 4: Principaux gisements de phosphates en Algérie

Mont	Gisement	Quantité Mt	P ₂ O ₅ (%)	MgO (%)
Tébessa	Djebel Onk Sud	500	24-30	2-3
	Djebel Onk Nord	100	20-26	3,1
	Kouif	27	25-30	-
	Dyr	8	-	-
Hodna	M'zaita	29	25-30	-
	Ras El Oued	0,7	26-27	-

4.1. PHOSPHATES DE DJEBEL ONK

Comme indiqué dans la section précédente, les plus grandes réserves de phosphates algériens sont situées aux monts de Djebel Onk, avec plus de 500 Mt. Cette partie est basée sur les informations recueillies à partir des travaux de recherche accomplis par Bezzi et Chabou-Mostefai (14, 19) portant sur l'aspect géologique et valorisation de ce minerai. Cinq gisements de phosphates sont dénombrés:

- Gisement de Djebel Onk Nord;
- Gisement de Kef Essnoun (l'objet de notre thèse et doctorat);
- Gisement de Bled el Hadba;
- Gisement Djemi djema;
- Gisement d'Oued betita.

4.2. LOCALISATION GEOGRAPHIQUE

Les gisements de Djebel Onk sont situés dans l'Est de l'Algérie, plus exactement à 100 km de sud-est de Tébessa et à 20 km de la frontière Algéro-Tunisienne. La région de Djebel Onk est considérée comme une limite naturelle entre les hauts plateaux constantinois et le domaine saharien. Les cinq gisements de la région sont représentés dans la figure 8, dont les gisements de Kef Esnoun et Djemi Dejma sont proches et en cours d'exploitation, et les autres: Djebel Onk nord, Bled el Hadba et oued Betita sont isolés et ils ne sont pas encore exploités.

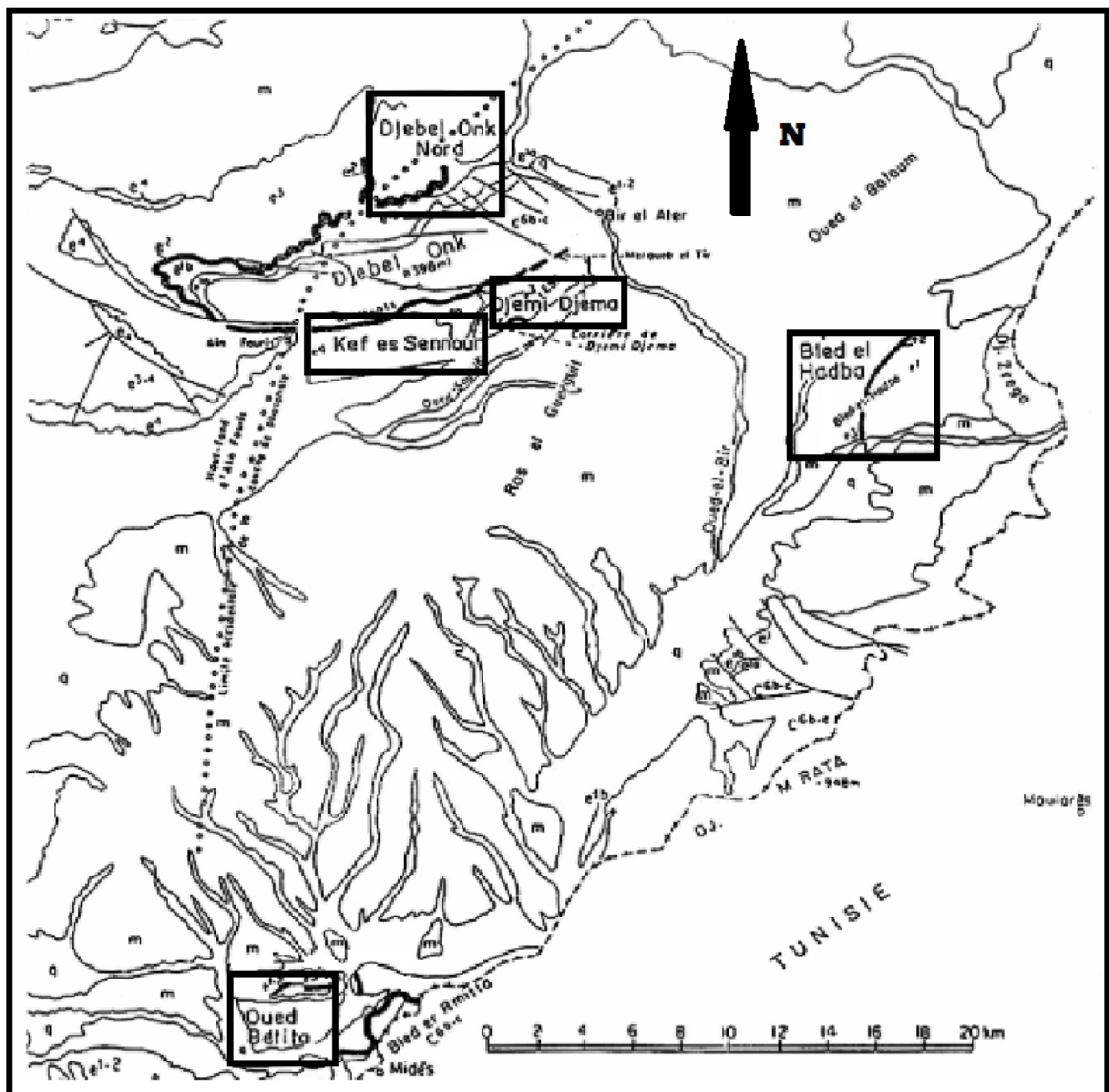


Figure 8: Localisation géographique des gisements de phosphates de la région de Djebel Onk ((14)d'après SO.NA.R.E.M., 1978, modifiée)

4.3. HISTORIQUE DU COMPLEXE DE DJEBEL ONK

Le premier gisement qui a été exploité dans la région de Djebel Onk est le gisement de Kouif en 1894 quelques années après la première exploitation de gisement de MZAITA à Sétif. L'historique des travaux géologiques et miniers du gisement de Djebel Onk est résumé comme suit (14) :

- En 1936, la première société chargée de l'exploitation des phosphates algériens était l'entreprise CONSTANTINE, elle était responsable de l'exploitation des phosphates en Algérie et en Tunisie, créée en 1894 par la société générale des mines d'Algérie et de Tunisie. Quelques années après, des affleurements minéralisés de Djebel Onk dans la région de Bir el-Ater ont été découverts;
- Entre 1961 et 1963, des essais d'exploration et de prospection radiométrique aéroportée ont été effectués dans la région de Djebel Onk;
- En 1963, la société SERMI, en coopération avec la société française SOFREMINE ont effectué des études géologiques et minières avant le début de l'exploitation du gisement de Djemi Djema;
- En 1965, la mise en activité de la carrière de phosphate de Djemi Dejma;
- Entre 1971 et 1974, la relance des travaux de recherche dans la région de Djebel Onk par la société de SONAREM;
- 2003, ouverture de la nouvelle mine: Kef Essnoun.

4.4. GEOLOGIE DE LA REGION DE DJEBEL ONK

Le massif de Djebel Onk est constitué de deux similaires anticlinaux asymétriques en genou au nord (80N) et au sud (Djemi-Djema) (70E). Les caractéristiques des flancs sont présentées ci-après (14):

- Flanc Nord: présente des pendages simples inférieurs à 15°);
- Flanc Sud : présente des pendages plus importants que le premier (allant jusqu'à 90°).

La géologie de l'ensemble des gisements de la région de Djebel Onk (14, 20) :

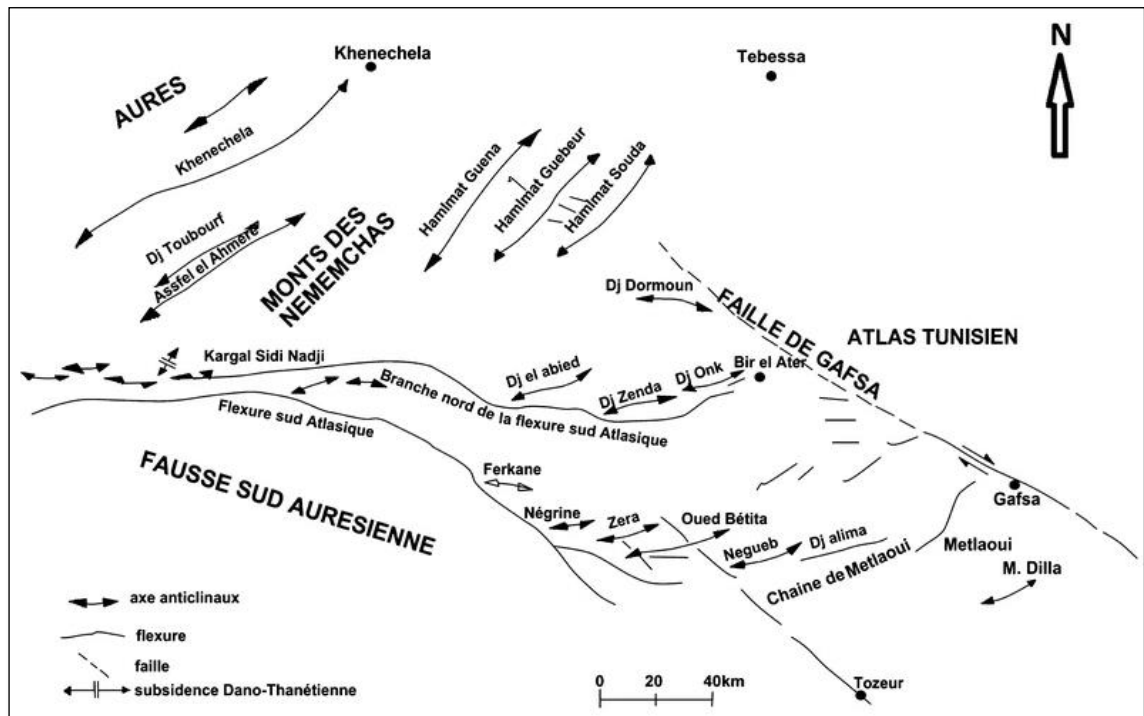


Figure 9: Carte structurale de la région du Djebel Onk à l'intérieur du bassin de Gafsa-Métlaoui-Onk.(21). Source : (22)

4.4.1. GISEMENT DE NORD DE DJEBEL ONK

Il est situé au nord du complexe de Djebel Onk. Il se trouve au flanc septentrional d'anticlinal du nord, caractérisé par un faible pendage vers le nord, et une réduction progressive de l'épaisseur de la couche de phosphate, en allant vers l'ouest et vers le nord, jusqu'à sa disparition. Il est situé tout au long du complexe de Djebel Onk. La réduction d'épaisseur s'accompagne d'une sédimentation phosphatée plus hétérogène, avec apports de quartz étriqués (20).

4.4.2. GISEMENT DE KEF ESSNOUN

Ce gisement se situe à 2 km de la ville d'El Ater et au sud du gisement Djebel Onk-nord. Il est constitué principalement d'une couche de phosphate sombre, gris-noir, sans intercalation carbonate stérile. De bas en haut, il est composé d'une série calcaro-dolomitique à silex l'Yprésien, surmonté par les calcaires marneux du Lutien puis par les sables du Miocène et les alluvions du quaternaire.

4.4.3. GISEMENT DE BLED EL HADBA

Il est situé au sud-est des monts de Djebel Onk, et à 6 km de la frontière Algéro-tunisienne. La couche de phosphate n'est épaisse que sur le flanc Sud du Djebel Onk,

mais la sédimentation phosphatée est plus hétérogène avec diminution de la fréquence des grains.

4.4.4. GISEMENT DE DJEMI DEJMA

Il se situe à 6 km du gisement de Djebel Onk-nord, au deuxième anticlinal. La couche phosphatée est surmontée par des calcaires dolomitiques gris, clairs avec silex marron, des calcaires blancs argileux avec intercalation de sables fins.

4.4.5. GISEMENT DE OUED BETITA

Il est situé à la frontière sud des monts de Djebel Onk, et à 4 km de la frontière Algéro-tunisienne. L'épaisseur de couche phosphatée de ce gisement est entre 35 – 45 m.

II. GENERALITES SUR LES MICROORGANISMES

La microbiologie est le domaine d'étude des microorganismes. On distingue la microbiologie fondamentale qui consiste à étudier les propriétés des microorganismes en général, et la microbiologie appliquée qui a pour objectif d'appréhender l'étude des différentes utilisations de microorganismes dans divers secteurs : santé-biomédical, environnement, agroalimentaire et industrie. Ces dernières années, les avantages financiers et environnementaux potentiels de cette discipline, en ont fait une option intéressante pour les sociétés minières qui sont à la recherche de nouveaux procédés envers les problèmes techniques.

Dans ce travail, nous nous intéressons aux bactéries et champignons, qui seront utilisés dans l'enrichissement des différents minerais.

1. LES MICROORGANISMES

Un microorganisme n'a pas une définition très claire et directe. On peut admettre que c'est un être vivant qui ne peut être observé qu'à une échelle microscopique.

a) Phases de croissance (23):

Le développement des bactéries se fait dans un milieu de culture riche en matières organiques et éléments nutritifs nécessaires pour la croissance de chaque type de microorganismes. Nous distinguons quatre phases lors de la croissance de la population microbienne:

- **Phase de latence:** l'étape d'adaptation des microorganismes à leur milieu.
- **Phase de croissance:** consommation des nutriments pour la croissance et multiplication
- **Phase stationnaire:** multiplication faible des microorganismes. Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent.
- **Phase de déclin:** Epuisement des éléments nutritifs, ce qui engendre la réduction du nombre vivant des microorganismes.

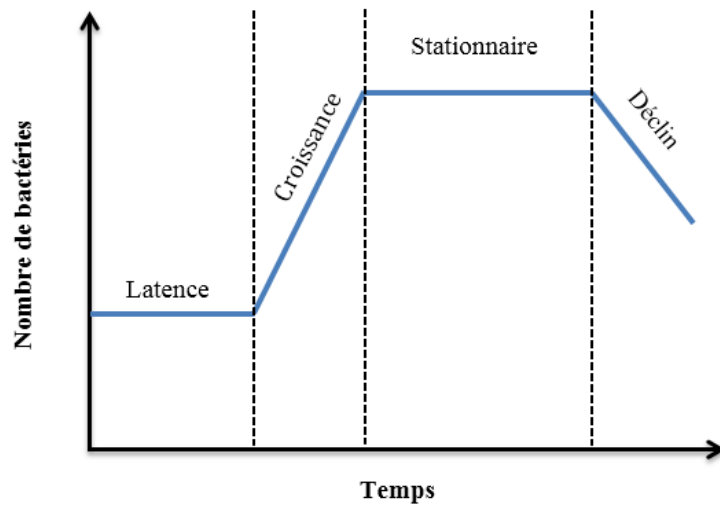


Figure 10: Représentation des étapes de la croissance des microorganismes

b) Conditions de croissance:

Il existe plusieurs paramètres qui contrôlent la croissance des microorganismes:

Milieu de culture

- Metallotolerant.

Température:

- $T < 0\text{ °C} \Rightarrow$ Cryophiles;
- $0\text{ °C} < T < 15\text{ °C} \Rightarrow$ Psychrophiles;
- $20\text{ °C} < T < 45\text{ °C} \Rightarrow$ Mésophiles;
- $45\text{ °C} < T < 70\text{ °C} \Rightarrow$ Thermophiles;
- $T > 70\text{ °C} \Rightarrow$ Hyperthermophiles.

pH:

- $3 < \text{pH} < 6 \Rightarrow$ Acidophiles;
- $6,5 < \text{pH} < 7,5 \Rightarrow$ Neutrophiles;
- Environ 9 \Rightarrow Basophiles alcalinophiles.

Atmosphère:

- Barophiles.

Disponibilité en eau:

- Xerophil.

2. LES BACTERIES

La bactérie est un être unicellulaire sans noyau, de taille allant de 1 à 10 μm , elle se présente sous diverses formes, qui rendent son comportement aussi différent.

a) Caractérisation:

La caractérisation des bactéries est un peu particulière, vu la dimension des bactéries et les instruments utilisés pour cet objet.

Test de coloration (GRAM):

Le test de coloration GRAM a été réalisé par Christian GRAM en 1884, c'est la méthode d'analyses des parois la plus rapide et facile qui se base sur la couleur observée par microscope. La couleur «**violet**» indique les bactéries de type GRAM (+) et la couleur rose indique les bactéries de type GRAM (-). Le test de coloration est réalisé en 4 étapes, avec fixation des bactéries sur une lame microscopique (figure 11):

- Coloration avec le «violet de gentiane»;
- Mordançage avec «Lugol»;
- Lavage avec l'alcool pour décoloration;
- Sur coloration avec la «safranine».

Lors des première et deuxième étapes du test, le contenu de la bactérie est coloré en violet, cette coloration est fixée en utilisant un agent fixateur « lugol ».

La bactérie ayant une paroi plus pauvre en peptidoglycane, son cytoplasme est décoloré en utilisant l'alcool pendant la troisième étape, pour être recoloré dans la dernière étape en rose (bactérie a GRAM négatif (-)). Tandis que la bactérie à GRAM positif (+), elle

ne laisse pas passer l'alcool en raison de l'épaisse couche de peptidoglycane et donc garde toujours la couleur «violet».

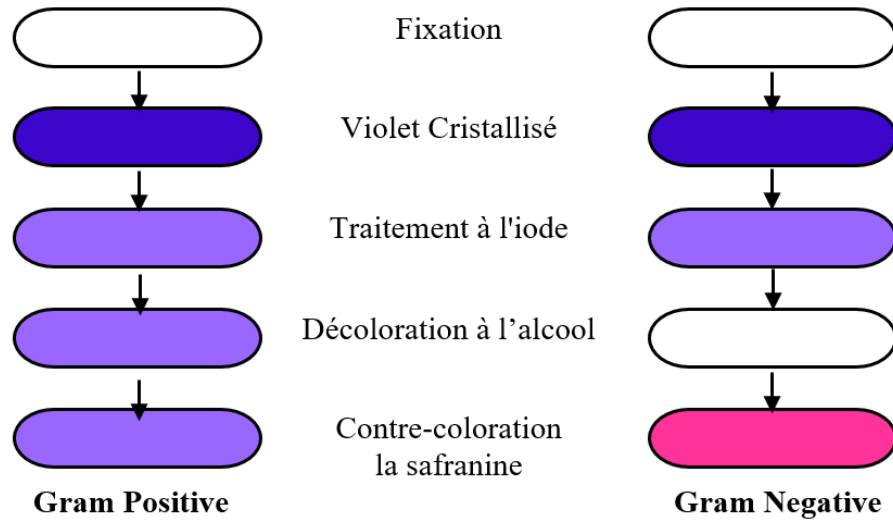


Figure 11: Etapes de la coloration Gram

b) Morphologie des bactéries:

Nous distinguons différentes formes de bactéries, qui sont résumées dans la figure 12. Ces formes peuvent être observées sous microscope après coloration.

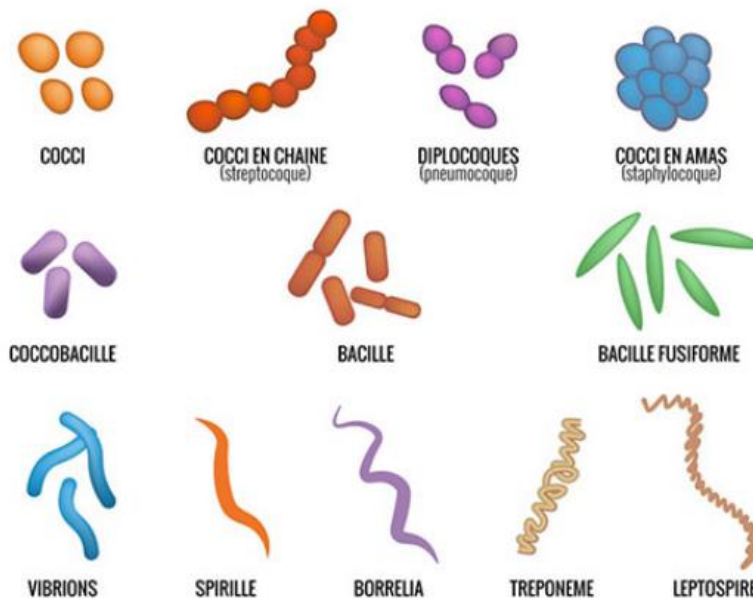


Figure 12: Différentes formes de bactéries (24)

c) Structure bactérienne

La bactérie est composée principalement de trois parties: Cytoplasme, membrane et paroi. D'autres composants peuvent exister, nous citons : capsule comme polymère de surface, des flagelles, pili et plasmides (figure 13).

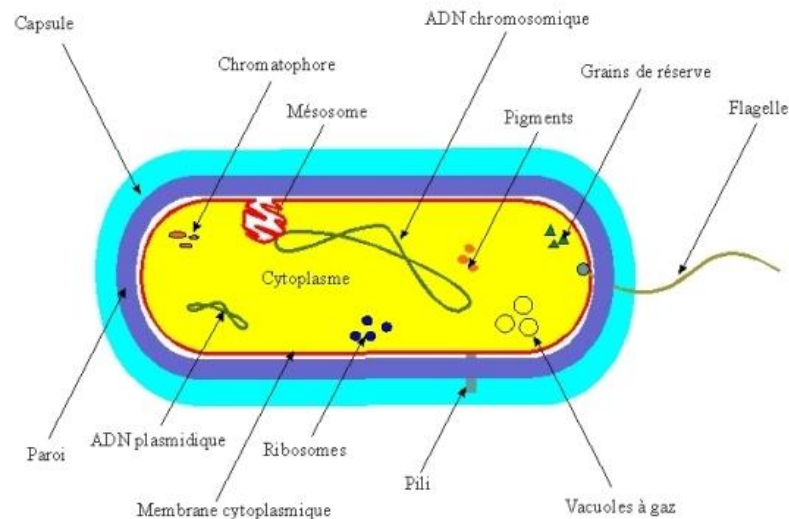


Figure 13: Structure de la cellule bactérienne (25)

i) Cytoplasme:

Il contient environ 70% d'eau et 30% de matière chimique comme le montre la figure 14. La composition en matière est concentrée dans la partie sèche :

- 55% de protéines;
- 10% de lipides;
- 3% de lipopolysaccharides;
- 3% peptidoglycane;
- 40% ribosomes;
- 20% ARN;
- 3% ADN.

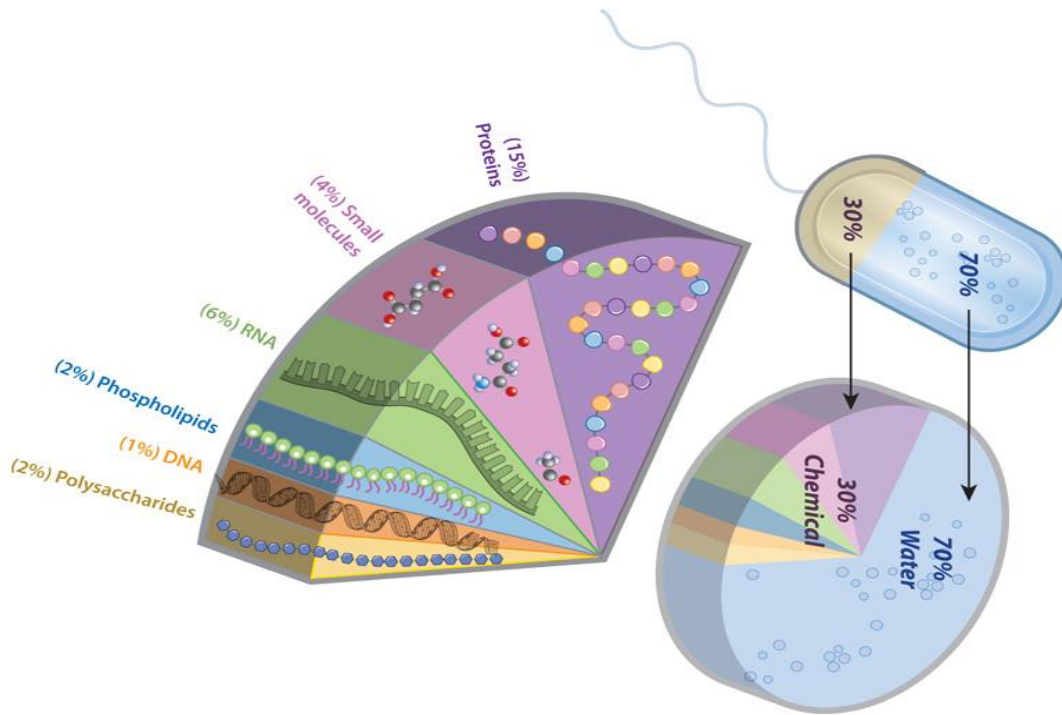


Figure 14: Composants de cytoplasme (26)

ii) Paroi:

C'est la partie responsable de la forme de la bactérie. Elle est rigide et suffisamment résistante pour protéger la cellule des différences de pression osmotique. L'étude de la composition et structure de la paroi est très importante en microbiologie appliquée, afin de comprendre les différentes interactions de la bactérie avec son environnement. Sans prendre en compte les bactéries de caractéristiques spécifiques, le constituant commun entre toutes les parois bactériennes est la muréine (peptidoglycane).

Le peptidoglycane est un hétéropolymère complexe, constitué de trois éléments:

- Epine dorsale alternant des chainons N-Acetyl Glucosamine- Acide N-AcetylMuramique;
- Des chaines latérales peptidiques formées au minimum de quatre acides aminés: Alanine, D-Glycine, L-Lysine et D-Alanine attachées à l'acide muramique;
- Des ponts inter-peptidiques.

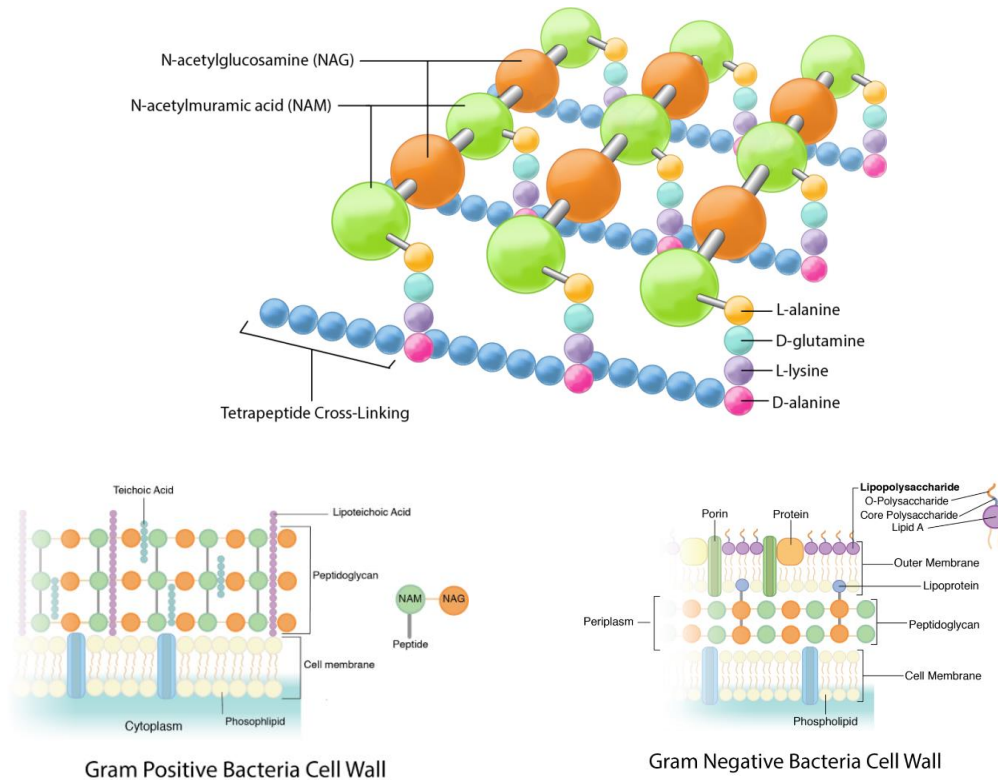


Figure 15: Le peptidoglycane - structure générale et structure de la paroi des bactéries Gram positives et Gram négatives (27)

Paroi des bactéries à gram positif:

Elle se caractérise par une couche de peptidoglycane épaisse et très solide, peu ou absence de protéines et de nombreuses liaisons croisées entre les chaînes glucidiques.

Paroi des bactéries à gram négatif:

Elle se caractérise par une couche de peptidoglycane plus mince, avec plus de complexité.

iii) Membrane:

Elle se situe entre le cytoplasme et la paroi, et est considérée comme membrane tri lamellaire formée d'une double couche de phospholipides dont les pôles sont face à face, associés à des protéines. La membrane a plusieurs fonctions: elle assure, d'une part, la perméabilité sélective et l'échange des substances solubles entre l'intérieur et l'extérieur, et d'autre part les fonctions respiratoires pour les bactéries aérobies, et l'excrétion d'enzymes hydrolytiques.

3. LES CHAMPIGNONS

Les champignons microbiens sont des microorganismes eucaryotes, généralement multicellulaires et hétérotrophes, ils jouent un rôle très important dans le cycle alimentaire de l'écosystème. Nous distinguons plusieurs types de champignons:

- Les levures;
- Les dermatophytes;
- Les moisissures.

4. UTILISATION DES MICROORGANISMES DANS LE TRAITEMENT DES MINERAIS

L'implication de la microbiologie dans le traitement des minerais a permis d'augmenter les possibilités de trouver des solutions de valorisation convenables et de concurrencer avec les méthodes conventionnelles en termes de qualité, d'économie et de protection de l'environnement.

Le phénomène le plus connu est celui de la biosorption, qui consiste à absorber les métaux par des microorganismes, cette méthode est utilisée pour l'extraction minière et la décontamination des effluents acides miniers.

Des études récentes ont montré que les bactéries et leurs métabolites peuvent également aider à la valorisation des minerais par bioflottation. Les microorganismes et/ou les substances qu'ils produisent, tels que les tensioactifs, l'EPS (substances polymères extracellulaires) et diverses protéines peuvent modifier les surfaces de divers substrats, également des minéraux. Le principal objectif de cette technique consiste à utiliser des cellules bactériennes comme collecteurs de flottation et modificateurs permettant une séparation sélective.

CHAPITRE II

METHODES DE TRAITEMENT

Ce chapitre regroupe les méthodes mises en œuvre pour concentrer ou enrichir les minerais en général et, en particulier les minerais de phosphates après extraction. Le choix de la méthode de traitement dépend des caractéristiques du minerai et les objectifs technologiques et économiques recherchés. La préparation mécanique reste toujours la même pour tous les minéraux, avec une différence des schémas technologiques, pour chaque usine traitement.

1. PREPARATION MECANIQUE

La préparation mécanique se définit comme la réduction du minerai provenant d'une carrière ou d'une mine, ayant une dimension allant jusqu'à 1.2 m pour le réduire à une dimension de quelques centaines de microns, afin de libérer d'une manière optimale le minéral utile qui se trouve associé avec les autres minéraux et la gangue. On l'appelle aussi comminution (28).

Elle comprend :

Le concassage : est une opération de réduction du tout-venant extrait de la mine ou de la carrière jusqu' à une dimension de l'ordre de quelques centimètres.

Criblage : C'est est une opération de classement dimensionnel de grains de matières, de formes et dimensions variées, par présentation de ces grains sur des surfaces perforées qui laissent passer les grains de dimensions inférieures aux dimension de la perforation, tandis que les grains de dimensions supérieures sont retenus et évacués séparément.

Broyage: Cette étape consiste à réduire encore la dimension des grains jusqu'à une certaine granulométrie en vue de la libération des grains de minéraux utiles et stériles constituant le minerai.

Classification: Cette étape permet de trier les grains selon leur finesse.

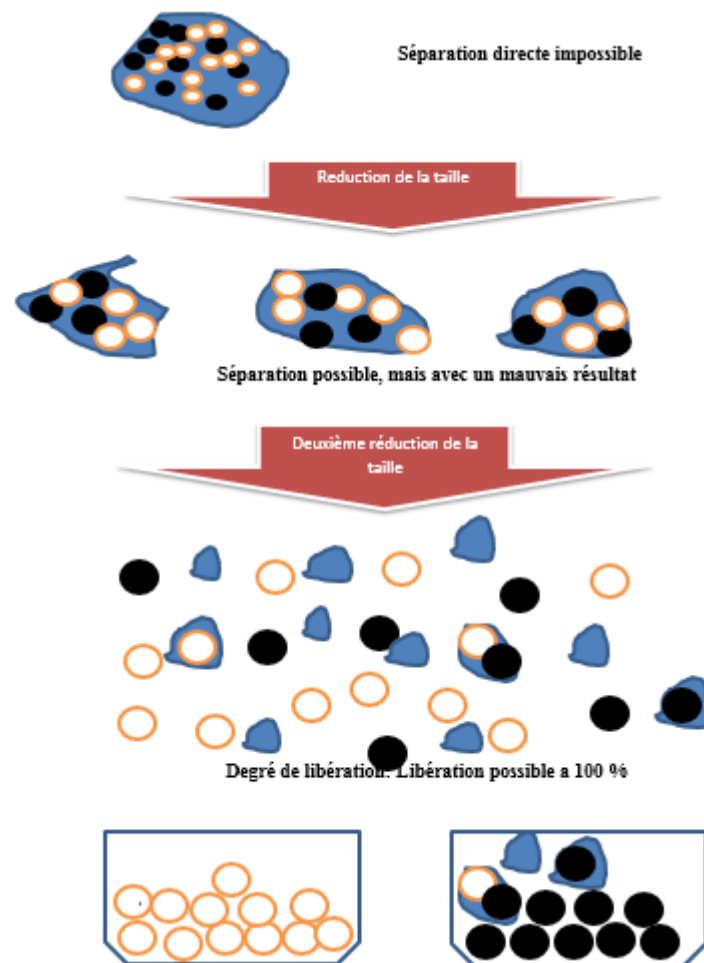


Figure 16: Schéma explicatif de la préparation mécanique

2. METHODES DE SEPARATION

2.1. SEPARATION PHYSIQUE

Dans la nature, les minéraux d'intérêt existent physiquement et chimiquement combinés avec la roche hôte. L'élimination de la gangue indésirable pour augmenter la concentration de minéraux dans un environnement économique de manière viable est la base des opérations de traitement des minerais.

Les méthodes physiques les plus importantes utilisées pour concentrer les minerais sont:

a) La concentration par gravité :

Une technologie qui a ses racines dans l'Antiquité, qui est basée sur le mouvement différentiel des particules minérales dans l'eau en raison de leurs différentes propriétés hydrauliques. La méthode a récemment connu une nouvelle vie avec le développement d'une gamme de dispositifs améliorés de concentration par gravité. Dans un milieu dense, les particules coulent ou flottent dans un liquide dense ou (plus généralement) une suspension dense artificielle; il est largement utilisé dans la valorisation du charbon, le traitement du minerai de fer et du diamant, et dans la pré-concentration des minerais métallifères (28). Les méthodes de concentration par gravité sont aussi utilisées pour les traitement des phosphates avec une gangue silicatée (5), et pour la gangue carbonatée en utilisant la concentration par jigage qui a été déjà testée pour l'élimination de la dolomite des phosphates avec grande teneur en MgO (29).

b) Séparation utilisant les différentes propriétés de surface des minéraux, en l'occurrence la flottation:

La flottation par mousse, qui est l'une des méthodes de concentration les plus importantes. Elle est effectuée par l'attachement des particules minérales à des bulles d'air dans la pulpe agitée. En ajustant le climat de la pulpe par divers réactifs, il est possible de rendre les précieux minéraux avides d'air (aérophiles) et les minéraux de gangue avides d'eau (aérophobes). Il en résulte une séparation par transfert des minéraux précieux vers les bulles d'air qui forment la mousse flottant à la surface de la pulpe(28). La flottation a été testée sur phosphates sédimentaires par plusieurs scientifiques surtout pour la réduction de la gangue carbonatée (30–32)

c) Séparation dépendant des propriétés magnétiques:

Des séparateurs magnétiques de faible intensité peuvent être utilisés pour concentrer des minéraux ferromagnétiques tels que la magnétite (Fe_3O_4), tandis que des séparateurs de haute intensité sont utilisés pour séparer les minéraux paramagnétiques de leur gangue. La séparation magnétique est un processus important dans la valorisation des minerais de fer, et trouve une application dans le traitement des minéraux non-ferreux paramagnétiques. Il est utilisé pour éliminer la wolframite paramagnétique ((Fe, Mn) WO_4) et l'hématite (Fe_2O_3) des minerais d'étain, et a trouvé une application considérable dans le traitement des minéraux non métalliques, tels que ceux trouvés dans les

gisements de sable minéral(28). Cette méthode est aussi utilisé dans le traitement des phosphates ,mais généralement comment post traitement pour l'élimination des substances magnétiques (6).

d) Séparation dépendant des propriétés de conductivité électrique:

La séparation à haute tension peut être utilisée pour séparer les minéraux conducteurs des minéraux non conducteurs. Cette méthode est intéressante, car elle représente théoriquement la méthode de concentration "universelle"; presque tous les minéraux présentent une certaine différence de conductivité et il devrait être possible de séparer presque tous les deux par ce processus. Cependant, la méthode a une application assez limitée et sa plus grande utilité est de séparer certains des minéraux trouvés dans les sables lourds des placers de plage ou de ruisseau. Les minéraux doivent être complètement secs et l'humidité de l'air ambiant doit être régulée, car la majeure partie du mouvement des électrons dans les diélectriques a lieu à la surface et un film d'humidité peut changer complètement le comportement. Le plus gros inconvénient de la méthode est que la capacité des unités de taille économique est faible(28).

Dans de nombreux cas, une combinaison de deux ou plusieurs des techniques ci-dessus est nécessaire pour concentrer un minerai de manière économique. La séparation par gravité, par exemple, est souvent utilisée pour rejeter une grande partie de la gangue, car il s'agit d'un processus relativement bon marché, comme dans le cas des phosphates (6, 33).

Choix de la méthode selon la taille des grains :

Les minerais très difficiles à traiter (réfractaires), en raison d'une fine dissémination des minéraux, d'une minéralogie complexe, ou des deux, répondent très mal aux méthodes ci-dessus. La figure 17 montre l'intervalle de taille des grains pour certaines méthodes de traitement conventionnelles.

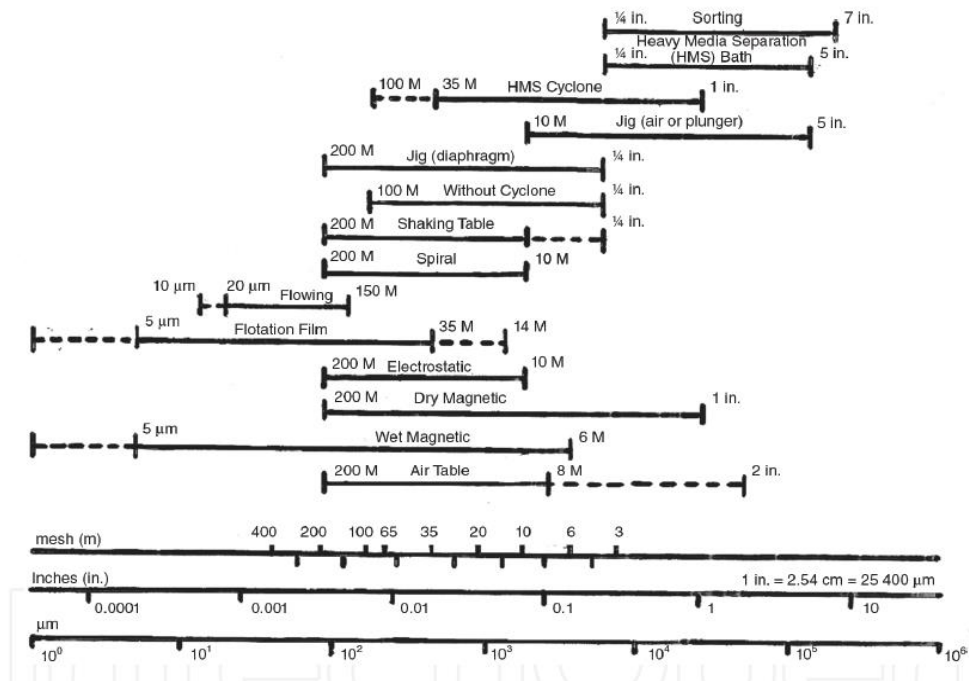


Figure 17: Méthodes appliquées par rapport à la taille des grains (28)

2.2. SEPARATION CHIMIQUE

Ces méthodes se basent sur des processus chimiques, en changeant la composition chimique après l'interaction Minerai/réactif chimique. La méthode la plus connue est la Lixiviation.

Lixiviation

La lixiviation consiste à extraire les métaux de leur minerai en faisant circuler une solution aqueuse. Elle est employée pour la récupération des métaux de valeur (argent, or, cuivre, uranium...) à partir de matériaux géologiques. A l'échelle industrielle, les techniques de lixiviation appliquées sont la lixiviation en tas, la lixiviation en cuve et la lixiviation in situ.

L'utilisation de la lixiviation pour le traitement des phosphates n'est pas populaire, mais il y a des études qui ont été réalisées sur l'utilisation de la lixiviation pour le traitement du minerai de phosphate (34–36).

2.3. SEPARATION BIOLOGIQUE

Les méthodes conventionnelles qui ont été déjà évoquées ont un rôle remarquable pour la récupération des différents minéraux à partir des gisements plus ou moins compliqués. Mais, la réponse aux trois importants facteurs: «concentration, économie et environnement» a permis une collaboration entre les trois spécialités: la minéralurgie, l'économie et l'environnement, qui ont donné naissance à ce qu'on appelle en général «Biomine». La première utilisation de cette nouvelle technique fut menée en 1960 (37).

a) Bioflottation:

Elle garde la même définition que la flottation classique, comme méthode de séparation sélective des minéraux qui se base sur les propriétés chimiques des surfaces des particules. La différence est que dans la nouvelle méthode, nous utilisons des microorganismes qui jouent le rôle de réactifs. Plusieurs recherches ont été faites à ce sujet, (17, 38–40).

Principe:

Comme dans la flottation conventionnelle, on distingue deux types de souches utilisés ; celles qui jouent le rôle de collecteur appelées Bio-collecteurs telles *Rhodococcusopacus*, *Rhodococcusruber* et *Escherichia coli* (41–43). Et celles qui jouent le rôle de déprimant appelés Bio-déprimants, tels *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Ferropasma acidiphilum*, *Leptospirillum ferrooxidans-sulfure* and *Bacillus subtilis*(2, 44–46). Cependant, la question qui se pose est: Comment réagissent ces microorganismes?

Behara dans sa revue critique(3), a essayé de répondre à cette question. Pour cela, il faut comprendre la structure et fonctionnement de la cellule bactérienne et son interaction avec la particule de minéral. On s'intéresse à la membrane de la cellule qui sépare les microbes en deux Gram: positif et négatif. Pour Gram positif, la paroi est plus épaisse et elle est constituée de peptidoglycane et acide teichoïque, tandis que pour la bactérie à Gam négatif, la paroi est plus fine avec l'absence d'acide teichoïque (47).

Les deux paramètres qui définissent l'interaction entre le minéral et le microorganisme sont:

- **Sélectivité:** Le choix du minéral se fait sur la base des caractéristiques biochimiques de la paroi de la cellule microbienne et la composition métallique de la surface du minéral.
- **L'adhésion:** C'est la fixation du microorganisme sur la surface du minéral avec des processus biologiques complexes, pour former un biofilm, ce qui crée de nouvelles propriétés de surface du minéral.

L'efficacité du procédé de bioflottation dépend des conditions suivantes :

- Réactifs: qui peuvent être Bioréactifs ou réactifs chimiques ;
- Débit d'air;
- L'agitation;
- La densité de la pulpe;
- Le conditionnement.

b) Biolixiviation:

La biolixiviation a été utilisée pour la première fois en 1960 pour la récupération du cuivre à partir des déchets à faible teneur en utilisant l'acidithiobacillus ferrooxidans. Aujourd'hui, cette technique est devenue plus populaire, où 5% d'Or et 20% de cuivre sont récupérés par biolixiviation(37).

La biolixiviation est une méthode de valorisation des minerais, en utilisant des microorganismes au lieu des réactifs chimiques (17, 39, 48–52).

Principe:

C'est une technique qui consiste à extraire des métaux contenus dans un minéral/rejet minier par solubilisation provoquée par des microorganismes.

Les paramètres influençant la biolixiviation sont:

- Microorganismes: type et quantité ;
- pH du milieu;
- Température;
- Oxygène dissous;
- Nutriments;
- Minerai: la composition minéralogique du minerai et les métaux qu'il contient.

CHAPITRE III

CARACTERISATION DU MIENRAI DE KEF ESSNOUN

1. INTRODUCTION

Le phosphate de Djebel Onk potentiel revenu pour l'économie algérienne, après les hydrocarbures, fait l'objet d'une recherche scientifique dans le domaine de purification des minerais. Pour concurrencer les pays leaders dans la production et l'exploitation des phosphates dans le monde, il faut développer une technologie susceptible d'améliorer la qualité du produit marchand en BPL % ou P_2O_5 , et réduire les impuretés métallique (Mg) et toxique (Cd) au niveau le plus bas possible. Dans ce cas, on parle généralement, d'une séparation de carbonate de fluorapatite (CFA) et la dolomite, qui demeure un problème majeur pour l'entreprise SOMIPHOS, lors de la purification des phosphates de Djebel Onk.

Les phosphates de Djebel Onk extraits du sol sont titrés entre 2 et 3% en MgO, ce qui très au-dessus de la norme d'utilisation, surtout pour la production de l'acide phosphorique où le taux ne doit pas dépasser les 0,8 %.

Dans le cas des phosphates de Djebel Onk, le Mg se trouve seulement dans la dolomite, d'après la caractérisation et les études déjà réalisées(14).

Dans cette partie expérimentale, notre travail s'est focalisé sur la réduction de la dolomite contenue dans le tout-venant provenant du site de Kef Essnoun. Cette partie a été réalisée au laboratoire de Génie minier à l'école nationale polytechnique d'Alger et des laboratoires de la faculté de Biologie à l'université de Silésie à Katowice, en Pologne. A la fin des essais le taux de MgO a été réduit à 0,75%.

Les travaux aux laboratoires ont été divisés en trois principales parties:

- La préparation mécanique du minerai ou comminution.
- La caractérisation.
- Les essais de séparation.

Cette partie est consacrée à la préparation mécanique et la caractérisation détaillée du minerai brut de Kef Essnoun, en utilisant des multiples méthodes et techniques pour la caractérisation des minerais.

2. PREPARATION MECANIQUE

La préparation mécanique s'est basée sur les anciennes études faites sur la valorisation des phosphates sédimentaires dans le monde. Car, pour établir un plan de préparation mécanique, il faut produire plusieurs plans et vérifier l'efficacité des méthodes de traitement pour chaque plan. Mais le but de notre thèse, consiste à trouver la meilleure méthode de traitement qui assure une bonne purification du minerai de phosphate naturel de Kef Essnoun.

2.1. MINERAI UTILISE

L'étude a été réalisée sur le minerai de phosphate de Kef Essnoun. Un échantillon représentatif du tout-venant destiné au traitement d'une masse de 80 kg a été récupéré du complexe de Kef et des prélèvements dans des différents lieux de la mine de Kef Essnoun de 100 g avec des consignes spécifiques pour l'isolement des microorganismes attachés au minerai. Pour des raisons techniques et de sécurité, le premier échantillon a été prélevé par la société avec les instructions nécessaires pour une représentation de la mine de Kef Essnoun (figure 18). Par contre, pour les échantillons destinés à l'isolement microbiologique, il fallait le faire personnellement afin d'assurer le respect des conditions de stérilisation spécialement (figure 19). Le but de cette partie était d'avoir un produit avec la réduction de la taille des grains du minerai, qui sera prêt à utiliser dans les deux prochaines parties: caractérisation et essais de séparation.



Figure 18: Echantillon du minerai de Kef Essnoun utilisé pour les essais de valorisation



Figure 19: Exemple d'un échantillon utilisé pour l'isolement des microorganismes

2.2. CHOIX DE LA TAILLE DES PARTICULES

La taille des particules recherchée, appelée aussi « maille de libération », est très importante dans la préparation des minerais pour la libération des minéraux et des éléments constituant la gangue. Une meilleure préparation mécanique est un paramètre important pour la suite des opérations de valorisation. Un sous broyage réduira le rendement métal ou degré de récupération. Un surbroyage, engendrera la production des très fines particules qui seront très difficiles ou ne pourront pas être prises en charge par les procédés conventionnels.

Pour tous nos essais, la classe (-160 μm +80 μm) a été choisie, suite aux travaux antérieurs réalisés(8, 31).

2.3. LA PREPARATION MECANIQUE

La préparation mécanique a été réalisée au laboratoire de génie minier, à l'école nationale polytechnique d'Alger avec le protocole standard du laboratoire, présenté dans la figure 20, ci-après :

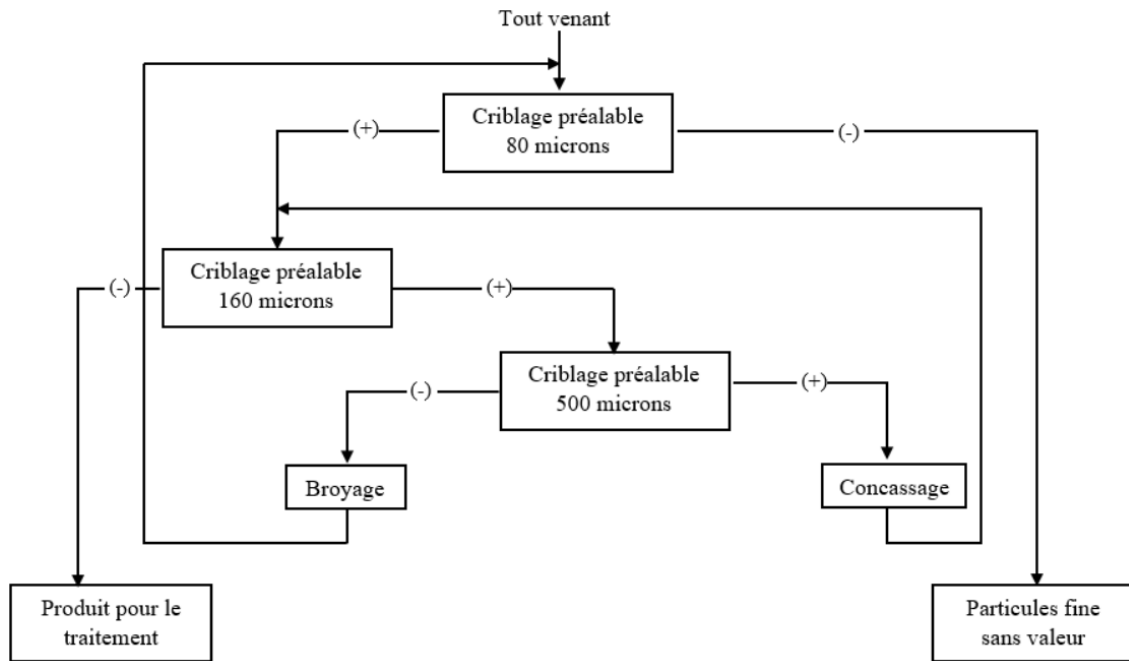


Figure 20: Schéma technologique de la préparation mécanique du minerai de Kef Essnoun

2.3.1. QUARTAGE

Le quartage a été réalisé avec un diviseur à couloirs. Un échantillon représentatif de 80 Kgs a été utilisé, pour obtenir deux quantités de minerai de 40 kgs chacune, une quantité pour le stockage et la deuxième pour une autre division. Le poids a été réduit jusqu'à environ 20 Kgs, comme le montre la figure 21.

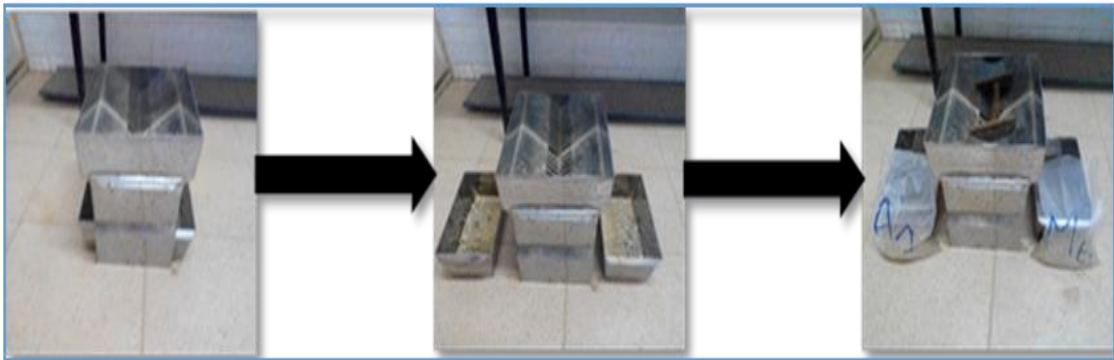


Figure 21: Quartage de tout venant à l'aide d'un diviseur a couloirs

2.3.2. CONCASSAGE

Le tout-venant provenant de la mine de Kef Essnoun est avant tout, tamisé à 80 microns. Le passant de ce tamis est rejeté, puisque il est pauvre en minéral de valeur et

contenant de très fines particules, qui vont influencer négativement sur les fonctions de la plus part des méthodes de traitement. Le refus est envoyé au tamis de 160 microns. Le passant du tamis de 160 microns constitue l'alimentation des cellules de flottation. Le refus du tamis de 160 microns, alimente à son tour un tamis de 500 microns. Le passant du tamis de 500 microns alimente le broyeur et le produit broyé est renvoyé vers le tamis de 80 microns. Le refus du tamis de 500 microns est envoyé au concassage, en utilisant un concasseur à mâchoires, suivi d'un concasseur giratoire du laboratoire de Génie Minier de l'ENP. Cette opération a permis de réduire la taille des grains du minerai brut à une granulométrie de l'ordre de quelques millimètres.

2.3.3. BROYAGE

Lors de cette opération, le minerai après le quartage a été broyé jusqu'à une taille [-160 μm +80 μm] à l'aide d'un broyeur planétaire à billes portant trois jarres à l'intérieures desquelles se trouvent une charge broyante composée de billes en agate (figure 22). Pour assurer un produit broyé avec le moins possible de particules fines, suivant le schéma de la figure 20.



Figure 22: Broyeur planétaire à billes utilisé pour le broyage

2.3.4. TAMISAGE

Pour les besoins du tamisage, la tamiseuse Retsch-AS200 a été utilisé.

3. LA CARACTERISATION DU MINERAI DE KEF ESSNOUN

Nous pouvons admettre que la caractérisation du minerai est 50% de la solution de traitement. Pour cela, le minerai a été caractérisé avant et après le traitement, pour prendre deux importantes décisions: la première est quel type de traitement faut-il appliquer? La deuxième est la qualité du produit et l'efficacité de la méthode appliquée? Des caractérisations ont été déjà faites pour bien identifier le phosphate de Kef Essnoun, qui ont été exposées dans la partie théorique. Dans ce qui suit, nous allons exposer les résultats de différentes techniques de caractérisation, qu'on a pu réaliser et qui sont suffisantes pour comprendre le minerai.

3.1. ANALYSES GRANULOMETRIQUE

3.1.1. METHODOLOGIE

Cette partie a été réalisée avant la préparation mécanique. Elle consiste à déterminer les proportions pondérales du minerai brut, en respectant la norme d'analyse granulométrique utilisée au de laboratoire de génie minier. L'analyse granulométrique de phosphate de Kef Essnoun a été réalisée à sec en utilisant la tamiseuse électrique de type Retsch-AS200.

Le choix des tamis est établi sur la base de l'équation ci-dessous en comparaison avec les tamis disponibles au niveau de laboratoire de génie minier. Pour faire, il faut décider de l'ouverture du premier tamis selon la taille du gros grain, qui est dans notre cas: 8 mm.

$$d_{n+1} = \frac{d_n}{\sqrt{2}}$$

D_n : le diamètre du premier tamis.

D_{n+1} : le diamètre du tamis suivant.

Le choix de la masse est basé sur la norme NF P 18-560, qui permet de calculer l'intervalle de la masse qu'on peut choisir pour le test. Le calcul dépend de l'ouverture du premier tamis, comme le montre l'équation suivante:

$$0,2 * D \text{ Kg} < M < 0,6 * D \text{ Kg} \text{ alors } 1,6 \text{ Kg} < M < 4,8 \text{ Kg}$$

D :Ouverture du premier tamis.

M : Masse du minerai.

Deux tests ont été réalisés; on a utilisé 2 Kgs pour les besoins de chaque test.

3.1.2. RESULTATS ET INTERPRETATION

Les résultats sont résumés dans le tableau 5 et la figure 23. Nous remarquons que plus de 80% des grains ont une granulométrie inférieure à 250 μm , par contre, le pourcentage des fines au-dessous de 40 μm est environ 0,7%. Cette première remarque nous donne une première idée de plan de la préparation mécanique. Ce flow-sheet a comme avantage, la réduction des couts d'énergie de broyage et la réduction de la quantité des particules fines dans le produit destiné au traitement, qui posent un grand problème lors de la flottation.

D'autres facteurs peuvent être calculés afin de caractériser le minerai sur la base de sa granulométrie:

Le coefficient d'uniformité Cu: qui représente en quelque sorte une caractérisation quantitative de l'étalement d'une courbe granulométrique, il peut être déterminé par la formule suivante (tableau 6):

$$Cu = \frac{D_{60}}{D_{10}} \text{ «Module sans unité»}$$

D60, D10: diamètre des particules pour lesquelles, on a un pourcentage de passant cumulé égal à 60% et 10% respectivement.

Tableau 5: Resultats de l'analyse granulométrique du phosphate de Kef Essnoun

Classe (mm)	Refus(g)	Refus (%)	Refus cumulé(g)	Refus cumulé(%)	Passant cumulé(g)	Passant cumulé(%)
>8,0	34	1,7	34	1,7	1998,3	99,9
-8,0+5,0	42	2,1	76	3,8	1924	96,2
-5,0+4,0	17	0,9	93	4,7	1907	95,4
-4,0+2,5	35	1,8	128	6,4	1872	93,6
-2,5+2,0	20	1,0	148	7,4	1852	92,6
-2,0+1,6	27	1,4	175	8,8	1825	91,3
-1,6+1,0	55	2,8	230	11,5	1770	88,5
-1,0+0,8	10	0,5	240	12	1760	88,0
-0,8+0,5	105	5,3	345	17,3	1655	82,8
-0,5+0,315	212	10,6	557	27,9	1443	72,2
-0,315+0,250	264	13,2	821	41,1	1179	59,0
-0,25+0,16	861	43,1	1682	84,1	318	15,9
-0,16+0,125	162	8,1	1844	92,2	156	7,8
-0,125+0,08	60	3,0	1904	95,2	96	4,8
-0,08+0,063	47	2,4	1951	97,6	49	2,5
-0,063+0,04	35	1,8	1986	99,3	14	0,7
<0,04	9	0,5	1995	99,8	-	-

D’après la valeur de Cu, on peut classer les matériaux en 5 classes:

- Cu <2: granulométrie très serrée.
- 2 <Cu< 5: granulométrie serrée.
- 5 <Cu< 20: granulométrie semi étalée.
- 20 <Cu< 200: granulométrie étalée.
- 200 >Cu: granulométrie très étalée.

Coefficient de courbure (Cc): permet de quantifier la distribution des particules dans une courbe granulométrique, il est déterminé par la relation suivante:

$$C_c = \frac{(D_{30})^2}{D_{60} \cdot D_{10}} \text{ «Module sans unité»}$$

Pour notre échantillon le calcul des coefficients d’uniformité et de courbure a donné les résultats suivants:

Tableau 6: Facteurs de l'analyse granulométrique

D 60	D 10	D30	Cu	Cc
0,4	3,25	1,5	0,26	1,7

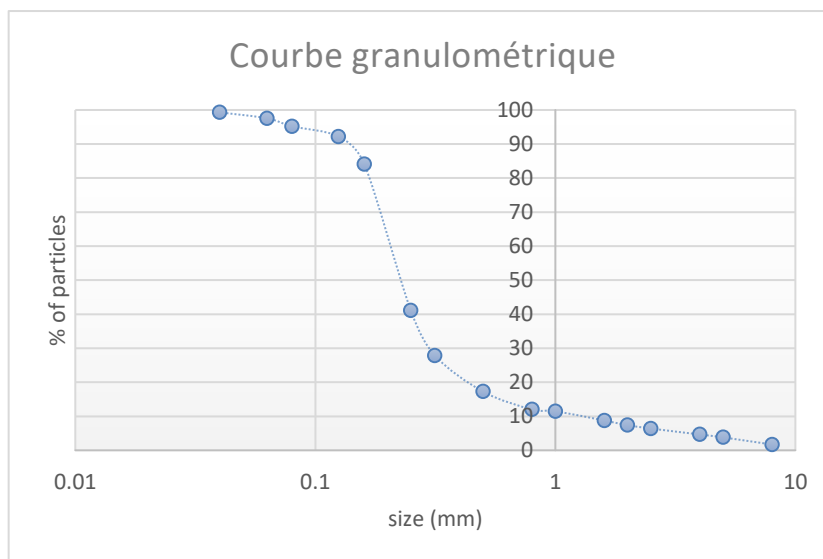


Figure 23: Courbe granulométrique du minerai de Kef Essnoun

3.2. L'ANALYSE MINERALOGIQUE

L'étude minéralogique des classes granulométriques du minerai brut de phosphate de Kef Essnoun est réalisée au laboratoire de Diffraction de Rayons X, à la faculté de sciences de la terre de l'université de Silésie- Katowice. Ces analyses sont faites avec un Diffractomètre «de poudre» PANalytical X'Pert PRO MPD, alimenté par un générateur de rayons X Philips PW3040/60 et équipé d'un détecteur X'Celerator (figure 24).

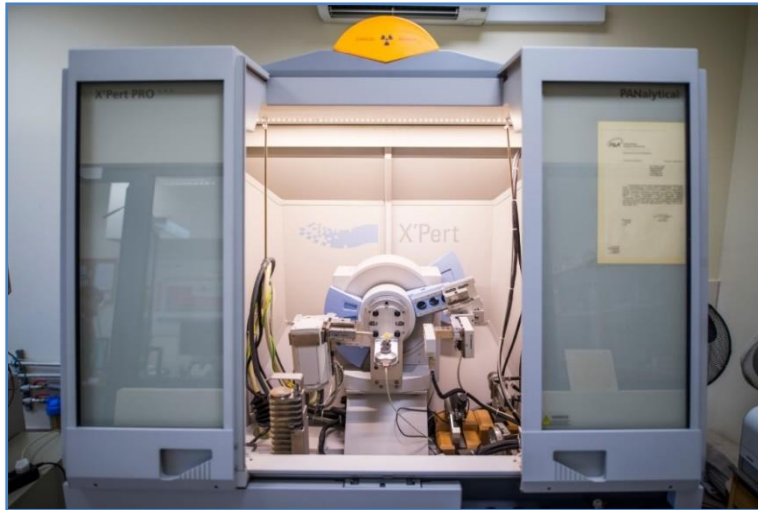


Figure 24: Diffractomètre «de poudre» PANalytical X'Pert PRO MPD

3.2.1. METHODOLOGIE

La première étape était la préparation de l'échantillon pour le test. Pour chaque classe, 1 g d'échantillon a été broyé à une taille varie de 40 à 50 μm , puis il a été compacté dans un palet en métal (figure 25). Il faut s'assurer que le niveau de l'échantillon est le même avec la surface du palet et sa surface ne contient pas des plis. Le palet a été positionné dans l'appareil déjà configuré pour les besoins de la mesure. Un échantillon du minerai préparé pour les prochains traitements a été analysé aussi.



Figure 25: Palet utilisé pour DRX

3.2.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

Les résultats obtenus après l’analyse et études des mesures obtenues, sont résumés dans le tableau 7 pour la composition minéralogique des différentes classes granulométriques de minerai brut et dans le tableau 8 pour la composition minéralogique du minerai destiné à la partie de traitement.

De la première vue, nous constatons que les minéraux principaux de Kef Essnoun sont le carbonate-fluorapatite(CFA) et la dolomite, et les minéraux secondaires sont : Quartz, calcite et clinoptilolite. Une forte teneur de CFA se concentre dans les classes comprises entre 160µm et 500 µm, avec une très faible quantité de Dolomite. Cette dernière est plus intense dans les grains fins (entre 60 µm et 125 µm).

Tableau 7: Composition minéralogique du minerai brut de Kef Essnoun

Classes (mm)	La composition minéralogique (%)				
	Calcite	CFA	Clinoptilolite	Dolomite	Quartz
< 0,04	5,0	54,0	12,5	28,0	0,5
-0,063+0,04	4,0	59,0	6,5	29,5	1,0
-0,08+0,063	2,5	60,0	2,0	35,0	0,5
-0,125+0,08	1,5	61,5	2,0	29,0	6,0
-0,16+0,125	3,0	73,0	1,0	21,0	2,0
-0,25+0,16	1,0	89,0	0,5	5,5	4,0
-0,315+0,250	0,5	92,5	1,5	5,0	0,5
-0,5+0,315	0,5	97,0	0,0	2,0	0,5
-0,8+0,5	1,5	85,0	0,0	13,0	0,5
-1,0+0,8	4	73	0	18,5	4,5
-1,6+1,0	3,5	69,2	0,8	24,8	1,7
-2,0+1,6	9	69,5	1	18	2,5
-2,5+2,0	4,5	69,5	1,5	23	1,5
-4,0+2,5	7	58	1	33	1
-5,0+4,0	5	65,5	1	27	1,5
> 5,0	5	64	1,5	29	0,5

Tableau 8:Composition minéralogique en (%) du minerai de Kef Essnoun après la préparation mécanique

Minéraux	calcite	CAF	Clinoptilolite	Dolomite	Quartz
Teneur (%)	1,0	87,5	1	9,5	1

La composition minéralogique du minerai après la préparation mécanique est la plus importante pour nos expériences. Les résultats obtenus dans cette partie vont être comparés avec les résultats après chaque traitement effectué sur le même minerai. Les minéraux présents dans cet échantillon sont les mêmes avec ceux du tableau 8.

3.3. OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES PAR MICROSCOPE BINOCULAIRE

Cette caractérisation a été rajoutée à la partie de caractérisation du minerai, pour bien visualiser et identifier le minerai. Ça ne nécessite pas une préparation spécifique.

3.3.1. METHODOLOGIE

Un échantillon de 0,25 g de chaque classe granulométrique a été fixé sur une lame en verre (figure 27) d'une façon à avoir une seule couche des grains, recouvert avec une lamelle pour une bonne observation. Le microscope binoculaire est équipé d'une caméra pour la prise des photos.



Figure 26: Microscope Nokon SMZ1500 (à gauche) et microscope Nikon Eclipse 80i (à droit)

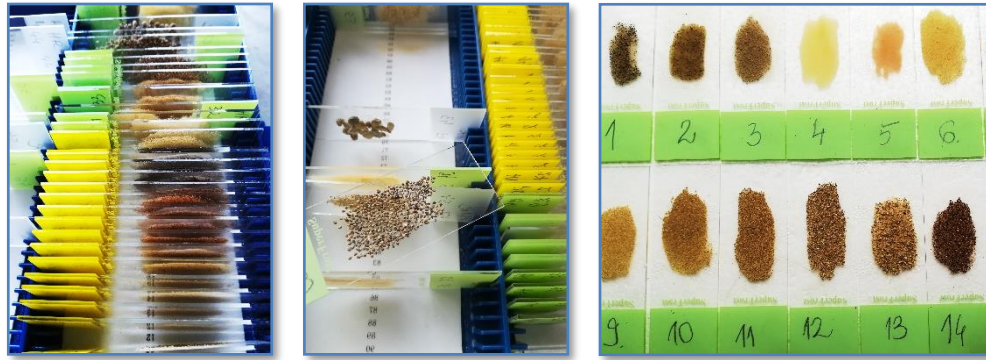
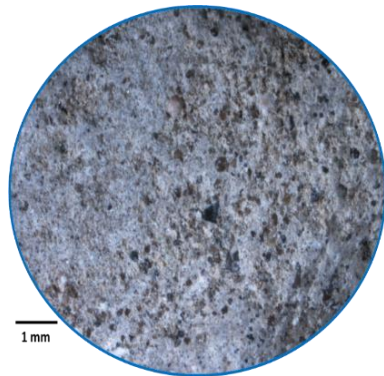


Figure 27: Lames préparées pour l'analyse des fractions du minerai de Kef Essnoun

3.3.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS:

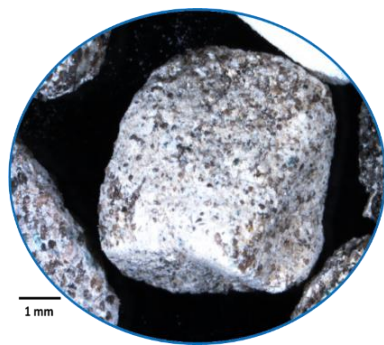
Les photos qui ont été prises sont présentées avec la composition minéralogique de chaque classe dans la table 1.

Table 1: Photos de fractions du minerai avec la composition mineralogique



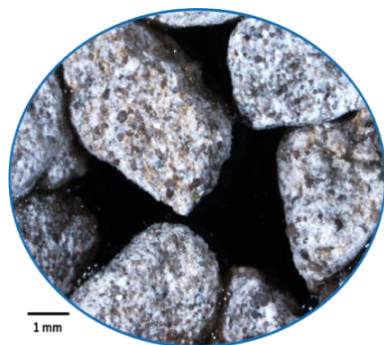
Fraction: >5,00 mm

Calcite:	5,0%
CFA:	64,0%
Clinoptilolite:	1,5%
Dolomite:	29,0%
Quartz:	0,5%



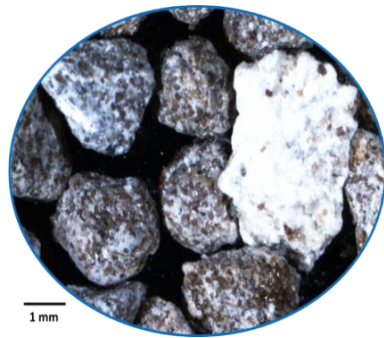
Fraction: 4,00-5,00 mm

Calcite:	5,0%
CFA:	65,5%
Clinoptilolite:	1,0%
Dolomite:	27%
Quartz:	1,5%



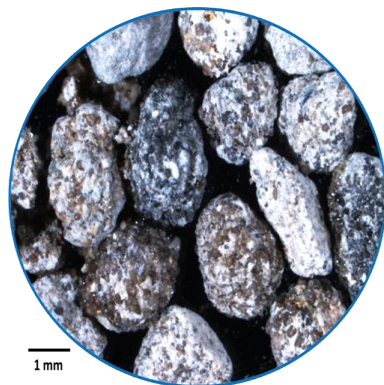
Fraction: 2,00-4,00 mm

Calcite:	7,0%
CFA:	58,0%
Clinoptilolite:	1,0%
Dolomite:	33,0%
Quartz:	1,0%



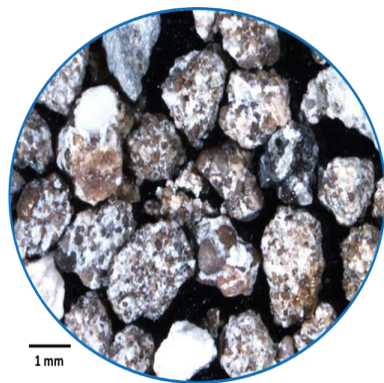
Fraction: 2,00-2,50 mm

Calcite:	4,5%
CFA:	69,5%
Clinoptilolite:	1,5%
Dolomite:	23,0%
Quartz:	1,5%



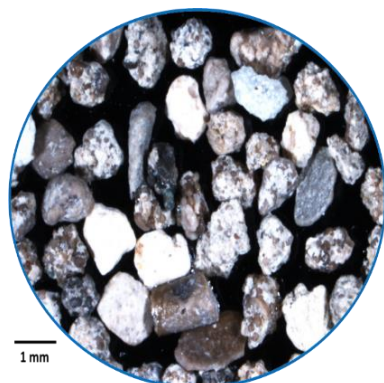
Fraction: 1,60-2,00 mm

Calcite:	9,0%
CFA:	69,5%
Clinoptilolite:	1,0%
Dolomite:	18,0%
Quartz:	2,5%



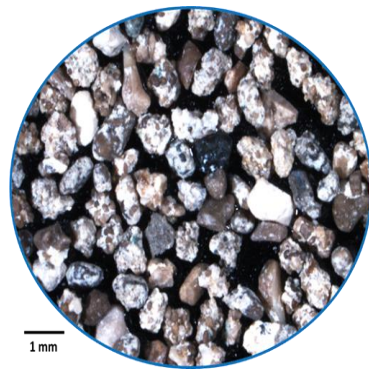
Fraction: 1,00-1,60 mm

Calcite:	3,5%
CFA:	69,0%
Clinoptilolite:	1,0%
Dolomite:	25,0%
Quartz:	1,5%



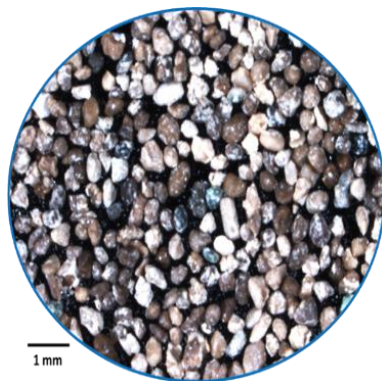
Fraction: 0,80-1,00 mm

Calcite:	4,0%
CFA:	73,0%
Clinoptilolite:	0,5%
Dolomite:	18,5%
Quartz:	4,5%



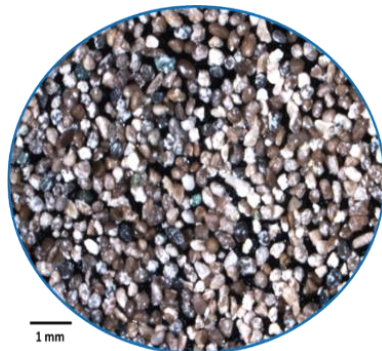
Fraction: 0,50-0,80 mm

Calcite:	1,5%
CFA:	85,0%
Clinoptilolite:	0,0%
Dolomite:	13,0%
Quartz:	0,5%



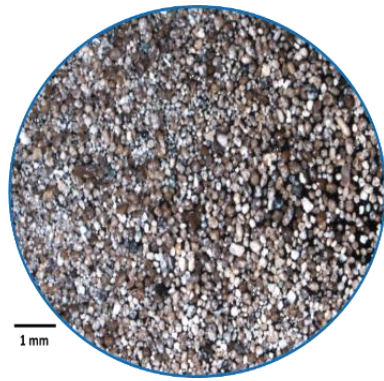
Fraction: 0,315-0,50 mm

Calcite:	0,5%
CFA:	97,0%
Clinoptilolite:	0,0%
Dolomite:	2,0%
Quartz:	0,5%



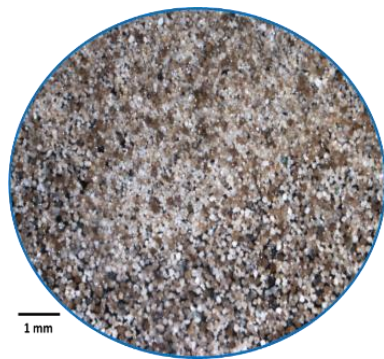
Fraction: 0,250-0,315 mm

Calcite:	0,5%
CFA:	92,5%
Clinoptilolite:	1,5%
Dolomite:	5,0%
Quartz:	0,5%



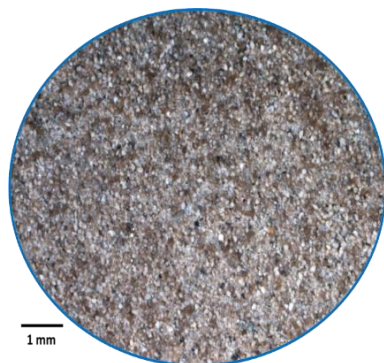
Fraction: 0,160-0,250 mm

Calcite:	1,0%
CFA:	89,0%
Clinoptilolite:	0,5%
Dolomite:	5,5%
Quartz:	4,0%



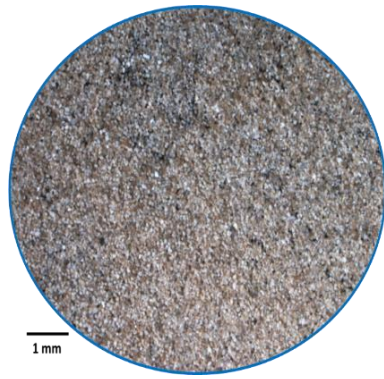
Fraction: 0,125-0,160 mm

Calcite:	3%
CFA:	73,5%
Clinoptilolite:	1%
Dolomite:	21,0%
Quartz:	1,5%



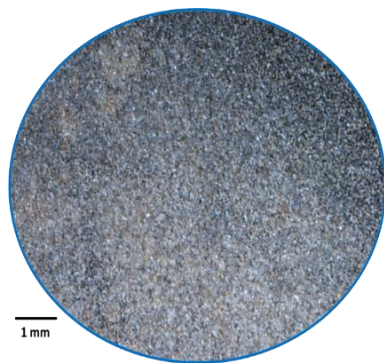
Fraction: 0,080-0,125 mm

Calcite:	1,5%
CFA:	61,5%
Clinoptilolite:	2,0%
Dolomite:	29,0%
Quartz:	6,0%



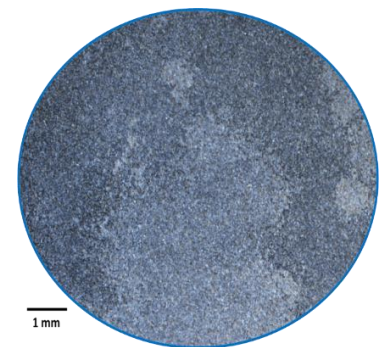
Fraction: 0,063-0,080 mm

Calcite:	2,5%
CFA:	60,0%
Clinoptilolite:	2,0%
Dolomite:	35,0%
Quartz:	0,5%



Fraction: 0,040-0,063 mm

Calcite:	4,0%
CFA:	59,0%
Clinoptilolite:	6,5%
Dolomite:	29,5%
Quartz:	1%



Fraction: <0,040 mm

Calcite:	5,0%
CFA:	54,0%
Clinoptilolite:	12,5%
Dolomite:	28,0%
Quartz:	0,5%

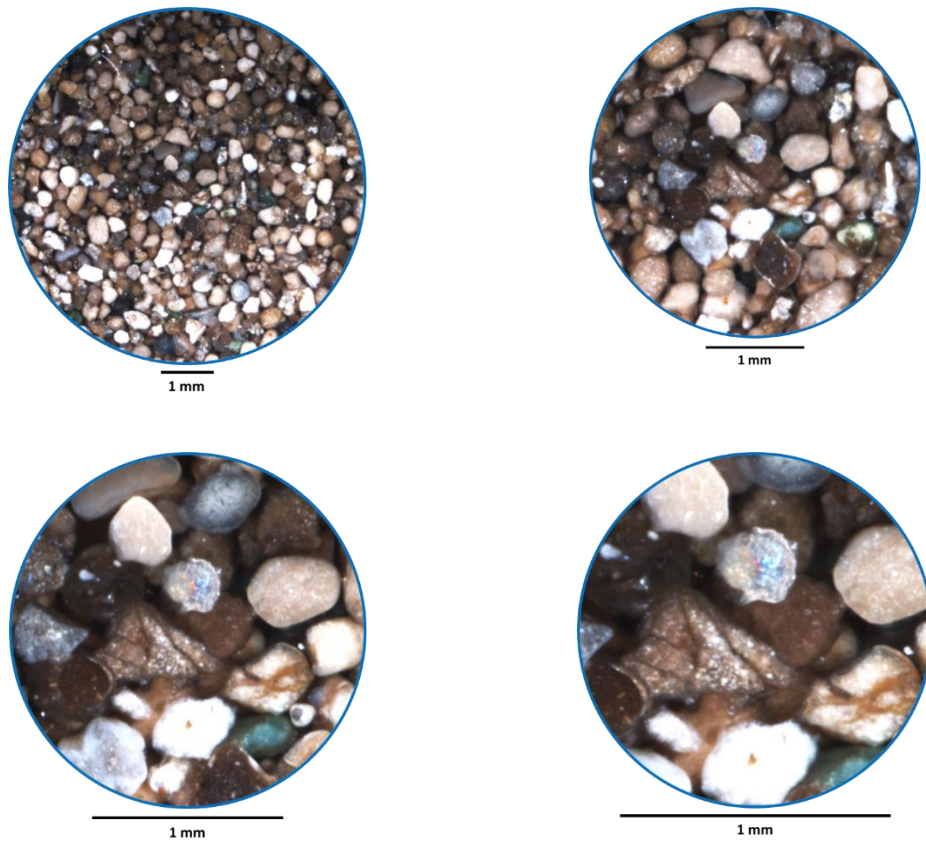


Figure 28: Observation des grains sous microscope (minerai noyé dans la résine)

3.4. OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES PAR MEB ET EDS

Les observations microscopiques ont été réalisées par deux techniques :

1) La microscopie électronique à balayage (MEB): Elle permet d'obtenir des images de surfaces de pratiquement tous les matériaux solides avec une grande précision. Dans notre cas, les observations microscopiques MEB ont été faites au laboratoire de Microscopie Electronique au département de zoologie de la faculté de biologie et de protection de l'environnement de l'Université de Silésie à l'aide d'un microscope à balayage Phenom XL» (figure 29).

2) La spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie : elle est combinée avec la microscopie électronique à balayage (MEB), microscopie électronique en transmission (TEM) et la microscopie électronique en transmission par balayage (STEM). Cette technique assure en plus des observations et des images de haute résolution, la composition chimique des éléments présents dans l'échantillon. Nous avons utilisé l'appareil UHR FE-SEM Hitachi SU 8010 équipé d'un spectromètre à rayons X à

dispersion d'énergie EDS de la Faculté de biologie et de protection de l'environnement de l'Université de Silésie (figure 30).



Figure 29 : Microscope électronique à balayage Phenom XL



Figure 30:EDS (UHR FE-SEM Hitachi SU 8010)

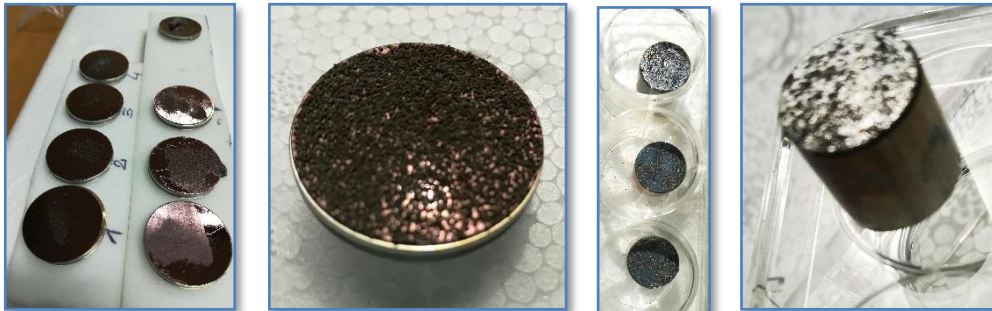


Figure 31:Lames (tables métalliques) préparées pour l'observation du minerai au microscope électronique à balayage. Le minerai a été collé sur un ruban de charbon et recouvert d'une fine couche d'or

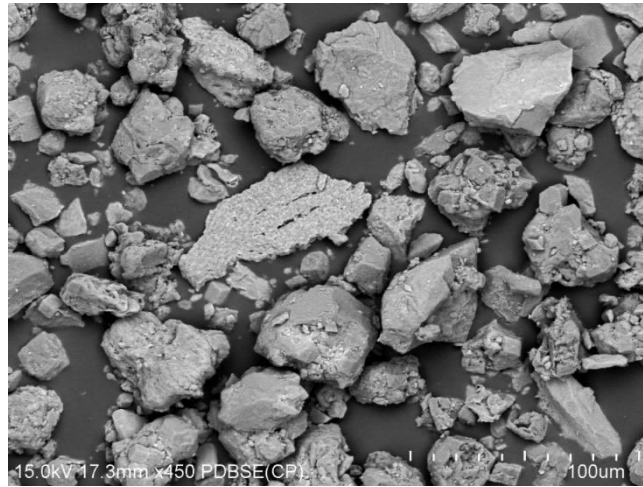
3.4.1. METHODOLOGIE

La préparation des échantillons est la même pour les deux techniques. Les échantillons à observer ont été étalés sur des supports métalliques permettant aux grains de résister aux faisceaux d'électron en utilisant un ruban adhésif à double faces, puis métallisés avec de l'or afin de les rendre conducteurs.

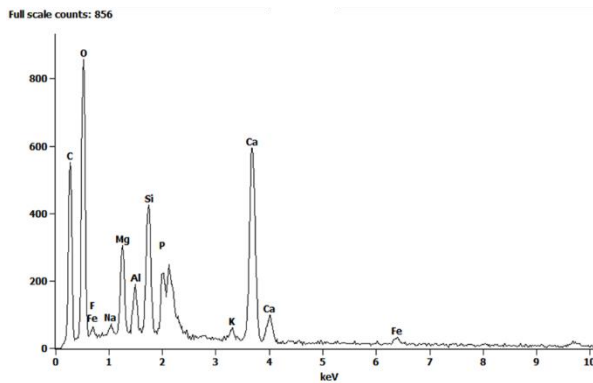
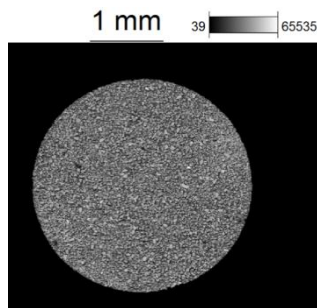
3.4.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

Nous présentons dans cette section les résultats obtenus par microscopie électronique à balayage et spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie.

Table 2 : Caractérisation générale de la classe 40 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS

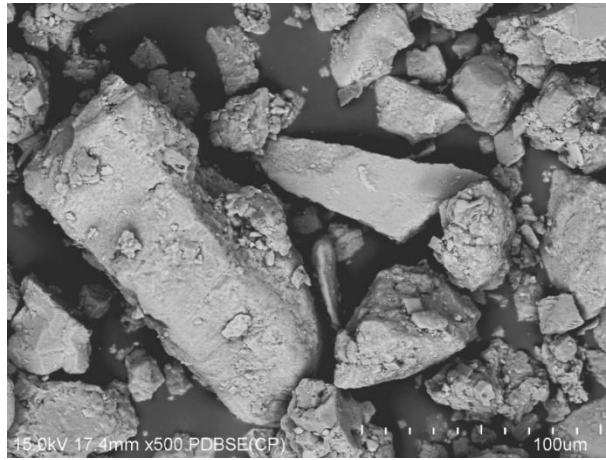


Surface mesurée

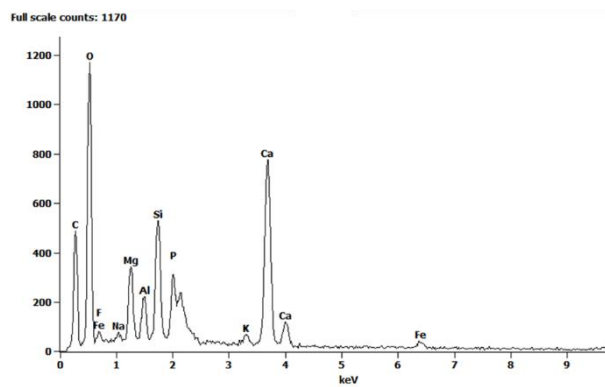
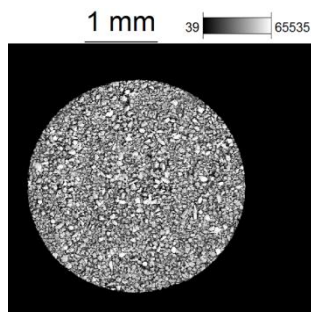


Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	14,9	25,0	C	14,9
O K	42,1	53,0	O	42,1
F K	0,3	0,4	F	0,3
Na K	0,5	0,4	Na	0,5
Mg K	3,9	3,2	Mg	3,9
Al K	1,8	1,3	Al	1,8
Si K	5,5	3,9	Si	5,5
P K	2,5	1,7	P	2,5
Ca K	18,2	9,1	Ca	18,2
Fe K	2,2	0,8	Fe	2,2
Total	100,0	100,0		100,0

Table 3:Caracterisaition générale de la classe 63 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS

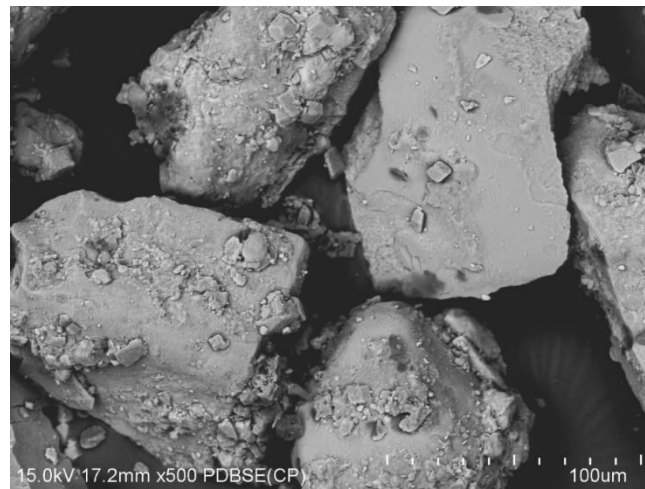


Surface mesurée

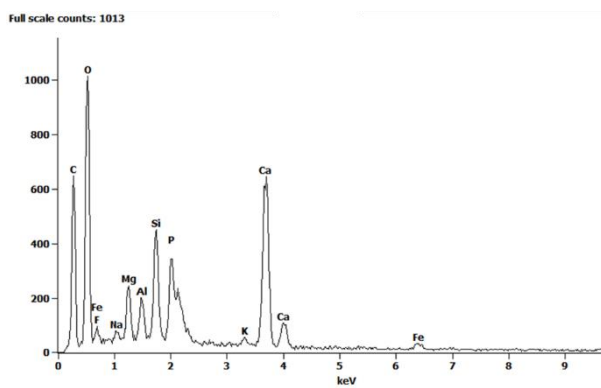
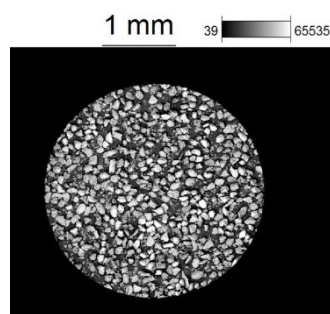


Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	10,9	18,6	C	10,9
O K	44,7	57,4	O	44,7
F K	1,0	1,1	F	1,0
Na K	0,5	0,5	Na	0,5
Mg K	4,1	3,4	Mg	4,1
Al K	2,1	1,6	Al	2,1
Si K	5,8	4,2	Si	5,8
P K	2,1	1,4	P	2,1
Ca K	19,0	9,8	Ca	19,0
Fe K	2,3	0,8	Fe	2,3
Total	100,0	100,0		100,0

Table 4: Caractérisation générale de la classe 80 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS

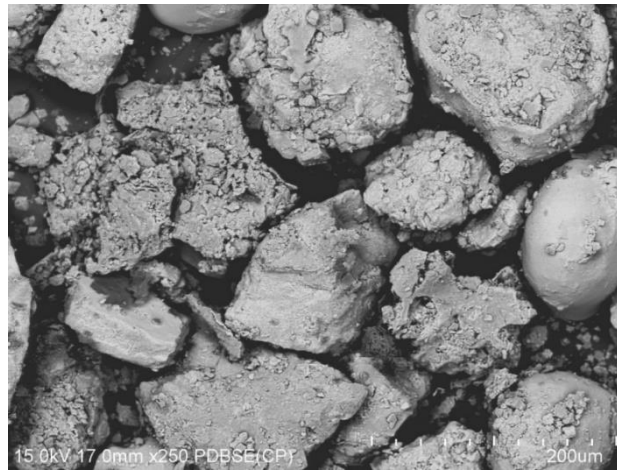


Surface mesurée

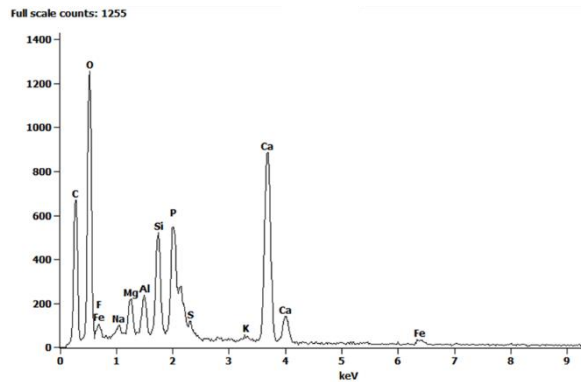
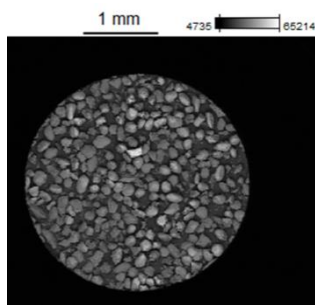


Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	14,5	24,3	C	14,5
O K	43,0	53,9	O	43,0
F K	1,4	1,5	F	1,4
Na K	0,6	0,6	Na	0,6
Mg K	2,6	2,1	Mg	2,6
Al K	1,7	1,3	Al	1,7
Si K	4,9	3,5	Si	4,9
P K	3,3	2,1	P	3,3
Ca K	18,0	9,0	Ca	18,0
Fe K	1,9	0,7	Fe	1,9
Total	100,0	100,0		100,0

Table 5: Caractérisation générale de la classe 125 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS

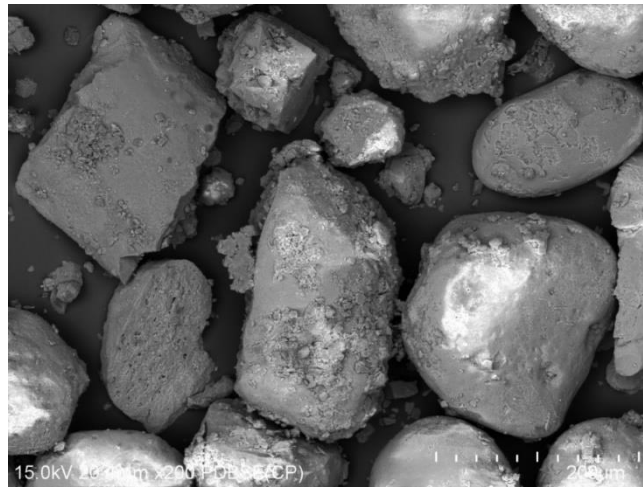


Surface mesurée

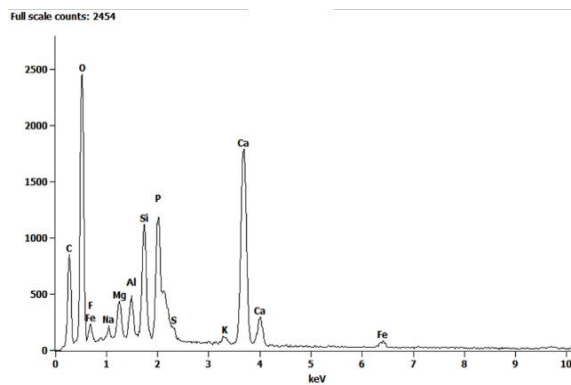
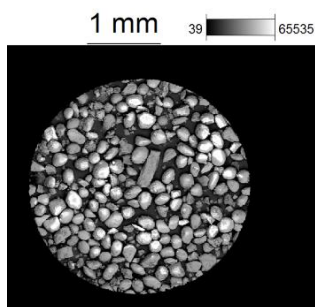


Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	13,7	23,3	C	13,7
O K	41,5	53,0	O	41,5
F K	1,9	2,1	F	1,9
Na K	0,6	0,5	Na	0,6
Mg K	1,8	1,5	Mg	1,8
Al K	1,5	1,2	Al	1,5
Si K	4,4	3,2	Si	4,4
P K	5,2	3,4	P	5,2
S K	0,8	0,5	S	0,8
Ca K	18,9	9,7	Ca	18,9
Fe K	1,9	0,7	Fe	1,9
Total	100,0	100,0		100,0

Table 6: Caractérisation générale de la classe 125 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS

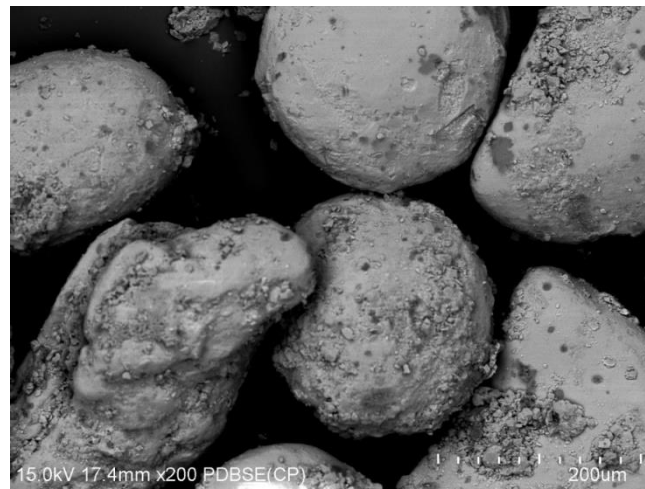


Surface mesurée

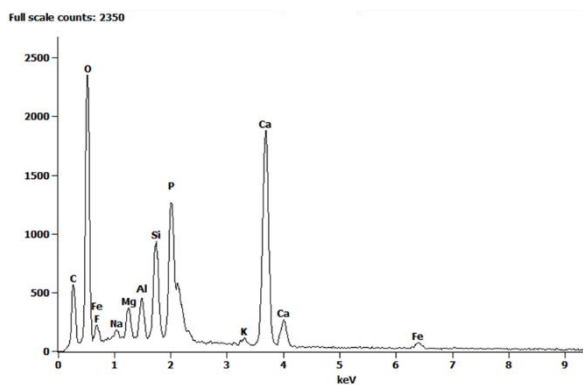
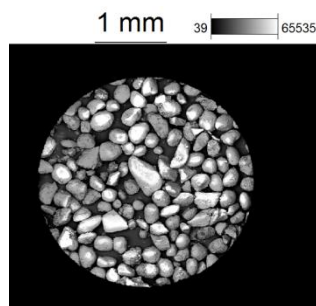


Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	9,2	16,4	C	9,2
O K	41,9	56,1	O	41,9
F K	2,6	2,9	F	2,6
Na K	0,6	0,6	Na	0,6
Mg K	1,9	1,7	Mg	1,9
Al K	1,6	1,3	Al	1,6
Si K	4,8	3,7	Si	4,8
P K	5,9	4,1	P	5,9
S K	0,8	0,5	S	0,8
Ca K	20,2	10,8	Ca	20,2
Fe K	2,0	0,8	Fe	2,0
Total	100,0	100,0		100,0

Table 7: Caractérisation générale de la classe 160 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS



Surface mesurée

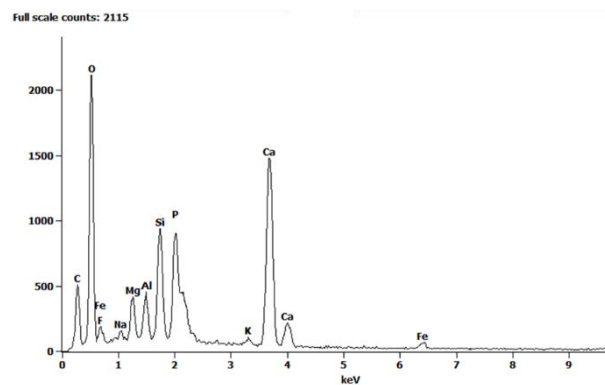
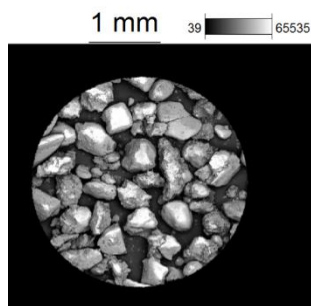


Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	6,5	11,8	C	6,5
O K	43,8	59,8	O	43,8
F K	2,5	2,9	F	2,5
Na K	0,6	0,6	Na	0,6
Mg K	1,6	1,4	Mg	1,6
Al K	1,8	1,5	Al	1,8
Si K	4,8	3,8	Si	4,8
P K	6,3	4,4	P	6,3
Ca K	22,0	12,0	Ca	22,0
Fe K	1,8	0,7	Fe	1,8
Total	100,0	100,0		100,0

Table 8: Caractérisation générale de la classe 315 µm du minerai de Kef Essnoun par MEB/EDS



Surface mesurée

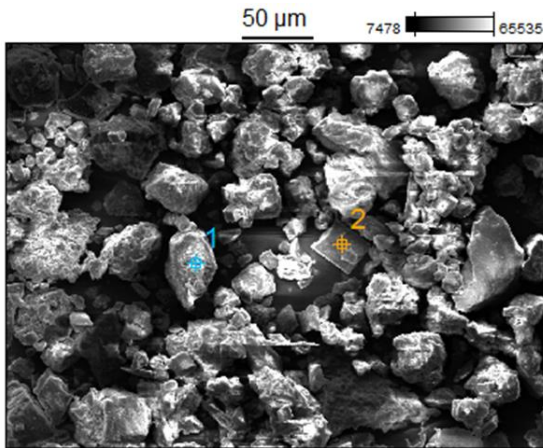


Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	6,8	12,3	C	6,8
O K	43,5	59,2	O	43,5
F K	2,8	3,2	F	2,8
Na K	0,5	0,5	Na	0,5
Mg K	2,1	1,9	Mg	2,1
Al K	2,0	1,6	Al	2,0
Si K	5,6	4,3	Si	5,6
P K	5,4	3,8	P	5,4
Ca K	21,2	11,5	Ca	21,2
Fe K	1,7	0,7	Fe	1,7
Total	100,0	100,0		100,0

Table 9: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la calsse 40 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX

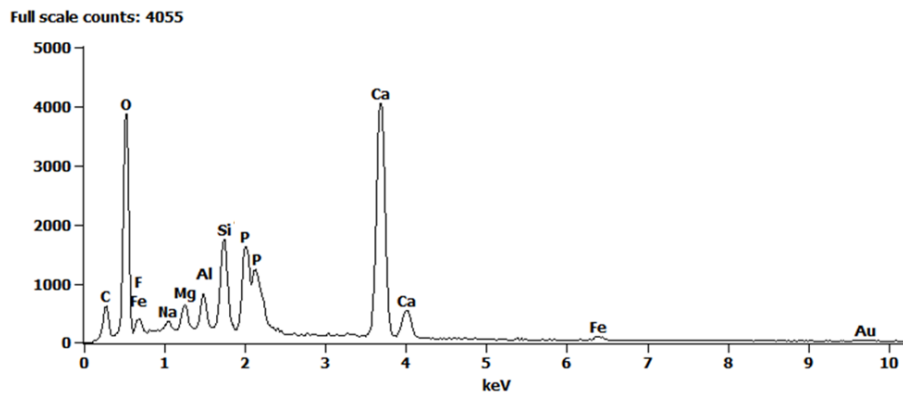
TVN De Kef Essnoun (40 µm)	Nom de l'image:	Fraction 40 µm
	Résolution d'image:	1024 x 768
	Taille des pixels de l'image:	0,37 µm
	Acc. Tension:	15,0 kV
	Grossissement:	350

Résultats quantitatifs pour le point 2



Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	0,2	0,7	C	0,2
O K	9,9	25,7	O	9,9
Mg	0,3	0,5	Mg	0,3
Al K	8,1	12,6	Al	8,1
Si K	28,9	42,9	Si	28,9
In L	37,7	13,7	In	37,7
Sb L	5,6	1,9	Sb	5,6
Total	100,0	100,0		100,0

Point 1



Point 2

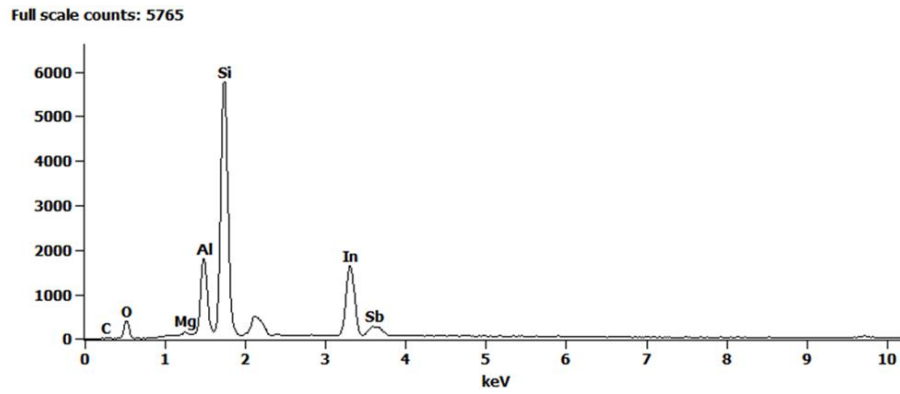
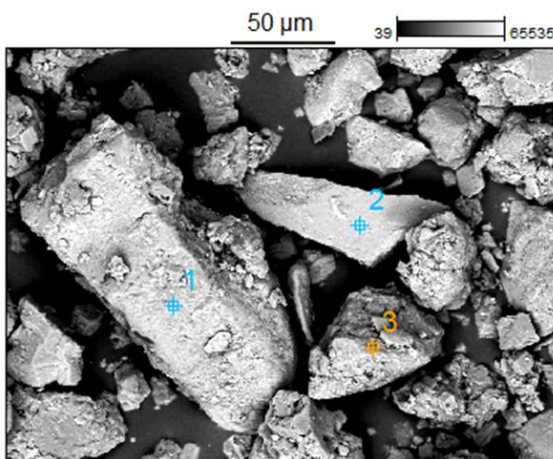


Table 10: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 63 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX

	Nom de l'image:	Fraction 63 µm
	Résolution d'image:	1024 x 768
TVN De Kef Essnoun (63 µm)	Taille des pixels de l'image:	0,36 µm
	Acc. Tension:	15,0 kV
	Grossissement:	499

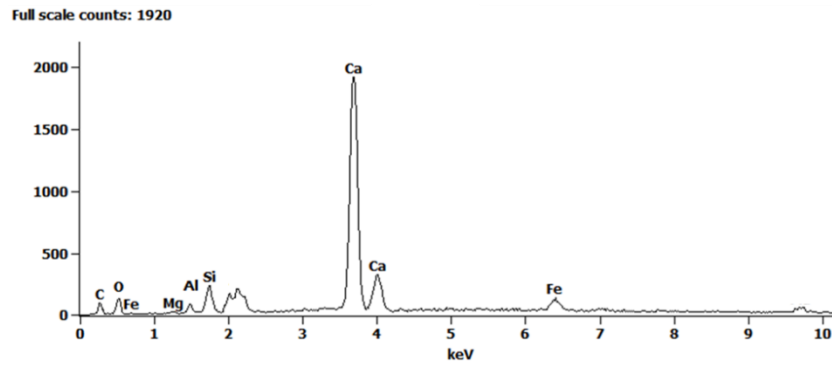
Résultats quantitatifs pour le point 3



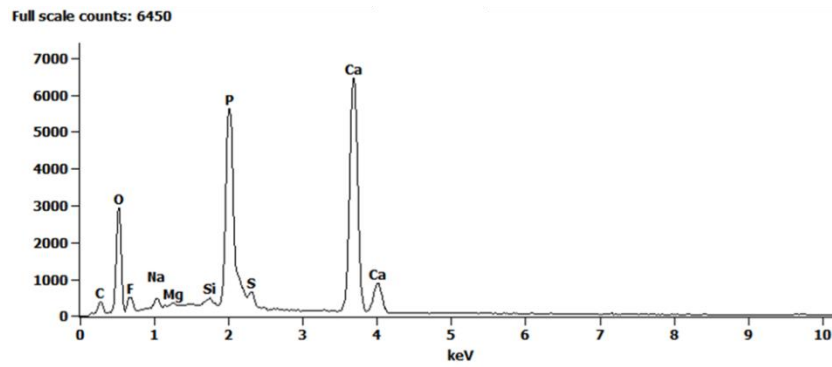
Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	2,5	4,3	C	2,5
O K	53,5	68,8	O	53,5
F K	4,2	4,6	F	4,2
Na K	0,9	0,8	Na	0,9
Mg K	1,2	1,0	Mg	1,2
Al K	2,5	1,9	Al	2,5
Si K	7,7	5,6	Si	7,7
P K	6,3	4,2	P	6,3

Ca K	14,5	7,4	Ca	14,5
Fe K	1,5	0,6	Fe	1,5
Mo L	1,4	0,3	Mo	1,4
Total	100,0	100,0		100,0

Point 1



Point 2



Point 3

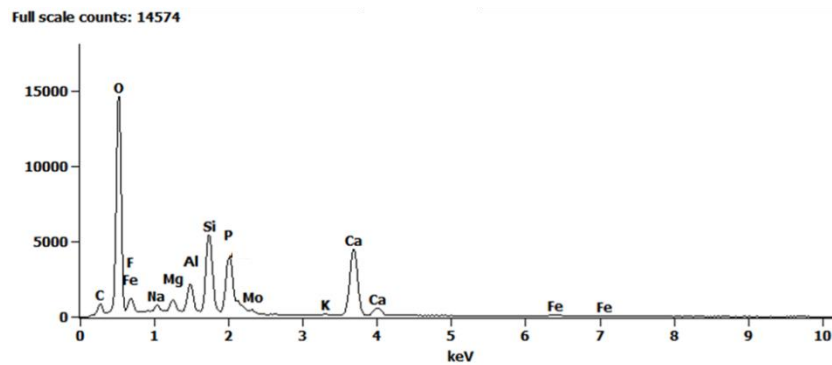
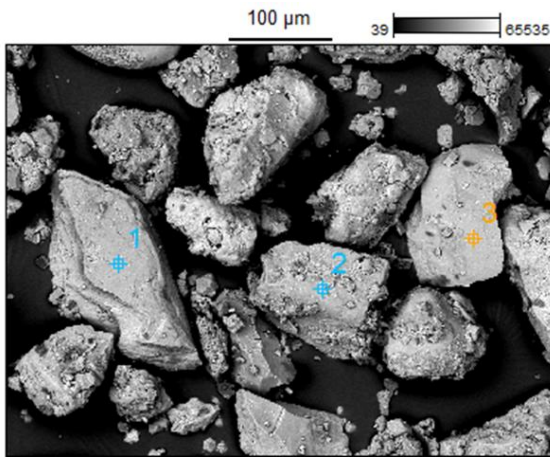


Table 11: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 80 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX

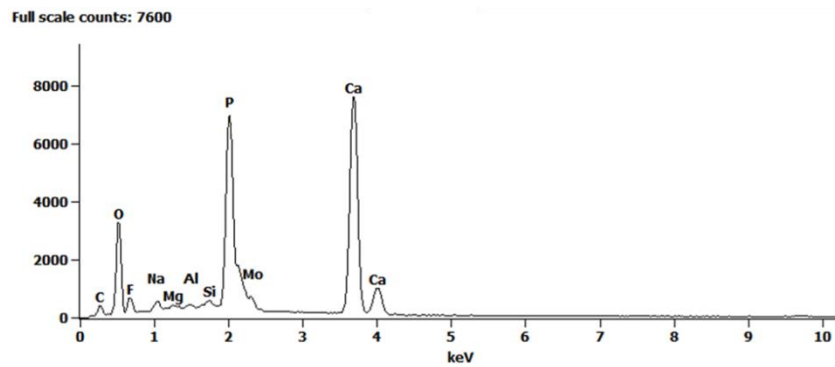
	Nom de l'image:	Fraction 80 µm
	Résolution d'image:	1024 x 768
TVN De Kef Essnoun (80 µm)	Taille des pixels de l'image:	0,51 µm
	Acc. Tension:	15,0 kV
	Grossissement:	249

Résultats quantitatifs pour le point 3

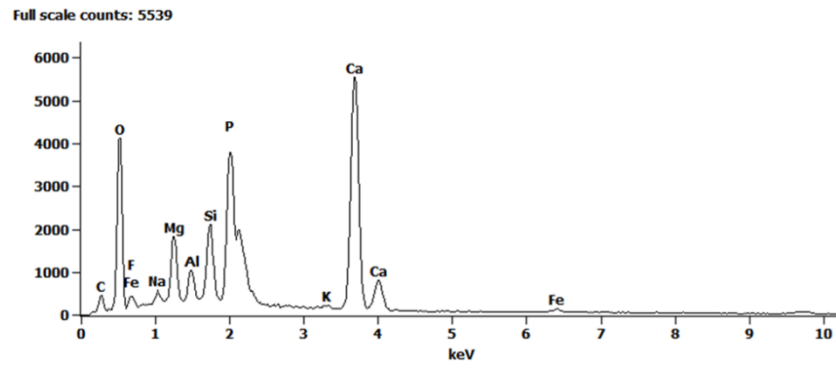


Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	1,8	4,1	C	1,8
O K	22,5	39,8	O	22,5
F K	3,1	4,7	F	3,1
Na K	0,6	0,8	Na	0,6
Mg K	0,2	0,2	Mg	0,2
Ca K	47,7	33,7	Ca	47,7
Total	100,0	100,0		100,0

Point 1



Point 2



Point 3

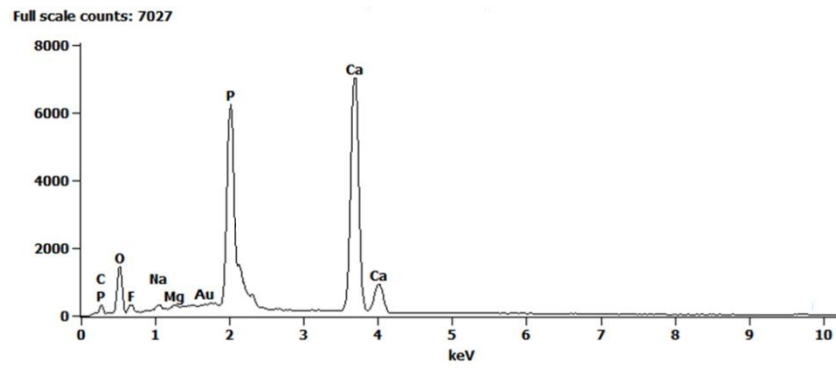
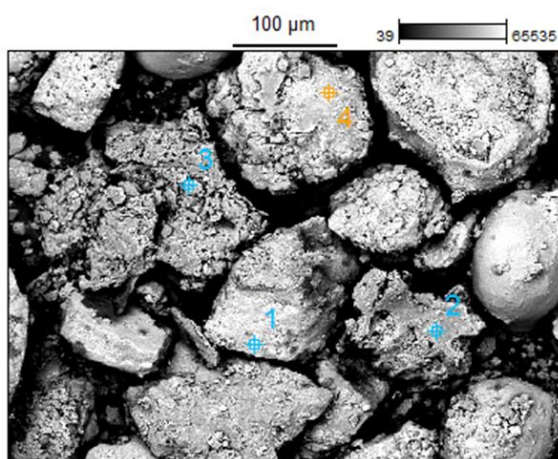


Table 12: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 125 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX

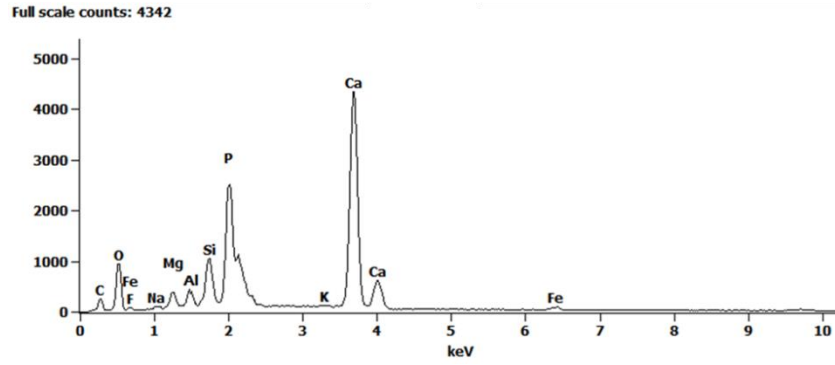
TVN De Kef Essnoun (125 µm)	Nom de l'image:	Fraction 125 µm
	Résolution d'image:	1024 x 768
	Taille des pixels de l'image:	0,51 µm
	Acc. Tension:	15,0 kV
	Grossissement:	249

Résultats quantitatifs pour le point 4

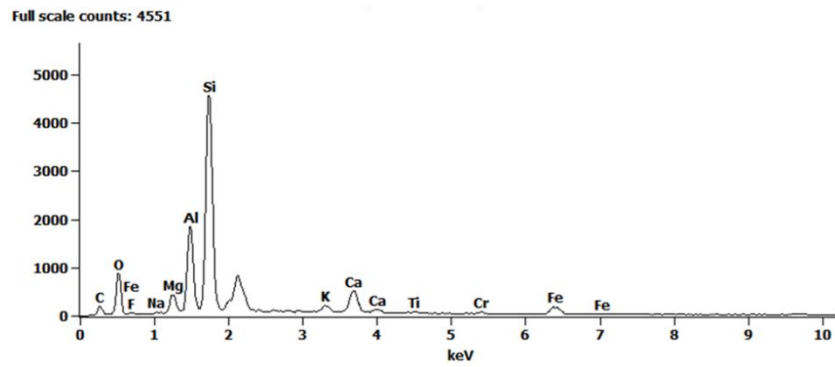


Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	2,4	4,8	C	2,4
O K	40,5	59,8	O	40,5
F K	1,6	1,9	F	1,6
Na K	0,8	0,8	Na	0,8
Mg K	2,1	2,1	Mg	2,1
Al K	4,1	3,6	Al	4,1
Si K	12,0	10,1	Si	12,0
P K	5,6	4,3	P	5,6
Ca K	17,6	10,4	Ca	17,6
Fe K	1,7	0,7	Fe	1,7
Total	100,0	100,0		100,0

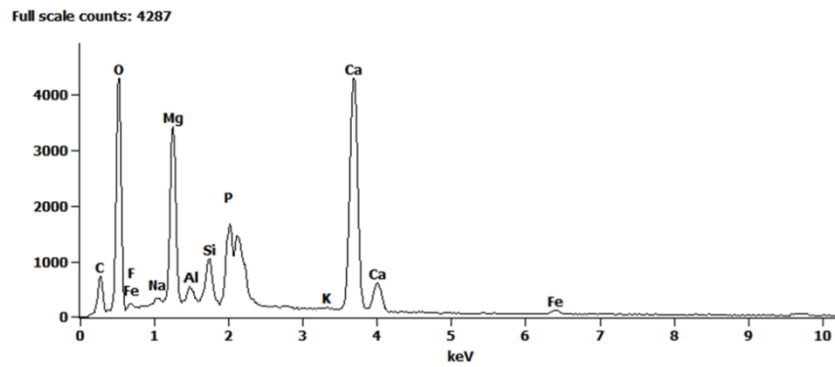
Point 1



Point 2



Point 3



Point 4

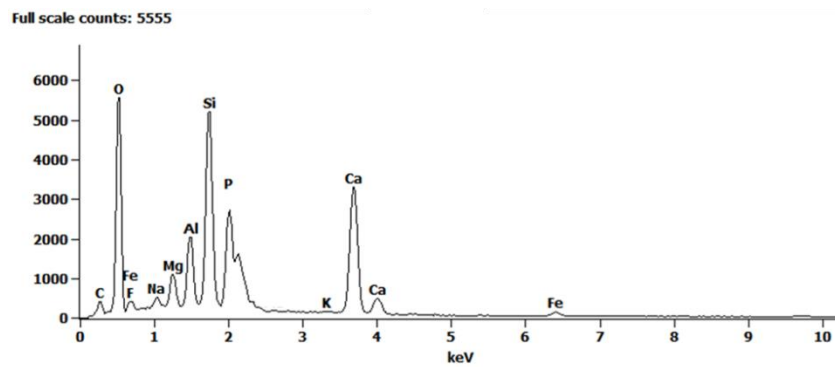
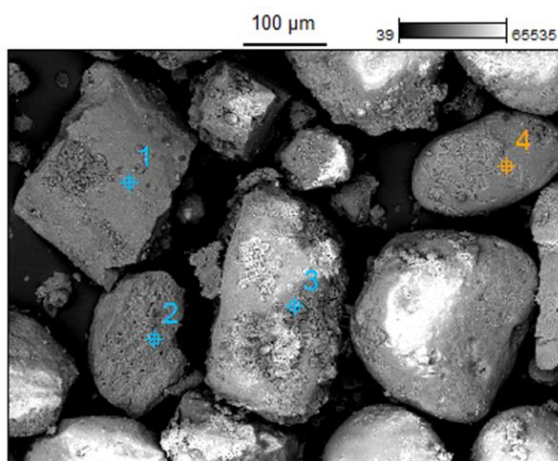


Table 13: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 160 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX

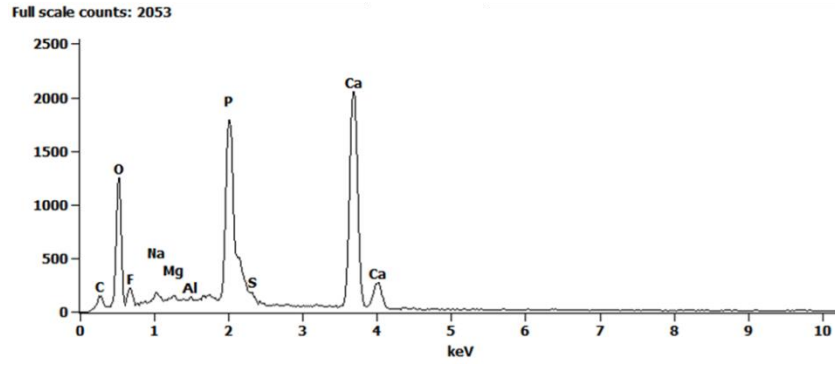
TVN De Kef Essnoun (160 µm)	Nom de l'image:	Fraction 160 µm
	Résolution d'image:	1024 x 768
	Taille des pixels de l'image:	0,61 µm
	Acc. Tension:	15,0 kV
	Grossissement:	200

Résultats quantitatifs pour le point 2

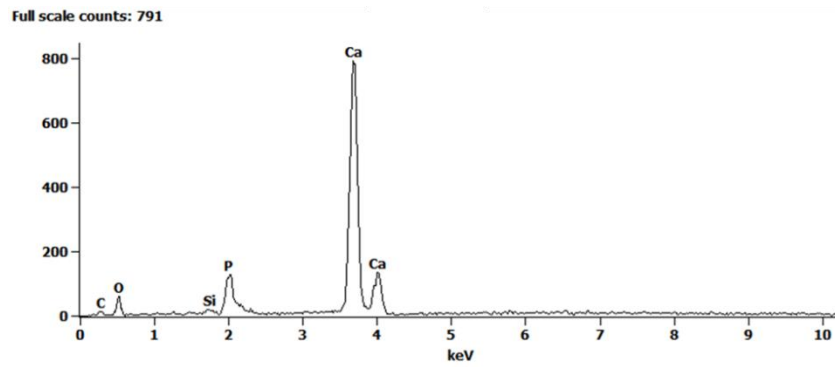


Élément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	7,8	13,9	C	7,8
O K	43,2	58,0	O	43,2
F K	4,2	4,7	F	4,2
Na K	0,7	0,6	Na	0,7
Mg K	2,1	1,9	Mg	2,1
Al K	1,7	1,4	Al	1,7
Si K	5,1	3,9	Si	5,1
P K	4,9	3,4	P	4,9
Ca K	20,5	11,0	Ca	20,5
Total	100,0	100,0		100,0

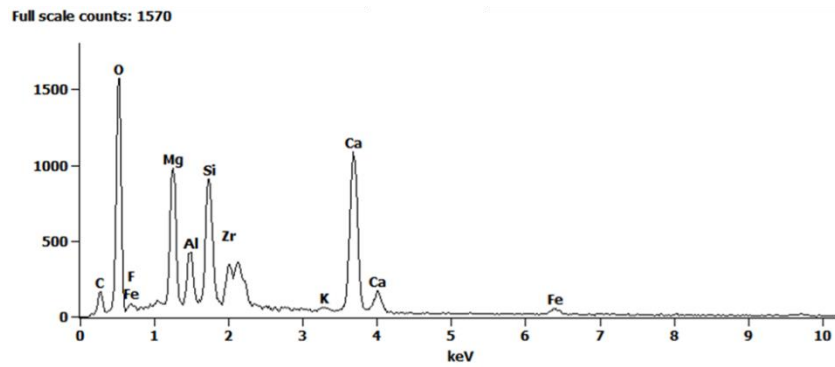
Point 1



Point 2



Point 3



Point 4

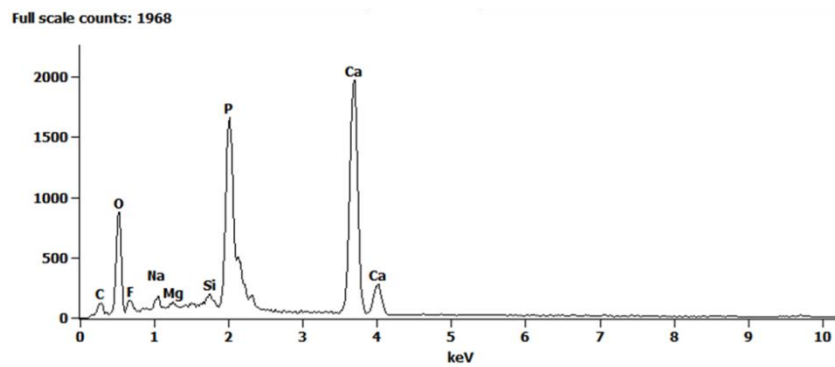
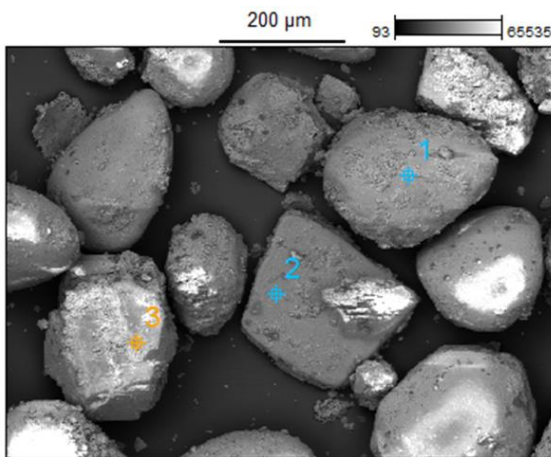


Table 14: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 250 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX

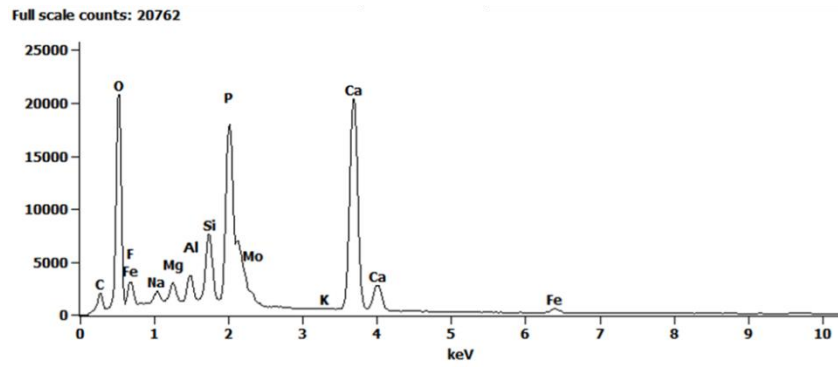
TVN De Kef Essnoun (250 µm)	Nom de l'image:	Fraction 250 µm
	Résolution d'image:	1024 x 768
	Taille des pixels de l'image:	0,86 µm
	Acc. Tension:	15,0 kV
	Grossissement:	150

Résultats quantitatifs pour le point 3

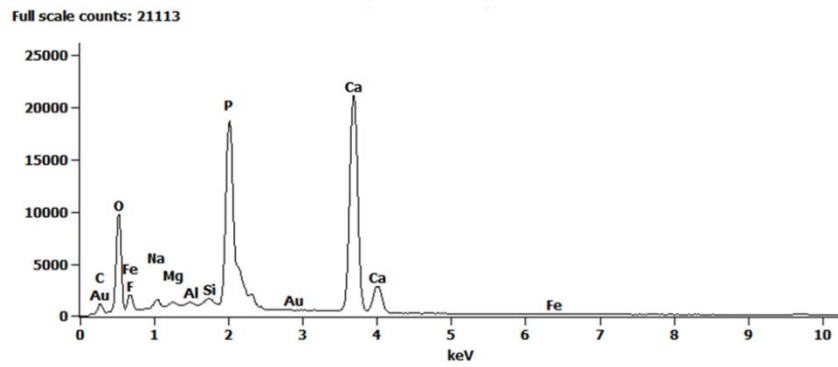


Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	2,8	5,8	C	2,8
O K	37,6	57,6	O	37,6
F K	0,0	0,0	F	0,0
Mg K	12,4	12,5	Mg	12,4
Al K	1,7	1,5	Al	1,7
Si K	4,3	3,8	Si	4,3
P K	0,7	0,6	P	0,7
Ca K	25,7	15,7	Ca	25,7
Fe K	1,9	0,8	Fe	1,9
Total	100,0	100,0		100,0

Point 1



Point 2



Point 3

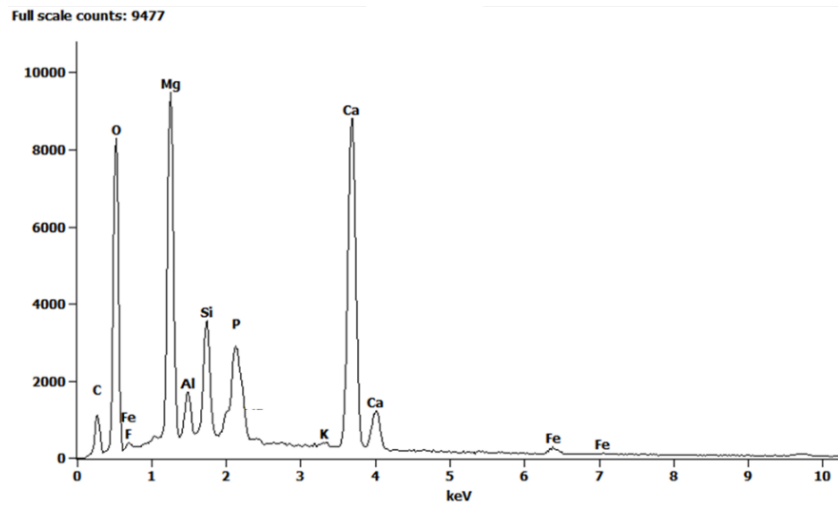
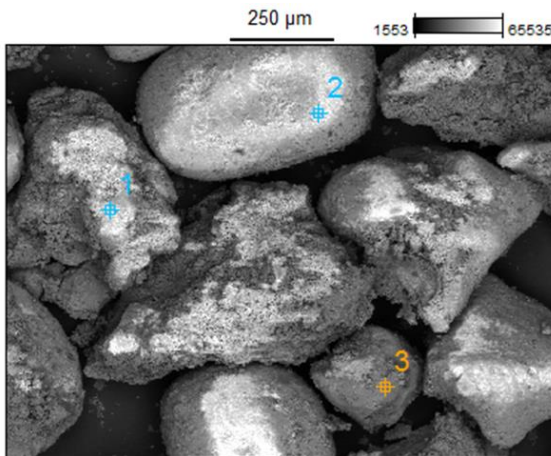


Table 15: Composition élémentaire de zones sélectionnées pour la classe 315 µm du minerai de Kef Essnoun en utilisant MEB/EDX

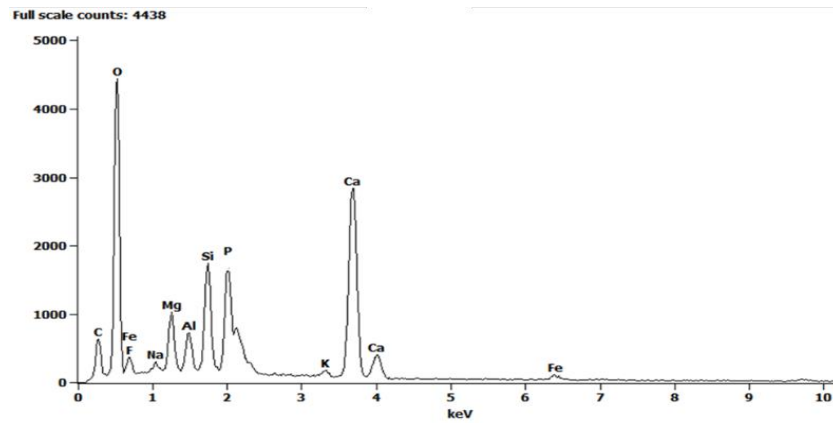
	Nom de l'image:	Fraction 315 µm
	Résolution d'image:	1024 x 768
TVN De Kef Essnoun (315 µm)	Taille des pixels de l'image:	1,28 µm
	Acc. Tension:	15,0 kV
	Grossissement:	100

Résultats quantitatifs pour le point: Total

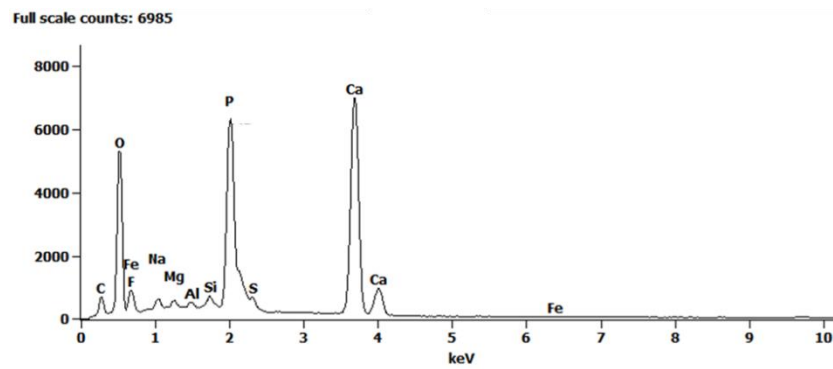


Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
C K	4,6	8,2	C	4,6
O K	46,8	63,2	O	46,8
F K	2,9	3,3	F	2,9
Na K	0,7	0,6	Na	0,7
Mg K	3,0	2,7	Mg	3,0
Al K	1,9	1,5	Al	1,9
Si K	5,2	4,0	Si	5,2
P K	4,6	3,2	P	4,6
Ca K	21,2	11,4	Ca	21,2
Fe K	2,1	0,8	Fe	2,1
Total	100,0	100,0		100,0

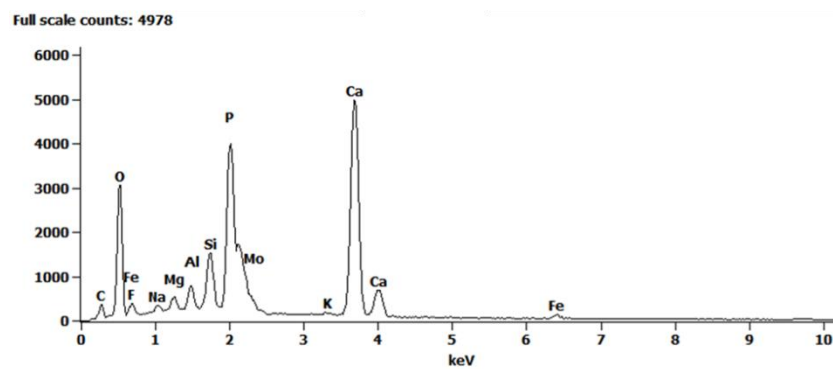
Total



Point 1



Point 2



Point 3

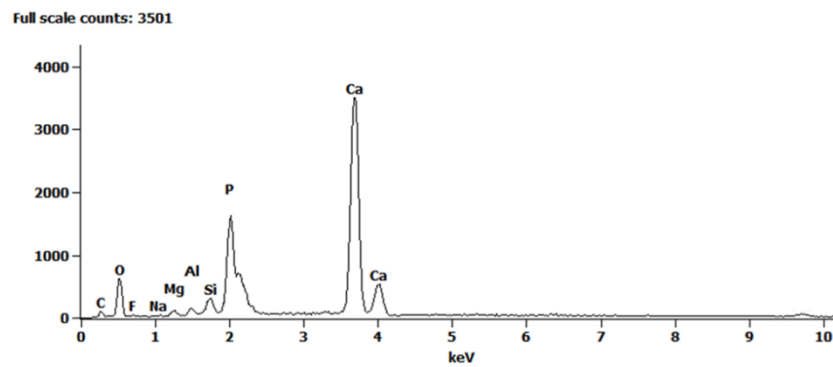
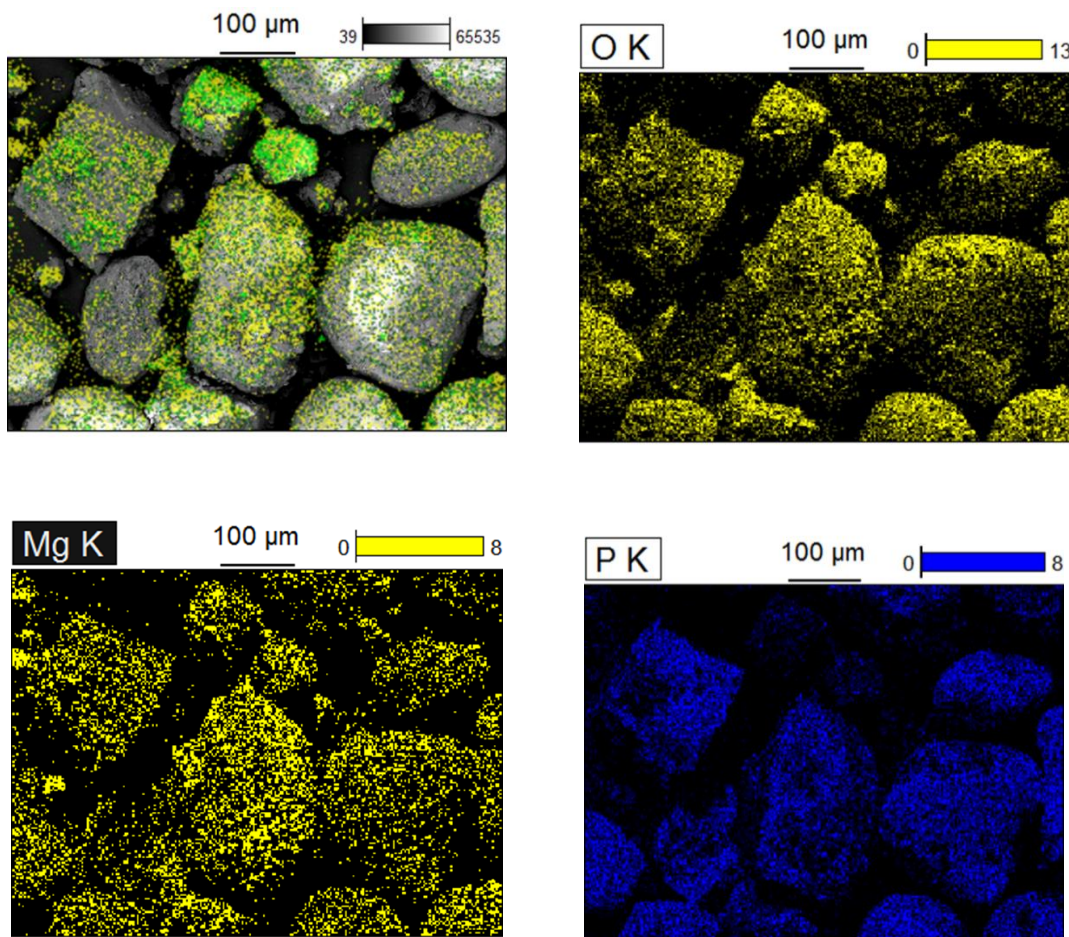


Table 16: Distribution des éléments chimiques pour la classe 160 µm du Minerai de Kef Essnoun par EDS

	Nom de l'image:	Fraction 160 µm
Cartes de distribution des éléments chimiques (sélectionnés)	Type de données:	comptes
	Résolution d'image:	1024 x 768
	Taille des pixels de l'image:	0,64 µm
	Résolution de la carte:	256 x 192
TVN de Kef Essnoun(160 µm)	Taille des pixels de la carte:	2,57 µm
	Acc. Tension:	15,0 kV
	Grossissement:	200



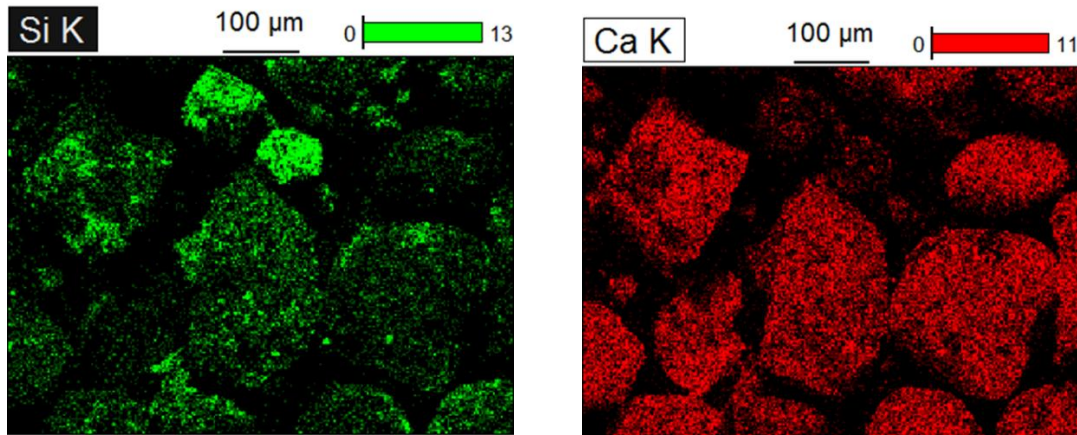
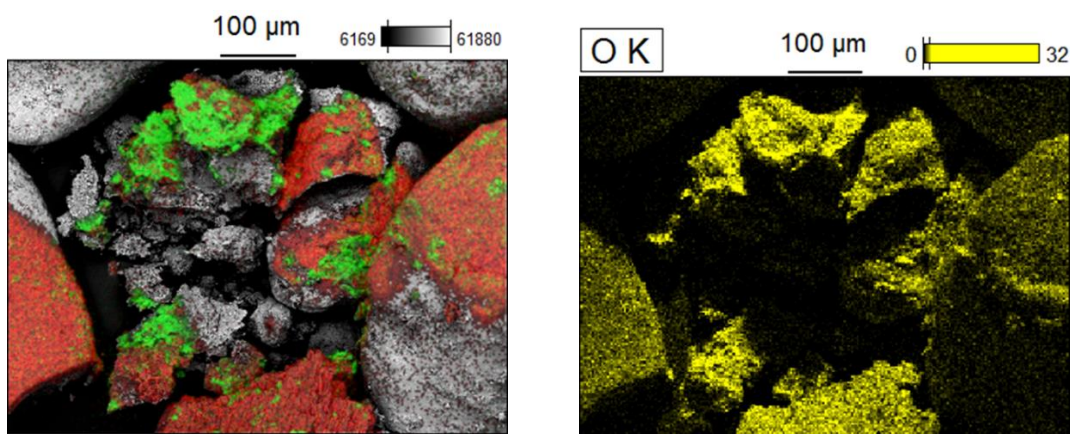
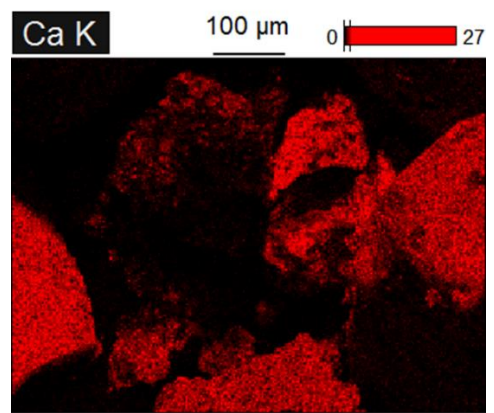
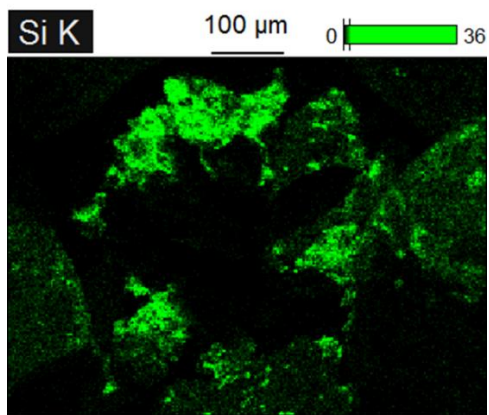
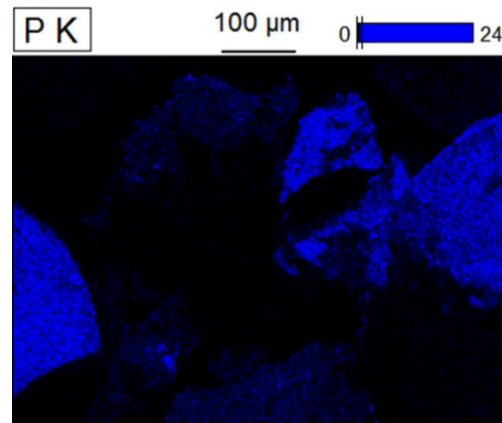
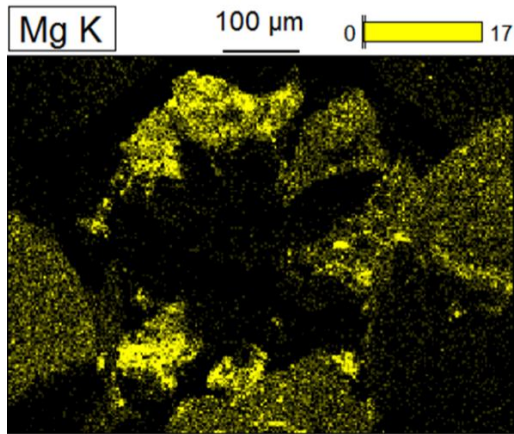


Table 17: Distribution des éléments chimiques pour la classe 315 µm du Minerai de Kef Essnoun par EDS

Cartes de distribution des éléments chimiques (sélectionnés)	Nom de l'image:	Fraction 315 µm
	Type de données:	comptes
	Résolution d'image:	1024 x 768
	Taille des pixels de l'image:	0,64 µm
TVN de Kef Essnoun(315 µm)	Résolution de la carte:	256 x 192
	Taille des pixels de la carte:	2,58 µm
	Acc. Tension:	15,0 kV
	Grossissement:	199





3.5. CARACTERISATION CHIMIQUE (FRX)

La caractérisation par fluorescence des rayons x est une technique non destructrice qui permet de déterminer les différents éléments chimiques constituant un échantillon et de les quantifier dans des gammes très larges. Elle est capable d'analyser des profondeurs atteignant 10 μm , ce qui la rend plus exacte pour la caractérisation des échantillons. La caractérisation par FRX a été réalisée au laboratoire de minéralogie de la faculté des sciences de la terre de l'université de Silésie, en utilisant un diffractomètre des rayons fluorescence de type S8 TIGER (figure 32).



Figure 32: Diffractomètre des rayons fluorescence S8 TIGER

3.5.1. METHODOLOGIE

L'analyse par fluorescence des rayons x nécessite en général une simple préparation de l'échantillon. Elle se fait à partir d'un échantillon finement broyé. Une pastille est ensuite préparée par compression de la poudre (mélangé avec un liant) à l'aide d'une presse hydraulique.

Il est intéressant de noter que l'échantillon doit être représentatif, uniforme et avec une surface plane afin d'obtenir des résultats fiables.

3.5.2. RESULTATS ET INTERPRETATION

Les tableaux 9 et 10 présentent respectivement, l'analyse granulochimique du minerai brut de Djebel Onk, et la composition chimique d'un échantillon représentatif du minerai utilisé pour les différents traitements.

Tableau 9: caractérisation granulochimique du minerai de phosphate de Kef Essnoun

Fractions (mm)	Composition chimique (%)					
	CO ₂	CaO	F	MgO	P ₂ O ₅	SiO ₂
< 0,04	15,6	42,1	2,1	6,1	19,9	9,1
-0,063+0,04	15,9	44,7	2,4	6,5	21,4	5,5
-0,08+0,063	18,0	45,9	2,3	7,7	22,2	1,6
-0,125+0,08	14,4	44,3	2,4	6,4	22,8	7,8
-0,16+0,125	11,4	49,4	2,9	4,7	27,2	2,4
-0,25+0,16	3,1	52,5	3,5	1,2	33,1	4,1
-0,315+0,250	2,6	54,0	3,6	1,1	34,3	1,3
-0,5+0,315	1,2	55,7	3,8	0,5	36,0	0,2
-0,8+0,5	6,9	52,7	3,3	2,8	31,5	0,5
-1,0+0,8	10,5	49,1	2,9	4,0	27,1	4,4
-1,6+1,0	13,4	48,6	2,7	5,4	25,6	2,3
-2,0+1,6	12,6	49,7	2,8	4,0	25,0	3,2
-2,5+2,0	12,9	48,7	2,7	5,1	25,7	2,9
-4,0+2,5	18,7	46,5	2,3	7,2	20,8	2,1
-5,0+4,0	15,1	48,0	2,7	5,9	23,6	2,3
> 5,0	15,9	48,4	2,5	5,7	23,6	2,0

Tableau 10: Composition chimique du minerai de Kef Essnoun après la préparation mécanique

Eléments	Al ₂ O ₃	CO ₂	CaO	F	K ₂ O	MgO	Na ₂ O	P ₂ O ₅	SiO ₂
Teneur (%)	0,18	5,06	52,77	3,53	0,01	2,08	0,06	31,47	1,44

Nous constatons que :

- Les teneurs en P_2O_5 sont plus élevées dans les tranches granulométriques allant de 160 μm jusqu'à 500 μm avec un taux maximal de 36% correspondant à la classe (-0,5+0,315 μm).
- La fraction inférieure à 80 μm renferme des teneurs élevées en MgO.

L'analyse chimique par fluorescence des rayons x de l'échantillon représentatif du minerai a révélé que l'échantillon contient 31,47 % de P_2O_5 et 2,08 % de MgO.

Chapitre IV

PARTIE EXPERIMENTALE

1. INTRODUCTION

La diversité des méthodes de traitement des minerais rend la prise de décision difficile et compliquée. Petr Ptáček a essayé de faire une comparaison des trois méthodes classiques qui peuvent être appliquées pour l'enrichissement des phosphates selon l'origine de la roche. Le minerai de Kef Essnoun appartient à des roches sédimentaires avec des impuretés carbonatées, et l'auteur confirme que la calcination et la lixiviation par des acides organiques, peuvent donner un bon résultat qui n'est pas nécessairement le choix optimal(36). La lixiviation est une méthode d'extraction liquide/solide où le degré d'extraction avoisine les 100 %. Seulement, l'utilisation des réactifs chimiques, qui s'avèrent très coûteux, rend ce procédé impossible à utiliser.

Pour la flottation, les coûts de son utilisation sont considérés très bas en comparaison avec la lixiviation, mais avec une efficacité moyenne et un taux d'extraction inférieur à celui de la lixiviation.

Une nouvelle méthode, qui commence à prendre son essor, pour des raisons d'économie et de promotion de la protection de l'environnement, a été appliquée avec des résultats très prometteurs. Cette méthode que nous avons expérimenté consiste en l'utilisation des microorganismes au lieu des réactifs chimiques. La bioflottation et la biolixiviation ont été bien appliquées au laboratoire afin de récupérer la matière utile depuis le minerai de Kef Essnoun. Les résultats préliminaires des essais de valorisation au niveau de laboratoire sont prometteurs et nécessitent un investissement en matière de temps, et de recherche scientifique afin d'améliorer ces méthodes et généraliser leur utilisation dans le domaine minier en Algérie.

Notre laboratoire de recherche en Génie Minier, en collaboration avec la faculté de Microbiologie de Silésie, travaillent conjointement pour développer cette méthode pour le traitement des métaux nobles et des minerais complexes. La bioflottation que nous avons mis au point est une illustration, puisqu'il s'agit d'une première expérience dans ce domaine qui s'avère porteuse d'espoirs.

2. METHODES D'ENRICHISSEMENT CONVENTIONNELLES

2.1. LA FLOTTATION

La flottation des phosphates sédimentaires contenant la dolomite comme une gangue principale pose un vrai problème pour la récupération de la matière utile, à cause de la forte ressemblance dans les caractéristiques de surface des deux minéraux (31). Les deux minéraux réagissent presque de la même manière en présence des différents réactifs. Les essais de flottation réalisées dans le cadre de cette thèse, ont donné des résultats mais pas satisfaisants pour leur application dans l'industrie, à cause de l'exactitude des conditions. Les tests ont été réalisés au laboratoire, dans des conditions plus au moins idéales en comparaison avec la flottation industrielle. Plusieurs inconvénients accompagnent le processus de flottation des phosphates sédimentaires ayant comme impuretés les dolomites, ce qui rend la possibilité de mettre en place un schéma technologique très complexe, à cause des différents paramètres à vérifier minutieusement à savoir: la taille des particules, la taille des bulles d'air, débit d'air, la température, rapport solide/liquide, pH du milieu, concentration des différents réactifs et les différents temps de conditionnement et flottation.

Les essais de flottation ont été réalisées au laboratoire de génie minier avec le protocole classique utilisé par au laboratoire. Les paramètres utilisés ont été obtenu depuis la littérature (8, 16, 31, 36) et d'autres ont été élaborés après plusieurs essais et comparaison des résultats. Le but principal des expériences est de réaliser une flottation directe de la francolite comme produit de mousse et de la dolomite, comme produit de cellule.

2.1.1. METHODOLOGIE

La flottation a été réalisée au laboratoire de génie minier avec le protocole classique en utilisant la machine Denver 12 avec un rapport solide/liquide fixé à 35% et une quantité de minerai de Kef Essnoun égale à 350 g. Avant d'introduire le minerai dans la cellule de flottation, nous avons pris le soin de le laver avec de l'eau potable et d'éliminer les particules fines et ultra fines <40 μm , pouvant causer une floculation qui ne peut être éliminée que par l'utilisation des dispersants.

Les différents réactifs qui ont donné des résultats satisfaisants pour la récupération d'apatite en présence de la dolomite, utilisés lors de la flottation des phosphates de Kef

Essnoun, sont: l'acide oléique, le silicate de sodium, l'acide citrique et comme régulateurs de pH: HSO_4 et NaOH . Des tests préliminaires ont été réalisés avec l'utilisation d'apatite pure, dolomite pure et leur mélange binaire selon la composition du phosphate naturel afin d'optimiser les valeurs des différents paramètres. Le pH a été varié (4, 7 et 9) pour délimiter les trois milieux: acide, neutre et basique. La taille des grains a été décidée, en tenant compte des travaux antérieurs (46,47 et 48) et la classe [-160 μm +80 μm] s'est avérée la plus appropriée. Durant tous les essais, la durée de chaque conditionnement était 4 minutes, et la durée de flottation (après injection de l'air) était de 5 min. L'agitateur est intégré dans la machine et la vitesse d'agitation fixée à 1200 tr/min. La taille des bulles d'air a été prise en compte et limitée dans un intervalle de [0,6mm - 1mm]. Les produits de concentré et de gangue ont été préparés pour des différentes analyses: DRX, EDS, MEB et FRX.

Les paramètres utilisés dans les différents essais, sont résumés dans le tableau 11:

Tableau 11: Paramètres de la flottation classique du minerai de Kef Essnoun

Minerai	Réactifs	Régulateurs pH
-Dolomite pure	-Acide oléique	H_2SO_4 , NaOH
-Apatite pure	-Silicate de sodium	
-Phosphate naturel (Kef Essnoun)	-Acide citrique -Huile de pin	

Pour le mélange binaire, la concentration de l'apatite pure est 90,5% et celle de la dolomite est 9,5%. Elle est calculée sur la base de la composition minéralogique du phosphate naturel de Kef Essnoun.

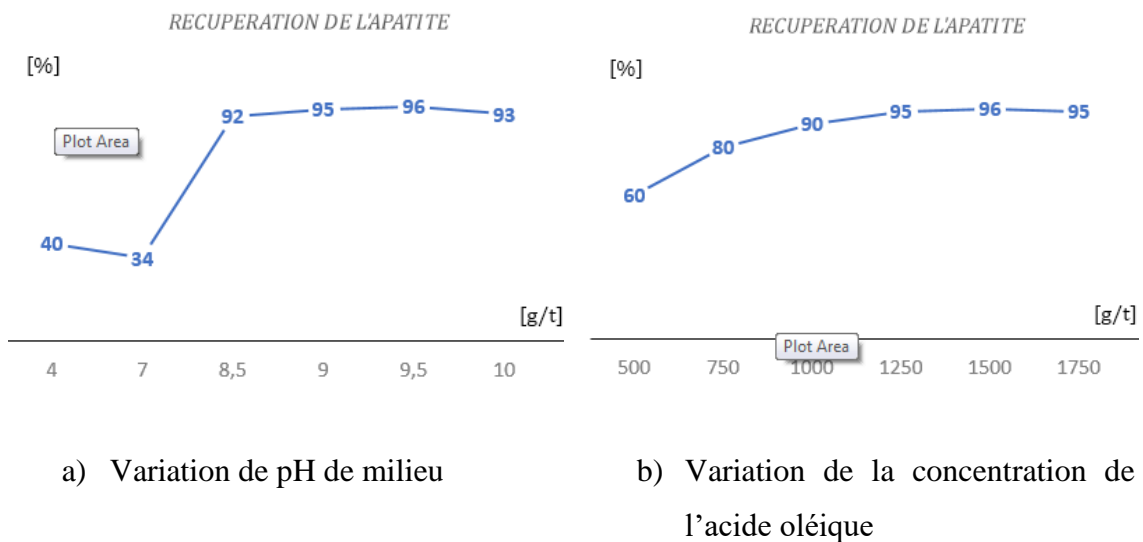
2.1.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

Après avoir exploité tous les résultats des essais individuels ou combinés de flottation, nous avons réussi à mettre en place un schéma de traitement de phosphate de kef Essnoun réalisable au niveau de laboratoire. L'utilisation des minéraux purs comme l'apatite et la dolomite a réduit le nombre des essais sur le minerai naturel et elle a

assuré le bon contrôle du processus de flottation. Les résultats quantitatifs sont donnés sous forme des récupérations pondérales ou des analyses de DRX des produits.

a) Etude de l'effet de l'acide oléique sur la flottabilité de l'apatite pure et la dolomite pure:

L'acide oléique s'avère être un bon collecteur d'apatite dans une plage de pH [9-10] (figure 33 (a)) avec un pique d'une valeur de pH égale à 9. La concentration optimale d'acide oléique est 1250 g/t (figure 33 (b)). Pour la dolomite pure, la flottabilité est faible mais pas nulle, et avec une concentration d'acide oléique égale à 1250 g/t, la récupération semble similaire dans toute la plage des pH (4, 7,9) et (tableau 12).



a) Variation de pH de milieu

b) Variation de la concentration de l'acide oléique

Figure 33: La récupération pondérale lors de la flottation de l'apatite pure en utilisant l'acide oléique

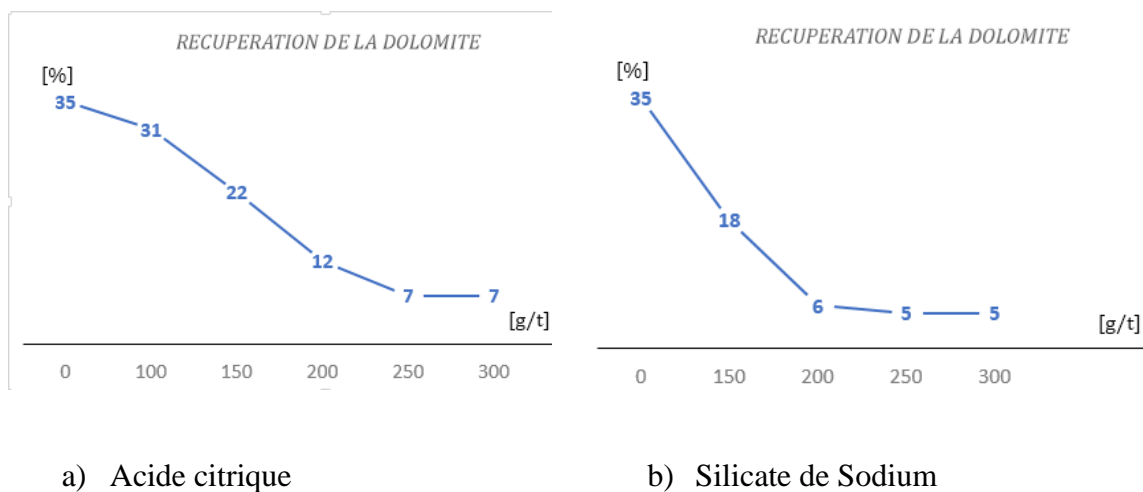
Tableau 12: Récupération pondérale de dolomite en utilisant 1250 g/t de l'acide oléique

pH	4	7	9
Récupération (%)	42	40	41

Les résultats précédents ont aussi montré que la dolomite peut être affectée par l'acide oléique en la rendant plus flottable, ce qui n'est pas très avantageux pour la séparation de l'apatite et de la dolomite.

b) Etude de l'effet d'acide citrique et du silicate de sodium sur la flottabilité d'apatite pure et de dolomite pure:

L'utilisation de l'acide citrique et de silicate de sodium comme déprimants pour la dolomite pure a donné de bons résultats, dont les plus faibles valeurs de récupération dans les deux cas sont respectivement 5% et 7%, en fixant le pH à la valeur 9 pour garder la même condition que les essais de la récupération de l'apatite en utilisant l'acide oléique (figure 34). Les concentrations optimales des deux réactifs sont 250 g/t pour silicate de sodium et 200 g/t pour l'acide citrique (on a pris 200 g/t et pas 250 g/t, car c'est la valeur de la chute de la récupération). D'un autre côté, l'effet de l'acide citrique sur la flottation de l'apatite pure n'est pas très important, mais il est considérable avec l'utilisation de silicate de sodium avec 40% de récupération d'apatite (tableau 13).



a) Acide citrique

b) Silicate de Sodium

Figure 34: La récupération de la dolomite en utilisant le silicate de sodium et l'acide citrique pour un pH 9

Tableau 13: La récupération pondérale de la flottation d'apatite en utilisant Silicate de sodium et acide citrique comme déprimants

Déprimant	pH	Concentrations (g/t)	Récupération (%)
Silicate de sodium	9	250	40
Acide citrique	9	200	8

c) Etude de la flottation de mélange binaire:

En ce qui concerne les essais de flottation de mélange binaire des minéraux purs, les résultats ont été plus ou moins compatibles avec les premiers résultats en termes de l'efficacité des réactifs et intervalle de pH. La première expérience consiste à varier la concentration de l'acide oléique, en fixant la concentration de déprimant. Ensuite, la concentration de l'acide oléique est fixée, en variant la concentration des déprimants. Dans les deux cas, le pH de milieu est de 9.

Les figures 35 et 36 montrent que les conditions optimales pour la flottation de mélange binaire sont 1100 g/t pour l'acide oléique et 200 g/t pour le silicate de sodium avec une récupération de maximale de 94%, mais dans le cas d'utilisation de l'acide citrique, la concentration de l'acide oléique est 1000 g/t et 250 g/t pour le déprimants.

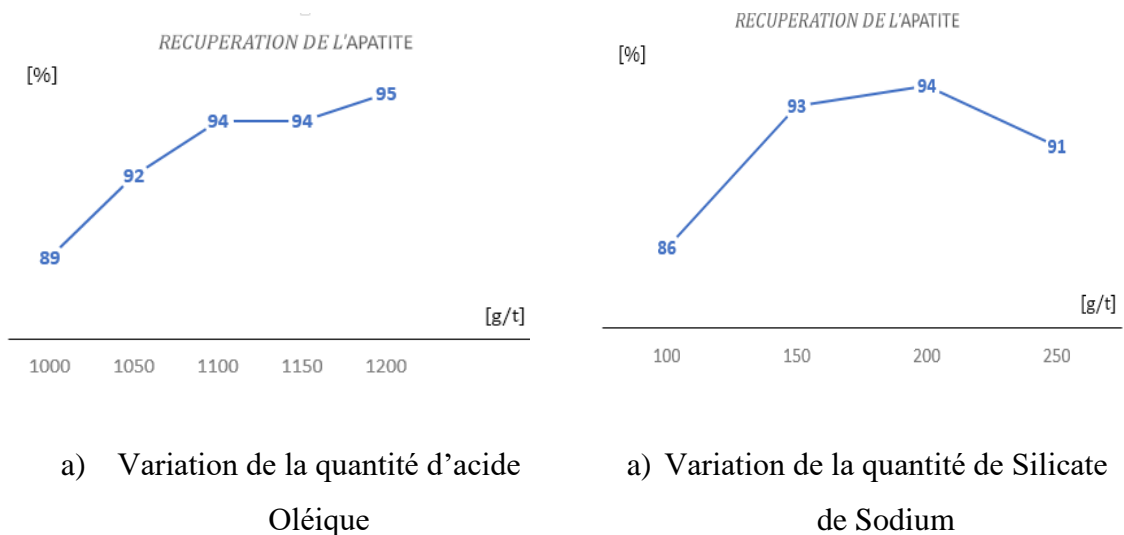
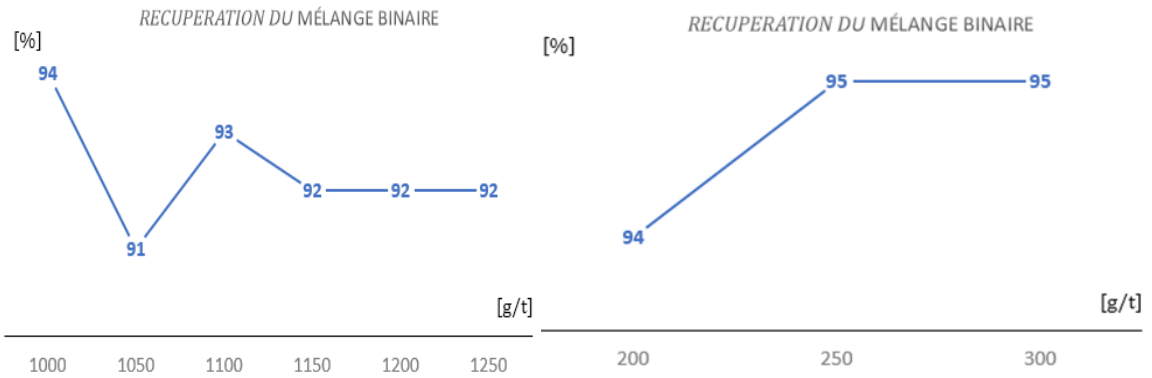


Figure 35: Récupération d'apatite après la flottation de mélange binaire avec l'utilisation de l'acide oléique et silicate de sodium



b) Variation de la quantité d'acide
Oléique

b) Variation de la quantité de Silicate de
Sodium

Figure 36: Récupération d'apatite après la flottation de mélange binaire en utilisant de l'acide oléique et l'acide citrique

Les résultats finaux des essais de la flottation du mélange binaire avec les conditions optimales sont résumés dans le tableau 14, sachant que: T1 présente les résultats de flottation avec le acide citrique comme déprimant et T2 présente les résultats de la flottation avec Silicate de sodium comme déprimant.

Tableau 14: Résultats finaux de la flottation du mélange binaire

Test		Poids (%)	Concentration (%)		Récupération (%)	
			Apatite	Dolomite	Apatite	Dolomite
T1	Produit de mousse	87	96,5	3	93	20
	Produit de cellule	13	46	53	7	80
	Alimentation	100	90	10	100	100
T2	Produit de mousse	88	94	5,6	92	50
	Produit de cellule	12	58	40	8	50
	Alimentation	100	90	10	100	100

d) Etude de la flottation du minerai naturel de Kef Essnoun:

Les essais effectués au début, sont considérés comme des modèles, qui peuvent modéliser la flottation du minerai naturel, mais avec un certain pourcentage d'erreur ou de différence. Néanmoins, nous avons pu décider à propos du déprimant à utiliser et des quantités approximatives des réactifs grâce à la composition minéralogique du minerai naturel, qui comprend principalement l'apatite et dolomite comme minéraux majeurs. L'acide citrique est un bon déprimant de dolomite à un pH de 9 et affecte moins l'apatite. Pour le produit de flottation du minerai naturel, une calcination a été rajoutée comme post traitement pour avoir un minerai beaucoup plus pauvre en dolomite.

Les essais finaux sur les échantillons du minerai de phosphate de Kef Essnoun ont montré une récupération pondérale du minerai allant jusqu'à 87% en utilisant acide citrique comme déprimant avec une concentration de CFA égale à 94%. Le produit final de la valorisation a été suivi par une caractérisation minéralogique (DRX), chimique (FRX) et microscopique (MEB).

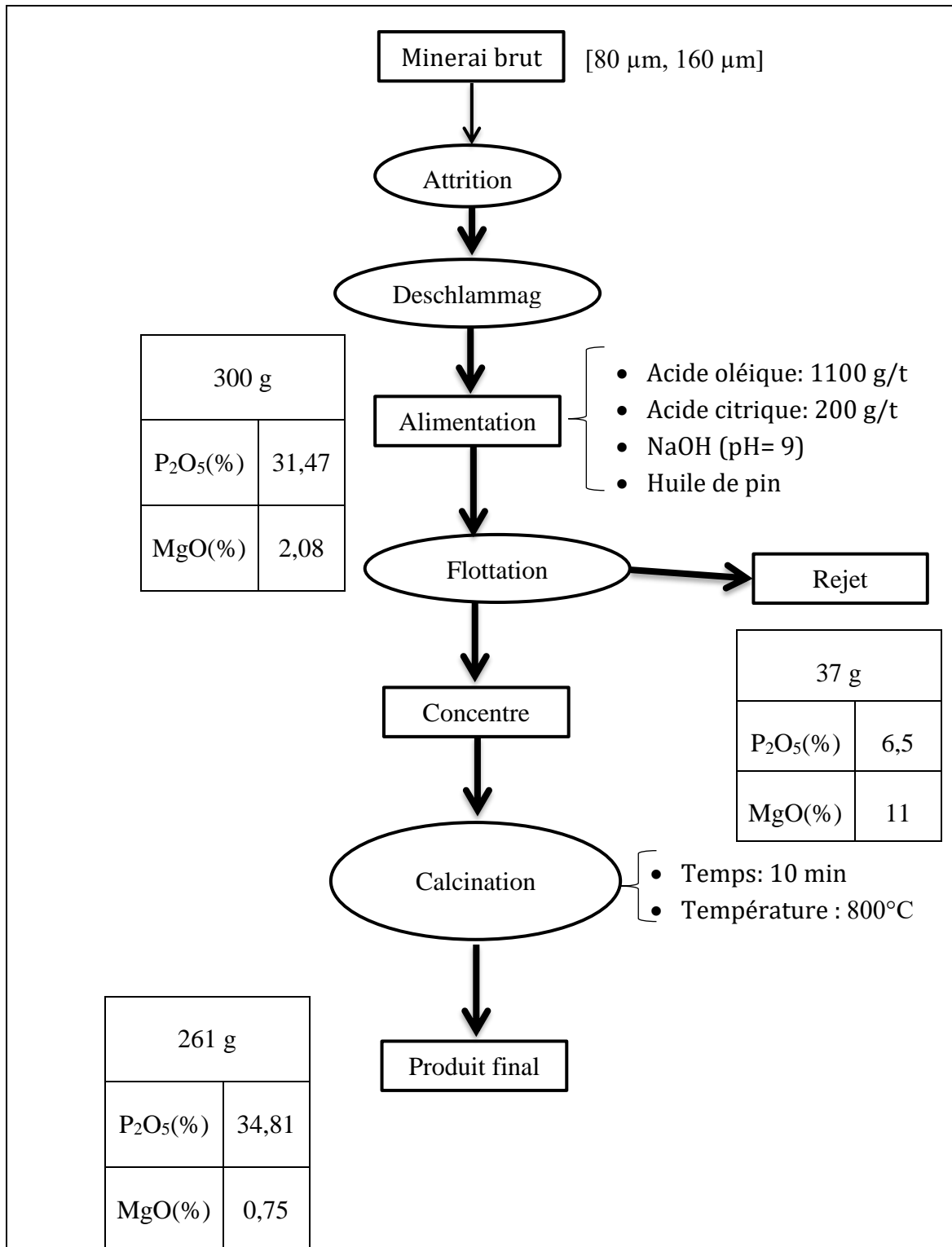


Figure 37: Schéma technologique de proposition de traitement du minerai de Kef-Essoun par méthodes conventionnelles

2.1.3. CARACTERISATION DU PRODUIT FINAL

Le produit final de la flottation a été soumis à des différentes analyses disponibles et suffisantes pour l'évaluer et le comparer par la suite avec les autres résultats.

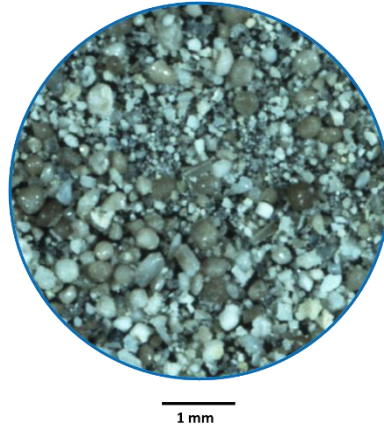
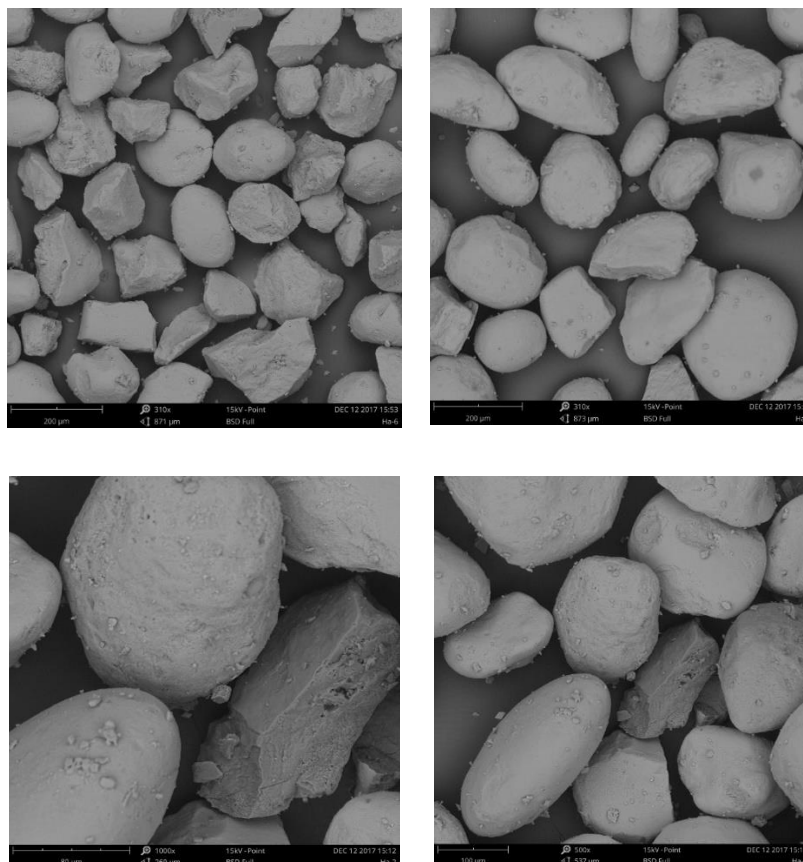


Figure 38: L'image obtenue par microscope binoculaire Nikon SMZ 1500 du produit final de la flottation

Table 18: Images obtenues par MEB du produit finale de la flottation avec des différentes résolutions



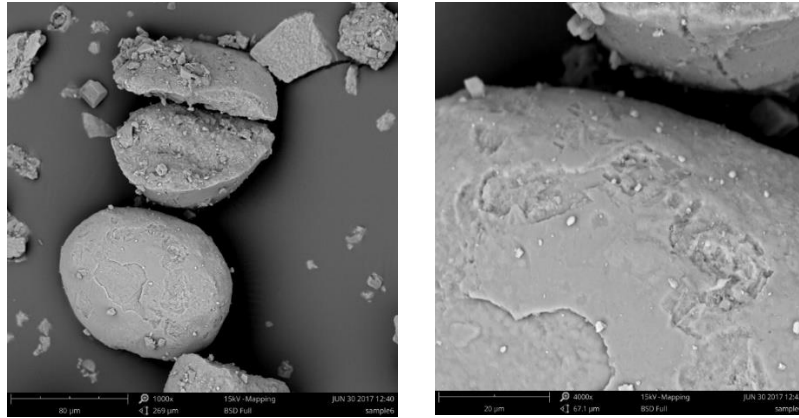
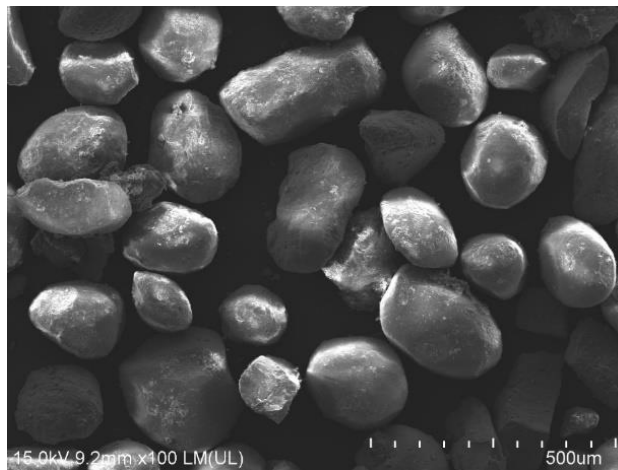


Table 19: Caractérisation du produit final de la flottation par MEB/EDS



Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
<i>C K</i>	4,8	8,3	C	4,8
<i>O K</i>	49,5	65,4	O	49,5
<i>Al K</i>	0,6	0,5	Al	0,6
<i>Si K</i>	1,9	1,4	Si	1,9
<i>P K</i>	10,4	7,1	P	10,4
<i>Ca K</i>	32,7	17,2	Ca	32,7
Total	100,0	100,0		100,0

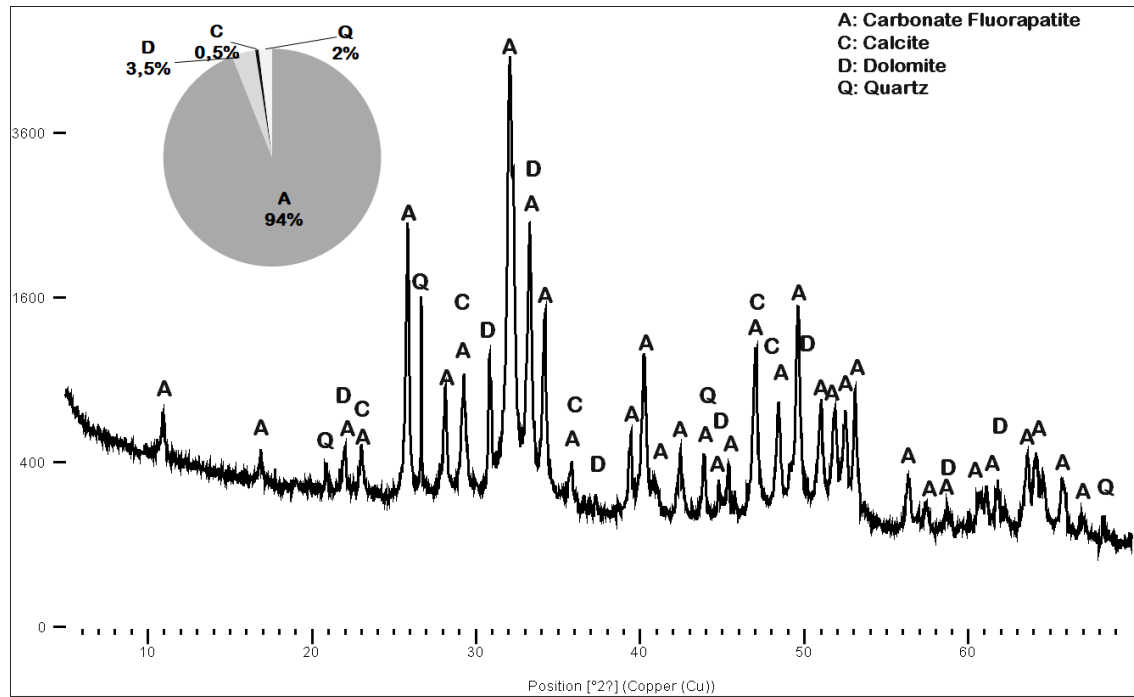


Figure 39: L'analyse minéralogique du produit final de la flottation par DRX

Tableau 15: Composition chimique du produit final de la flottation de phosphate de Kef Essnoun

	Masse (%)	Concentration (%)		Récupération (%)	
		P ₂ O ₅	MgO	P ₂ O ₅	MgO
Produit de mousse	87	34,8	0,75	96	31
Produit de cellule	14	6,9	11	4	69
Alimentation	100	31,47	2,08	100	100

2.2. CALCINATION

La calcination est réalisée dans le but de contrôler le comportement du phosphate de Kef Essnoun (le même minerai utilisé pendant la flottation) sous des températures et des temps différents. Ces essais sont très connus et réalisés par plusieurs scientifiques et chercheurs en Algérie ou dans le monde sur des autres phosphates. Le protocole utilisé est très classique, puisque le but n'est pas de chercher les conditions optimales de cette méthode autant que traitement principal, mais seulement pour l'utilisation en post-traitement (après la flottation). Alors cette partie présente une étude comparative pour des conditions de temps et de température pour une réduction maximale de MgO.

2.2.1. METHODOLOGIE

Les essais de calcination sont réalisés au laboratoire de génie minier à l'aide d'un four de type Carbolite (figure 40) sur la même classe granulométrique utilisée lors de la flottation : [+80 μm -160 μm]. Le principe des essais est de réaliser toutes les combinaisons possibles avec variation de temps [5, 10, 15] en minutes et de la température [500, 800, 1100] en degré Celsius. Le produit a été deschlämmé afin d'enlever les particules moins de 80 μm . Puis il a été pesé et préparé pour les analyses SFX pour la détermination de la composition chimique sous formes des oxydes.



Figure 40: Four de type Carbolite utilisé pour les essais de la calcination



Figure 41: Exemple de creusets utilisés pour la calcination

2.2.2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de la calcination permettront d'optimiser les conditions de temps et de température pour une meilleure récupération de P_2O_5 et réduction de MgO . Le figure 42 représente les résultats de la calcination du minerai brut à une température de $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour les temps: 5, 10, 15 minutes. Les résultats montrent bien que la température n'a pas d'impact considérable sur le minerai, avec des valeurs presque similaire entre 0 et 5 minutes, et à partir de 5 minutes, on peut observer une légère augmentation de la concentration de P_2O_5 et diminution de concentration de MgO qui se stabilise pour les prochains temps de calcination. A cette température, on peut observer l'évaporation de CO_2 et la décomposition des carbonates.

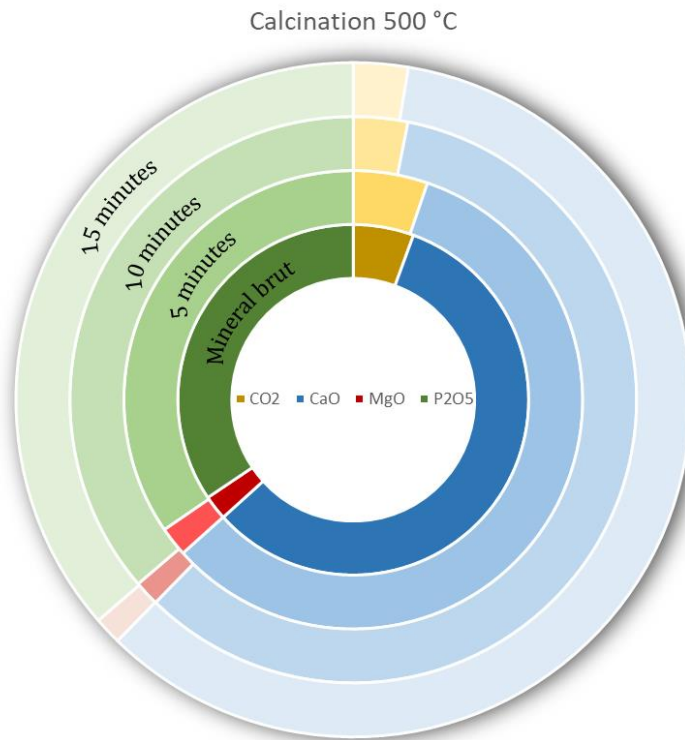


Figure 42: Composition chimique du produit de la calcination pour la température de 500°C

Pour la température de 800 °C, un changement rapide entre 0 et 5 minutes en comparaison avec la température précédente, mais qui est remarquable pour le temps de 10 min, avec une concentration de 34,82 pour P₂O₅ et 1,02% pour MgO suivie d'une stabilisation des concentrations pour 15 min (figure 43).

En analysant les résultats, on peut conclure que la température de 800 °C est la plus favorable pour une forte réduction de MgO par rapport à la température de 500 °C. Pour le temps de calcination, nous avons opté pour le choix de 10 minutes, car les résultats montrent une légère différence entre 10 et 15 minutes en termes de concentration de MgO, que nous avons ignoré compte tenu de la consommation d'énergie enlevée du four.

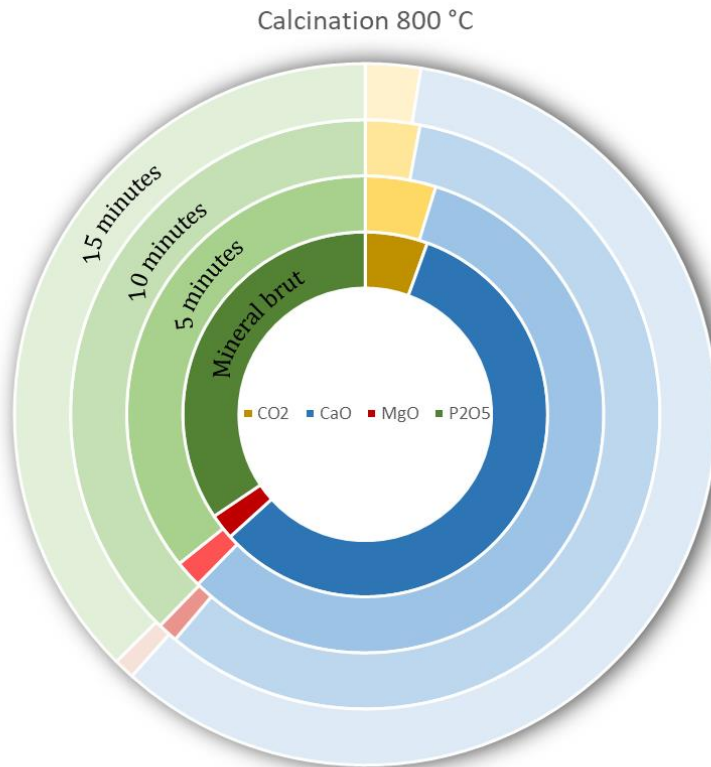


Figure 43: Composition chimique du produit de la calcination pour la température de 800°C

3. LES METHODES D'ENRICHISSEMENT BIOLOGIQUE

L'utilisation des microorganismes dans la minéralurgie devient une solution pour la purification de certains minerais. Cette partie servira de base à toutes les expériences qui seront réalisées au futur afin de valoriser le minerai de Kef Essnoun pour la réduction de MgO, aussi toute la région de Djebel Onk qui se caractérise par une forte teneur de la dolomite. Nous avons pu faire une grande amélioration dans les méthodes de biotraitement durant cette partie, notamment l'utilisation de nos propres microorganismes isolés du minerai naturel de Kef Essnoun (sans identification, à cause des coûts élevés), et le développement des protocoles du diverses manipulations liées à l'étude des interactions des microorganismes avec le minerai.

Cette partie est divisée en 4 principales parties selon les besoins de notre étude, à savoir : la présentation et la préparation des microorganismes, y compris leur isolement, les tests d'adhésion et d'adsorption qui ont pris une grande part de nos expériences, puis les tests de bioflottation. L'objet de ces expériences est de réduire la quantité de Mg

dans le minerai, en choisissant des microorganismes réactant avec le Mg, et qui ont abouti à plusieurs résultats publiés par la suite. D'autre part, autres études en parallèle en été réalisées comme le contrôle et la réduction des impuretés toxiques qui se résument dans le Cd, qui se trouvent avec des petites quantités dans le minerai de Kef Essnoun.

L'ensemble des expériences ont été effectuées avec la collaboration du département de génie minier de l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger et de la faculté de biologie et de protection de l'environnement, Université de Silésie à Katowice.

3.1. MICROORGANISMES

Pendant tous les essais de biotraitement, nous avons étudié l'interaction de plusieurs microorganismes avec le minerai de phosphate de Kef Essnoun. Deux sources de microorganismes sont utilisées: la première source concerne une collection des microorganismes commerciaux achetés par le laboratoire de microbiologie et le deuxième type concerne les microorganismes isolés du minerai de Kef Essnoun (sans identification, car l'identification mène à une étude purement microbiologique et elle est coûteuse).

3.1.1. ORIGINE DES MICROORGANISMES

Une partie des microorganismes utilisés dans les expériences a été obtenue à partir de la collection microbienne de la faculté de biologie et de protection de l'environnement, Université de Silésie à Katowice. Pour les tests d'adsorption des métaux et d'adhésion microbienne sur le minerai, des souches de cinq microorganismes ont été sélectionnées, sur la base la littérature et de l'expérience de microbiologistes de l'Université de Silésie. Quatre souches bactériennes: *Bacillus subtilis* (*B.s.*), *Rhodococcus erythropolis* *CD 130*, *Pseudomonas fluorescens* (*P.f.*) et *Escherichia coli* (*E.c.*), ainsi qu'une souche fongique: *Candida albicans* (*C.a.*) ont été choisies. *B. subtilis* et de *R. erythropolis* *CD 130* appartiennent aux bactéries avec gram-positifs, tandis que *P. fluorescens*, *E. coli* appartiennent aux bactéries avec gram-négatives.

3.1.2. ISOLEMENT

Le protocole d'isolement utilisé dans cette partie a été décrit et élaboré par Dr K. Kasperkiewicz, Chercheure à la faculté de Microbiologie de Silésie. Des milieux de culture pour les bactéries et champignons présents dans les échantillons du minerai de Kef Essnoun ont été préparés. Les milieux solides suivants ont été utilisés pour isoler les microorganismes: bouillon *Luria-Bertani* (LB) (10 g/L peptone K, 10 g/L chlorure de sodium et 5 g/L extrait de levure) et milieu R2A (0,5 g/L extrait de levure, 0,5 g/L peptone protéique, 0,5 g/L peptone K, 0,5 g/L glucose, 0,5 g/L amidon, 0,3 g/L phosphate dipotassique, 0,024 g/L sulfate de magnésium, 0,3 g/L pyruvate de sodium, 15 g/L gélose). Les milieux ont été stérilisés dans un autoclave à 121 °C pendant 1 heure. Ensuite, ils ont été versés dans des boîtes de Pétri.

Les microorganismes du minerai ont ensuite été cultivés en utilisant la méthode de surface. Pour ce faire, des solutions appropriées de suspension de minerai ont été préparées (10 g de matériau dans 90 ml de NaCl stérile+ tween). L'ermeneyer a ensuite été agité pendant 1 heure. Un ml de suspension a été recueilli dans un tube contenant 10 ml de NaCl et une série de dilutions a été effectuée de 10^{-1} à 10^{-5} (figure 44). 0,1 ml de chaque dilution de suspension bactérienne a été recueilli à partir de dilutions adéquates et cultivé sur les milieux de culture solide déjà préparés. Ces échantillons ont ensuite été incubés pendant 4 jours à 28 °C. Après l'incubation, les colonies présentant une croissance visible ont été sélectionnées pour un criblage supplémentaire. Des colonies uniques de bactéries ont été passées sur des boîtes avec des milieux LB, *Reasoner's 2 Ager* (R2A) e LB d'acquérir des cultures bactériennes propres. L'identification préliminaire des souches bactériennes a été effectuée à l'aide du système API (API 50CHB).

La souche *R. erythropolis* CD 130 a été isolée par M. Pacwa-Płociniczak (55) d'un sol fortement contaminé par des hydrocarbures pétroliers et caractérisée par une forte activité de solubilisation du phosphate et une production de sidérophore.

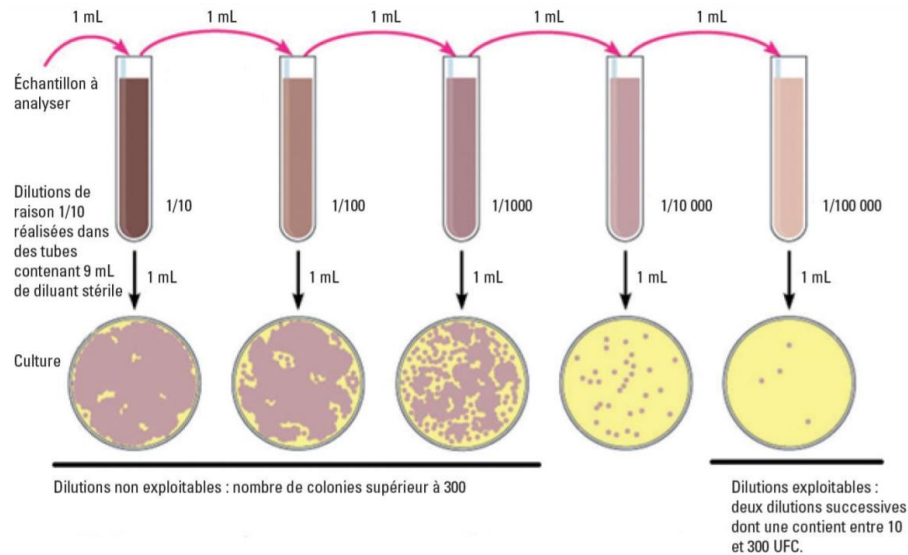


Figure 44: Etapes de dilutions de la suspension bactérienne (ISO 7218) (56)

3.1.3. PREPARATIONS DES MICROORGANISMES

La préparation des microorganismes est réalisée en deux étapes principales:

- Préparation de milieu de culture
- Culture des microorganismes.

Le milieu de culture est très important pour la croissance des microorganismes, et l'étude de sa composition est dédiée au microbiologiste. Dans nos essais, deux types de milieux ont été utilisés, recommandés par les microbiologistes de laboratoire de microbiologie de la faculté de biologie à l'université de Silésie à Katowice à savoir *LB* (*Luria-Bertani*) et *R2A* (*Reasoner's 2 Ager*). Les deux milieux ont été préparés par les techniciens de laboratoire de microbiologie.

a) Préparation de LB

Cette méthode est la méthode commune et courante pour la préparation de 1 litre de LB :

- Mesure de: 10g de tryptone, 5g d'extrait de levure et 10g de NaCl;
- Rajouter les quantités mesurées à 800 ml d'eau distillée ou désionisée dans un erlenmeyer;

- Remplir l'erenmeyer jusqu'à 1 litre;
- Stériliser la solution préparée dans un autoclave à 121 ° C pendant 20 min;
- Après refroidissement, agiter le ballon pour assurer le mélange, et le LB est prêt à être utilisé.

b) Préparation de R2A

Il faut préparer la quantité des constituants cités (mesures par g/l) ci-dessous et les verser dans un litre d'eau distillée, et s'assurer de la dissolution complète, puis stériliser la solution pendant 15 min dans un autoclave à 121 ° C.

- Peptone: 0,5;
- Acides casamino: 0,5;
- Extrait de levure: 0,5;
- Dextrose: 0,5;
- Amidon: 0,5;
- Phosphate dipotassique: 0,3;
- Sulfate de magnésium: 0,05 ;
- Pyruvate de sodium : 0,3 ;
- Agar: 15.

Conditions de pH et température: pH $7 \pm 0,2$ at 25 °C.

3.2. TESTS D'ADHESION

Cette partie a pris la plus grande part des expériences effectuées au laboratoire, compte tenu de sa nouveauté dans le domaine de traitement des minerais et le manque de références pour entamer directement les essais de bioflottation. Elle est basée sur l'étude de l'interaction de microorganismes (champignons et bactéries) avec les minéraux d'apatite et de dolomite, principaux constituants du phosphate de Kef Essnoun, afin de modifier les caractéristiques de leur surface en les rendant hydrophile ou hydrophobe. Une grande partie des résultats de cette partie ont été publiés dans des conférences et comme articles.

3.2.1. METHODOLOGIE

Dans cette partie, le même protocole est utilisé pour la réalisation de tous les tests d'adhésion. Ce protocole a été préparé sur la base de plusieurs études réalisées sur ce sujet, puis il a été développé au laboratoire de microbiologie de l'université de Silésie, en raison des critiques sur la partie microbiologique.

La partie de méthodologie est divisée en trois étapes :

a) Culture des souches:

La première étape de cette partie est l'ensemencement des microorganismes, qui a été réalisée dans une chambre à flux laminaire pour éviter l'intrusion d'autres souches dans le milieu de culture déjà préparé (figure 45). 500 μ L de chaque solution bactérienne a été rajoutée à 60 ml de solution de milieu de culture. La deuxième étape consistait à incuber la solution obtenue dans une chambre d'incubation, équipée des petits incubateurs avec agitateur pendant 24 heures jusqu'à 48 heures, selon la croissance de chaque souche, à une température de 28-29 °C.

A la fin de l'incubation, la solution a été centrifugée trois fois, en utilisant NaCl afin de laver les cellules bactériennes. Pour protéger les microorganismes, il est préférable de les garder dans NaCl et pas dans l'eau (cela est dû à la nécessité de maintenir l'équilibre osmotique des cellules).

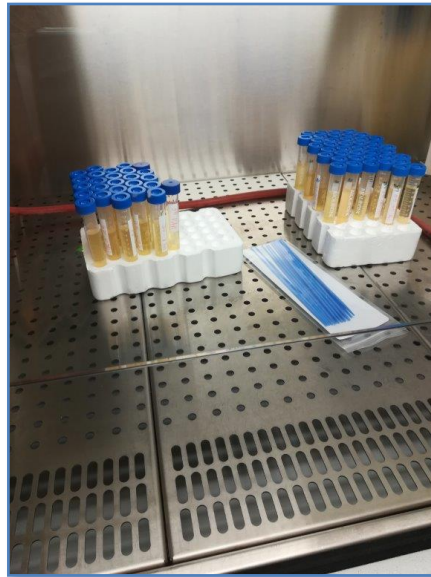


Figure 45: Chambre laminaire pour les manipulations avec les microorganismes

b) Préparation du minéral

Pour s'assurer que les réactions microorganismes-minéral sont uniquement dues aux souches préparées auparavant, le minéral a été stérilisé dans un autoclave et protégé pendant toute la période des tests. Pour chaque essai, un gramme du minéral stérilisé a été préparé.



Figure 46: Les échantillons ont été conservés dans des chambres stériles

c) Test d'adhésion

Une concentration connue de la souche est préparée dans 50 mL de solution de NaCl. La concentration est fixée selon la littérature et les essais pilotes qui ont été déjà faits pour chaque souche. Une masse de 1 g du minerai a été rajouté à 50 mL de la solution déjà préparée, puis passer à l'incubation dans différentes conditions. Les principales conditions qui sont modifiés sont le temps d'incubation et pH de milieu d'incubation. La température a été fixée à 28 °C.

Après l'incubation, la solution incubée est laissée pour se décanter pendant une durée de 5 minutes, suffisante pour la sédimentation du minerai et à la suspension des souches libres. Pour l'étude de l'adhésion après incubation, nous avons utilisé l'une des méthodes suivantes:

- Récupération d'un volume de 5 ml de suspension bactérienne pour la détermination de la densité à l'aide du spectrophotomètre. En fonction de la différence de densité avant et après l'incubation, la différence d'adhérence entre les souches inconnues est déterminée.
- Récupération d'un volume de 5 mL de suspension et le sécher. Pesage des souches séchées et comparaison de la masse de la même souche avant incubation.
- Les observations MEB du minerai, où l'on peut voir l'adhésion des bactéries dans le minerai.

3.2.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

Les résultats des tests avec les conditions de chaque test et les microorganismes, sont présentées sous formes des résumés de tous les résultats publiés dans nos conférences:

ETUDE DE L'ADHESION DES SOUCHES CONNUES SUR LA SURFACE DES PARTICULES DE PHOSPHATES DE DJEBEL ONK _KEF ESSNOUN**a) Essais préliminaires:**

Les essais d'adhésion préliminaires sont effectués sur le groupe de microorganismes suivants:

Candida albicans, *Bacillus subtilis*, *Rhodococcus erythropolis* CD130, *Pseudomonas fluorescens* et *Escherichia coli*, pour un temps d'incubation égal à 20 min et deux pH: 3 et 7.

Les résultats préliminaires sont représentés sous forme des images MEB. Le critère d'évaluation des résultats est l'observation de l'adhésion des différentes souches à la surface des grains d'apatite et de la dolomite. En observant les images de MEB dans la table 20, on peut résumer les résultats de chaque souche dans les points suivant:

***C. albicans*:** L'adhésion est présente dans la dolomite pour les deux pH, sur la surface d'apatite, *C.a.* est présente dans le pH 3, mais presque nulle au pH 7.

***B. Subtilis*:** Pour un pH de milieu d'incubation égal à 3, l'adhésion est très élevée dans les deux minéraux, par contre, elle est absente au pH 7 sur les deux surfaces.

***R. Erythropolis*:** Une adhésion intéressante est présente à la surface d'apatite pour un pH de milieu égal à 3, et une absence totale ou presque totale sur la surface de la dolomite dans les deux pH.

***P. fluorescens*:** Pour les deux pH, l'adhésion est disponible sur l'apatite mais elle est totalement absente dans la dolomite.

***Escherichia coli*:** Le même cas avec la souche précédente.

B. Subtilis et *C. albicans* sont choisies pour les prochaines expériences, pour leur bonne adhésion à la surface de l'apatite et la dolomite. Le choix s'est appuyé aussi sur les résultats de la biosorption qui seront montré dans la partie «biosorption». Un autre point qui désavantage les trois autres souches est la difficulté de les avoir et des difficultés de leur culture qui aura besoin d'une étude de croissance.

b) Etude de l'adhésion de *B. subtilis* et *C. albicans* à la surface du minerai de Kef Essnoun:

Pendant ces essais, le minerai est incubé avec les solutions de *B. subtilis* et *C. albicans* avec différents pH (3, 4,7 et 10), pendant des différents temps de 10 à 70 minutes.

Les valeurs ont été calculées sur la base de la densité optique (DO) de la suspension de bactéries avant et après incubation: % (d'adhérence / sédimentation) = 100% - % (DO finale mesurée après incubation avec du minerai à des moments ultérieurs).

Sur la figure 47, on peut bien constater que le milieu acide est le plus favorable de à l'adhésion de *B.s.* à la surface des grains de minerai de phosphate de Kef Essnoun. En revanche, l'adhésion de *C.a.* ne favorise pas un pH spécifique, mais elle a presque la même dans toute la plage des pH (figure 48). Pour le temps d'incubation, les deux figures montrent que le temps a une légère influence sur l'adhésion, dont elle s'augmente en augmentant le temps d'incubation, mais pour l'implantation dans l'industrie, pour minimiser les couts, il sera mieux de choisir un temps de d'incubation de 10 à 20 min.

Dans la figure 49, l'adhésion d'une cellule de *B.s.* à la surface d'apatite et de dolomite est très claire. Sur la surface d'apatite, un biofilm avec des limites claires commence à se créer et se développer autour de la cellule. Sur la surface de dolomite, trois cellules de *B.s.* sont au début de l'adhésion et au début de la création de biofilm.

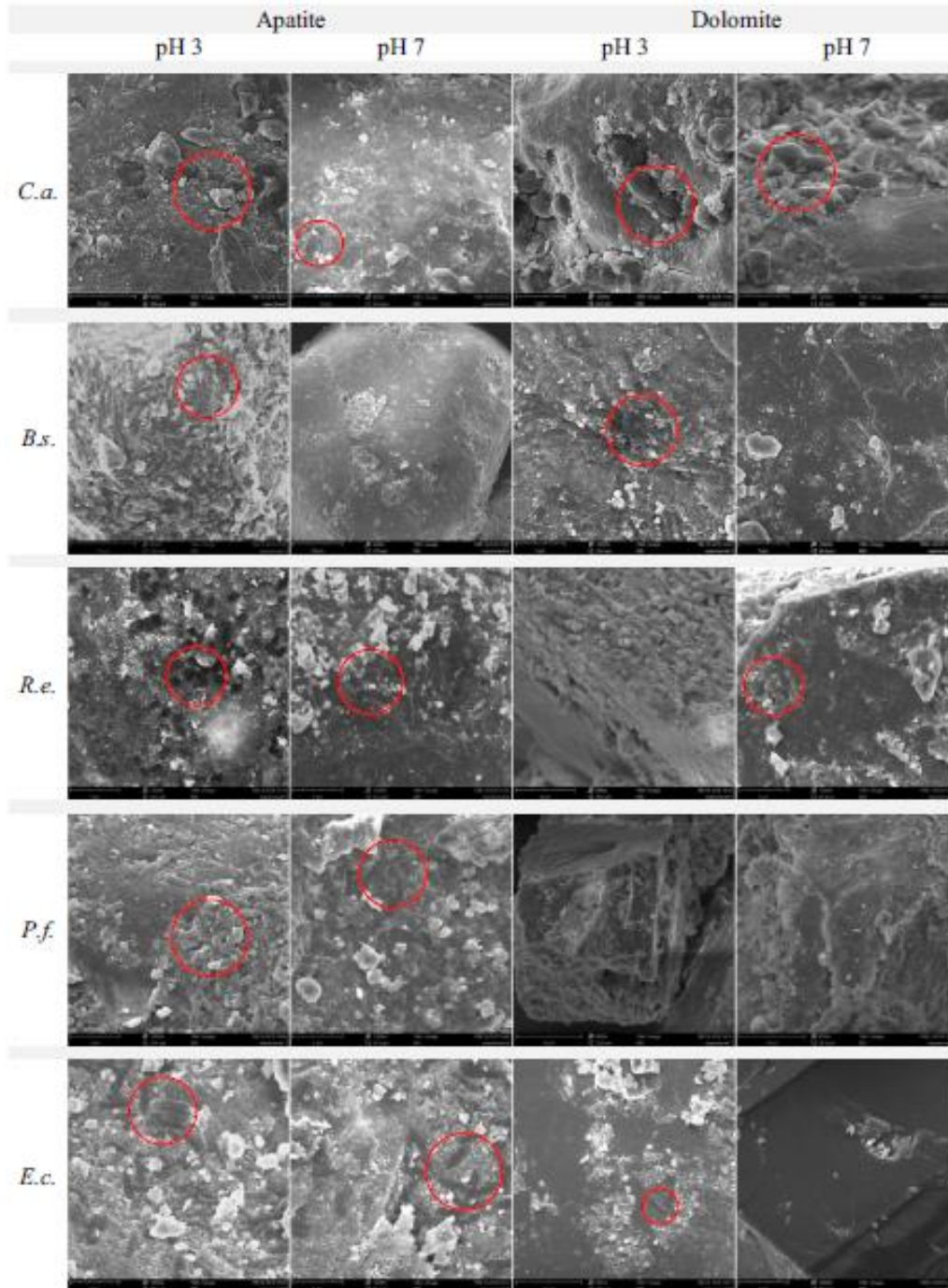
c) Etude adhésion de *B.subitilis*, *C. albicans* et *S. cerevisiae* à l'aide des points quantiques:

Dans cette étude, les souches *B. subtilis*, *C. albicans* et *S. cerevisiae* ont été marquées avec des points quantiques (CdTe QD; PlasmaChem GmbH) puis incubées avec le minerai de phosphate de Kef Essnoun. Les échantillons ont été observés sous le microscope à balayage laser concentrique Olympus FV1000 en utilisant une ligne laser à 405 nm (laser à diode). Les empilements en Z ont été acquis avec une taille de pas de 2 µm. Les images ont été traitées à l'aide du logiciel ImageJ. Les remarques observées dans les observations microscopiques sont les suivantes:

- *B. subtilis* a également révélé une bonne adhérence, mais principalement sur de fines particules (figures 50a).

- *C. albicans* a révélé une sélectivité d'adhésion (figure 50b).
- *S. cerevisiae* a révélé une adhérence limitée (figure 50c).

Table 20. Adhésion de différents microorganismes sur la surface de l'apatite et dolomite



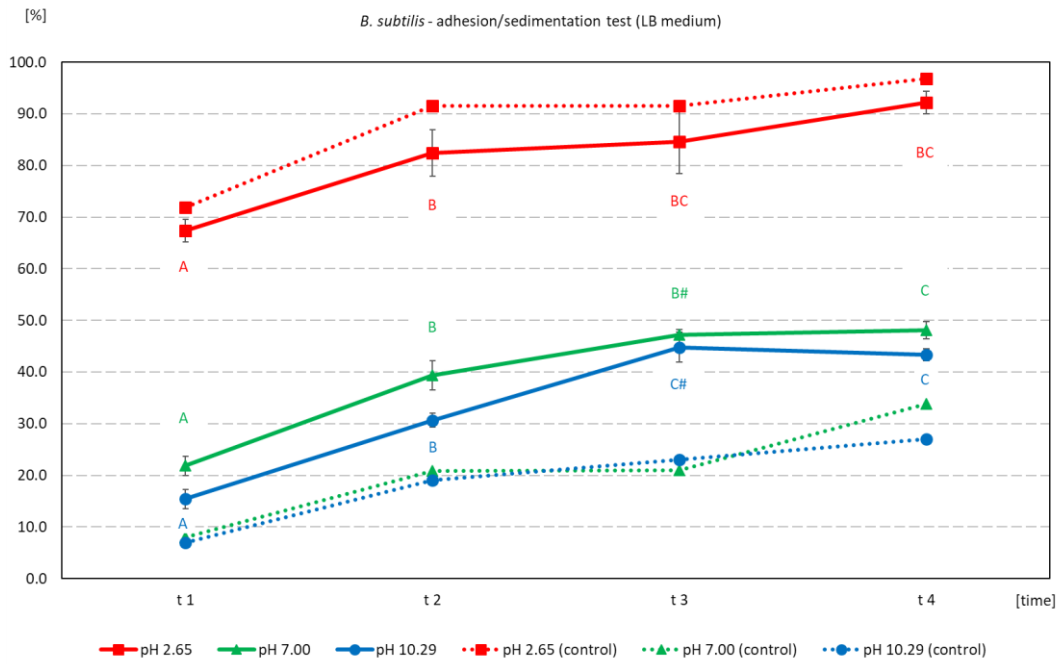


Figure 47: Adhésion de *B. subtilis* à la surface de minerai de Kef Essnoun

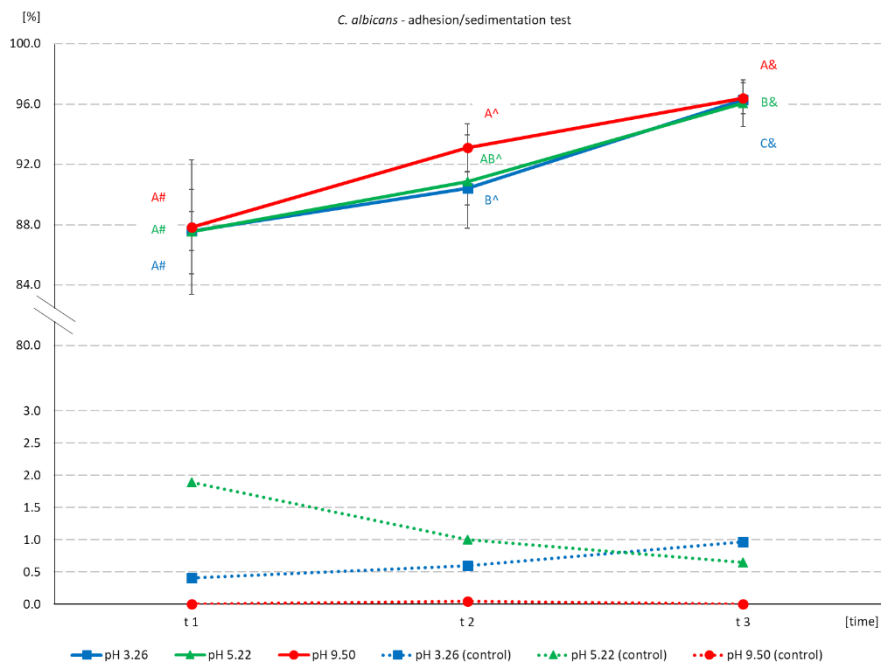
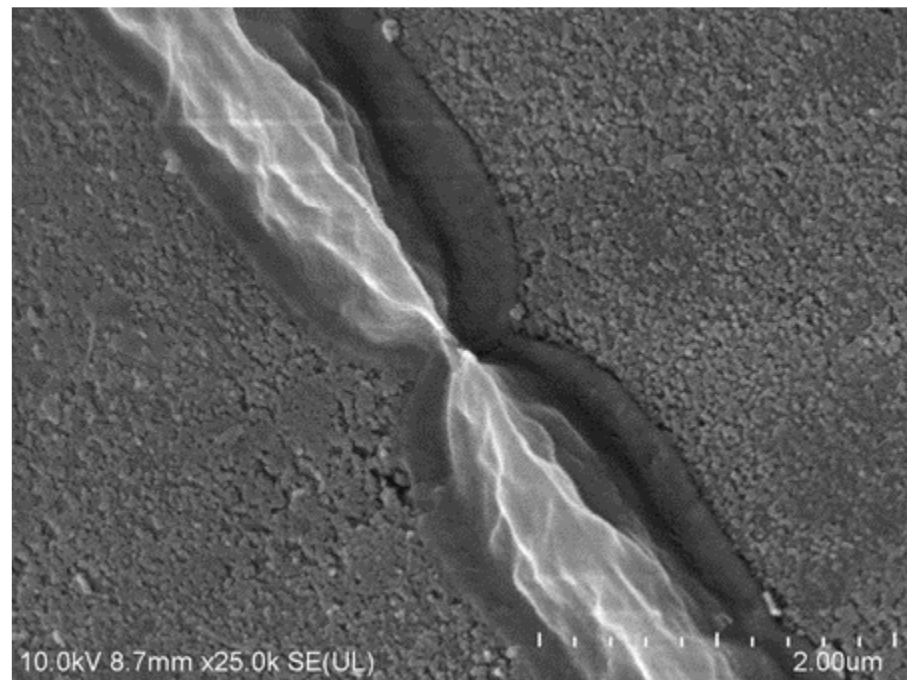


Figure 48: Adhésion de *C. albicans* à la surface de minerai de Kef Essnoun

APATITE



DOLOMITE

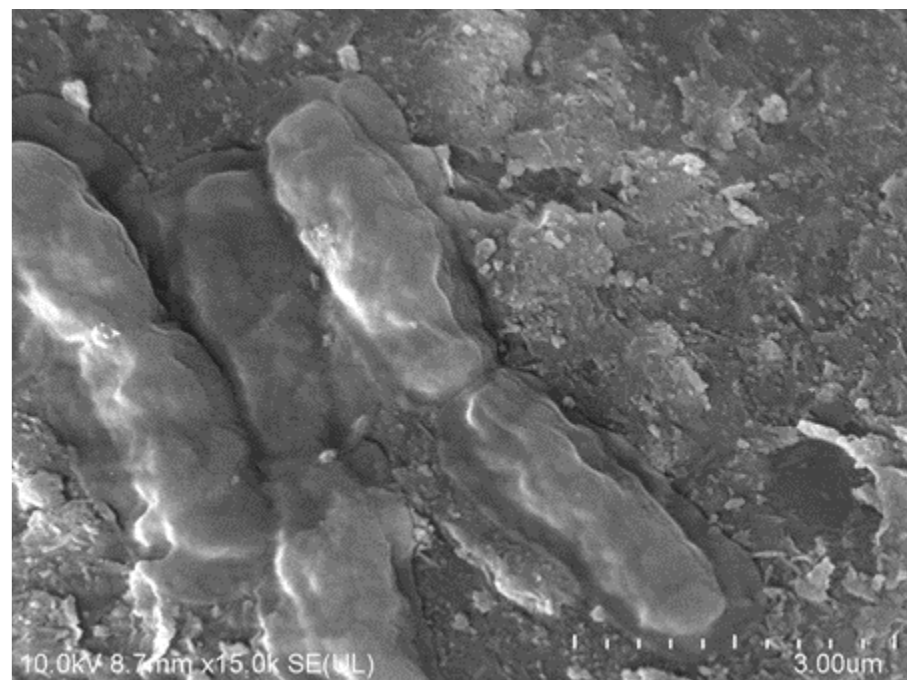


Figure 49: Cellule de *B. subtilis* adhérente à la surface d'apatite et de dolomite

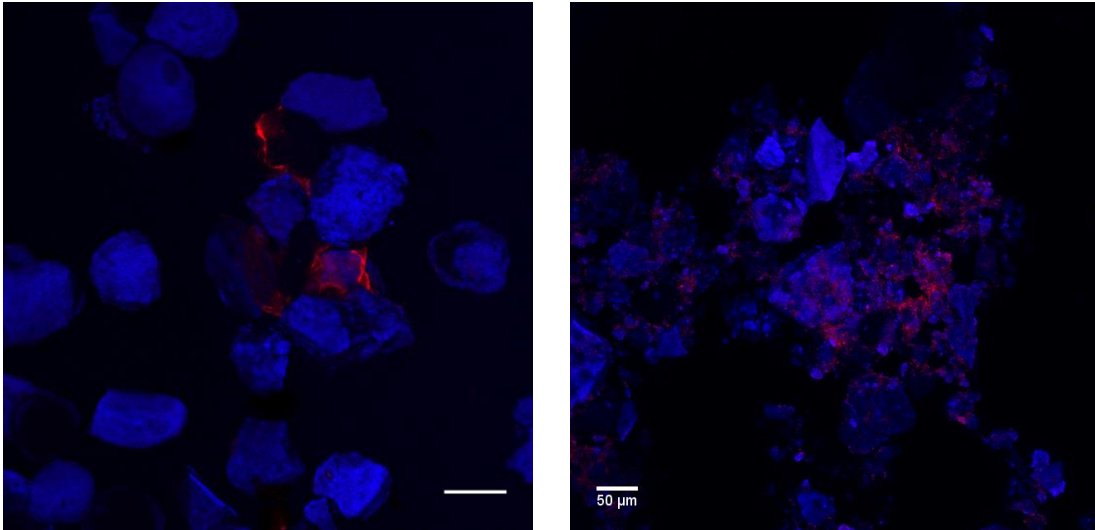
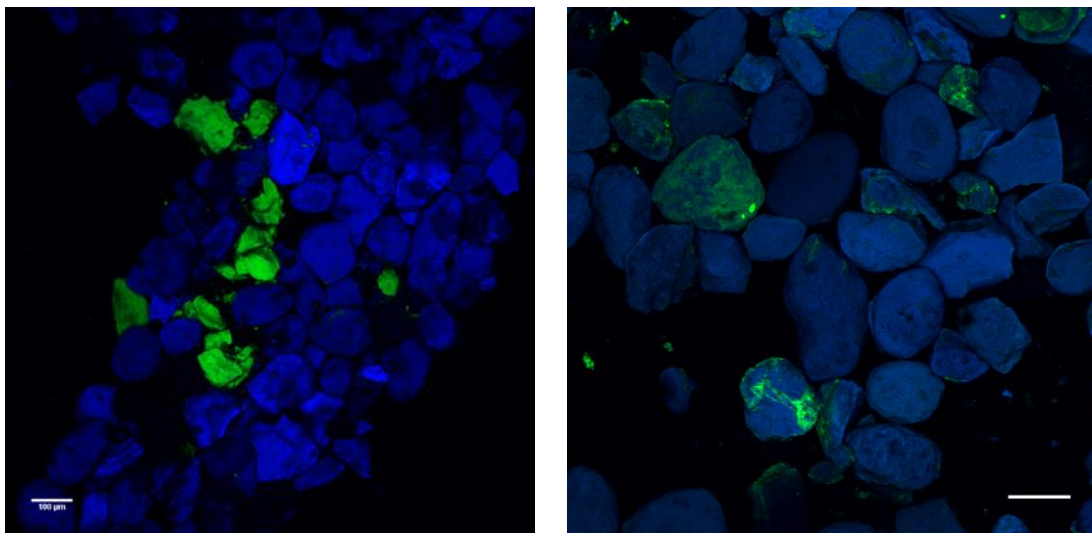
a) *B. subtilis*b) *C. albicans*c) *S. cerevisiae*

Figure 50: Observation de l'adhésion de microorganismes à la surface du phosphate de Kef Essnoun avec le microscope confocal laser concentrique Olympus FV1000

ETUDE DE L'ADHESION DE SOUCHES INCONNUES SUR LA SURFACE DES PARTICULES DE PHOSPHATES DE DJEBEL ONK_KEF ESSNOUN

Dans ces essais, des microorganismes sélectionnés ont été incubés avec le minerai de phosphate à 28 ° C et à différents pH (4, 7 et 10) sur un agitateur rotatif (120 tr/min; 20 min). Ensuite, l'adhésion/sédimentation a été évalué sur la base de la densité optique (DO) mesurée à la longueur d'onde 600 nm, en suspension de microorganismes avant et après incubation.

L'adhésion la plus élevée sur le minerai a été trouvée pour: HK23K à pH 7, *B. subtilis* à pH 4 et HKR2G1D (a) à une large gamme de pH (tableau 16). La souche HK23K (présentant une très bonne adhérence à pH neutre) a été considérée comme prometteuse et a été prise en considération dans une analyse microscopique plus poussée de l'adhésion sur les particules.

Tableau 16: Résultats de tests d'adhésion des souches inconnues (Moy: Moyenne ET: Ecart Type), représenté sous forme de adhésion/sédimentation en %

Souche	pH 4		pH 7		pH 10		control	
	Moy	ET	Moy	ET	Moy	ET	Moy	ET
HK21G	2,39	0,88	0,00	0,44	1,01	1,38	1,25	2,55
HK23K	27,27	0,52	77,94	2,53	35,89	0,82	8,36	1,91
HKR2G1D(a)	30,50	8,86	47,22	0,50	49,96	0,88	14,27	2,33
HK33A	4,18	1,59	2,12	0,19	2,77	0,29	0,69	2,31
HK32B	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,23	0,41	2,21
HK4N1L	4,68	7,20	0,00	0,00	3,08	0,71	4,23	3,50
HK4N2H	3,02	3,12	0,00	0,00	1,57	0,88	3,48	1,87
HK4N4L	7,85	4,59	6,46	1,45	6,97	0,40	4,00	1,55

La figure 51 montre une photo prise avec le microscope à balayage laser concentrique Olympus FV1000, d'un échantillon incubé avec HK2 3K qui a été marqué par points quantiques. On peut bien observer une large distribution de HK2 3K dans les grains du minerai.

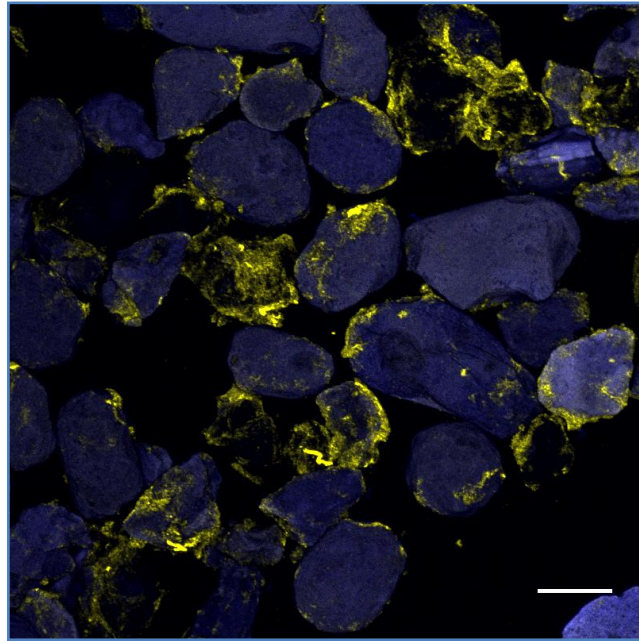


Figure 51: Adhésion de HK2 3K a la surface des grains de phosphate de Kef Essnoun.

Les microorganismes isolés du minerai naturel, puis utilisés par la suite dans les tests d'adhésion, sont caractérisés par un degré d'adhésion différent aux particules de minerai (tableau 16). *B. subtilis* possède également de bonnes capacités d'adhésion. Cependant, dans ce cas, il est nécessaire d'utiliser un pH bas pour que les bactéries soient efficaces. Nous affirmons qu'il est extrêmement préférable de trouver une souche native qui présente une forte adhérence à pH neutre. Dans le cas du développement technologique, ce phénomène peut réduire les coûts associés à la modification du pH avant et pendant le biotraitement des minéraux.

3.3. TEST DE BIOSORPTION

Le principe de la biosorption se diffère de celui de l'adhésion dans le type des mesures et l'objectif envisagé. Lors de la biosorption, on mesure la quantité des éléments absorbés par les microorganismes (Ca, Cd et Mg dans notre cas). Le choix de ses éléments était dans le but de vérifier la préférence des microorganismes en s'adhérant à la surface des grains, qui va nous servir comme base de connaissance lors du choix des bio réactifs à utiliser pendant le traitement des minerais. Une autre façon d'utiliser ces tests est la biolixiviation qui peut être étudiée dans d'autres études dans le futur, mais nos résultats resteront toujours la base pour les études concernant le bio traitement.

3.3.1. METHODOLOGIE

Le protocole appliqué dans cette partie est le même avec celui des tests d'adhésion, avec une différence dans les analyses effectuées après le test. Dans cette partie, toutes les mesures sont basées sur la méthode SAA.

Avant l'incubation, le taux des trois éléments: Ca, Cd et Mg a été mesuré pour vérifier le changement de ce taux après l'incubation. Pour cela, il faut essayer récupérer toute la biomasse en récupérant la solution et aussi laver le minerai pour détacher les microorganismes attachés aux grains.

3.3.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

Les résultats des tests avec les conditions de chaque test et les microorganismes, sont sous formes des résumés de toutes les publications publiées sous formes de conférences:

Les teneurs en cadmium et magnésium ont été mesurées par des méthodes AAS avec un spectromètre d'absorption atomique iCE™ 3500 AAS (Thermo Fisher Scientific). Après incubation avec du minerai (20 min), des suspensions de microorganismes ont été décantées et centrifugées (8 000 tr/min; 4 °C; 15 min). Les pastilles (contenant des bactéries) ont été lyophilisées (-35 °C; 0,2 mbar; 24 h), minéralisées (~ 65% HNO₃; 110 °C; 48 h) et diluées dans de l'eau déionisée. Les analyses des métaux ont été effectuées en deux répétitions techniques. Tous les tests de chaque groupe expérimental ont été effectués en triple. Les résultats ont été exprimés en moyenne ± SD. Une analyse de la variance a été effectuée. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Statistica 13.1.

ETUDE DE LA BIOSORPTION DES SOUCHES CONNUES**a) Etude préliminaires de la biosorption des souches connues:**

La concentration de Cd dans les échantillons témoins (microorganismes incubés sans minéral) était faible et n'a jamais dépassé 0,64 µg/g (figure 52A). Après 20 minutes d'incubation avec le minéral de phosphate, l'accumulation de Cd dans la biomasse a augmenté à divers degrés, démontrant une différenciation entre les souches. La valeur la plus élevée a été trouvée dans *B. subtilis* à pH 7, où elle était aussi élevée que 13,58 µg/g de biomasse (figure 52B). L'accumulation de Mg dans les échantillons témoins dépendait du pH (figure 52C). 20 minutes d'incubation avec le minéral ont entraîné une multiplication de la teneur en Mg de la biomasse. Les valeurs les plus élevées ont également été observées pour *C. albicans*, *B. subtilis* et *P. fluorescens* (figure 52D). L'accumulation de Ca dans les échantillons témoins ressemblait à l'accumulation de Mg (figure 52E). Après 20 minutes d'incubation avec le minéral de phosphate, la valeur de la teneur des Ca accumulés s'est multipliée plusieurs fois, et très remarquable pour *C. albicans*, *B. subtilis* et *P. fluorescens* (figure 52F).

Parce que *C. albicans* et *B. subtilis* ont montré une accumulation relativement élevée de tous les éléments examinés à pH 7 (ce qui peut être bénéfique pour d'autres travaux sur l'application de microorganismes en bioflottation), toutes les recherches suivantes ont été entreprises sur ces deux souches.

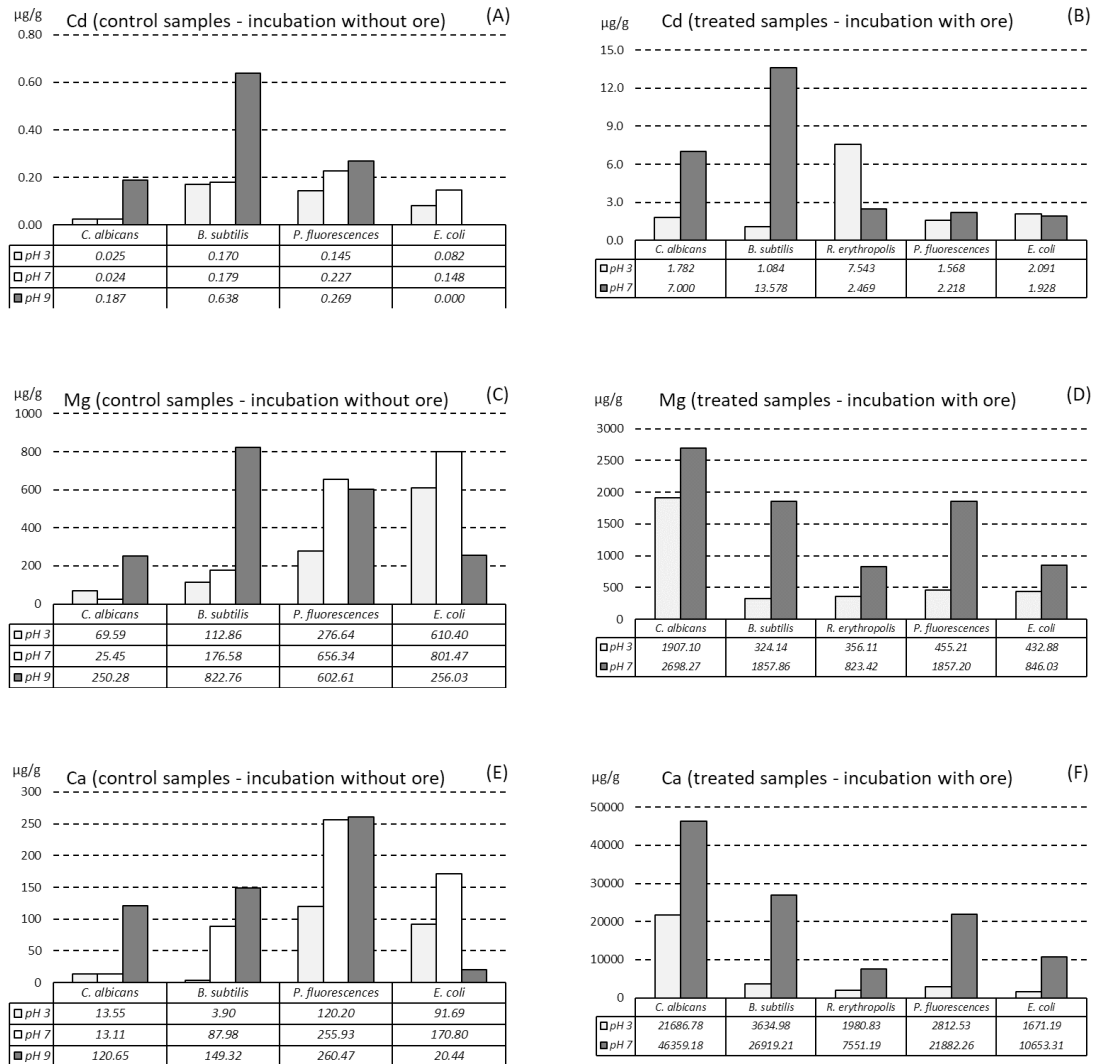


Figure 52: Accumulation des éléments Cd, Mg et Ca dans des différents microorganismes, mesurée par SAA

b) Etude de biosorption des *B. subtilis* et *C. albicans* avec variation de temps:

La concentration de tous les éléments, mesurée dans la biomasse de *B. subtilis* après incubation avec le minerai de phosphate dans un pH 7, a révélé une même allure. L'accumulation la plus élevée a été trouvée jusqu'à 20 min après l'incubation. La concentration de Cd dans les cellules de *B. subtilis* après 10 et 20 min d'incubation était plus de 29 fois plus élevée que dans le groupe témoin (figure 53A). À partir de 30 min d'incubation jusqu'à 70 min, le niveau d'accumulation de Cd était plus faible et très stable, oscillant entre 7,14 et 8,82 µg/g. La teneur en Mg dans les cellules de *B. subtilis* après 10 et 20 min était respectivement 38,5 et 41,2 fois plus élevée que dans les cellules témoins (figure 53B). 20 minutes après l'incubation, l'accumulation de Ca dans

B. subtilis était la plus élevée. À ce moment, la valeur moyenne de Ca était 1884 fois plus élevée que dans le groupe témoin (figure 53C).

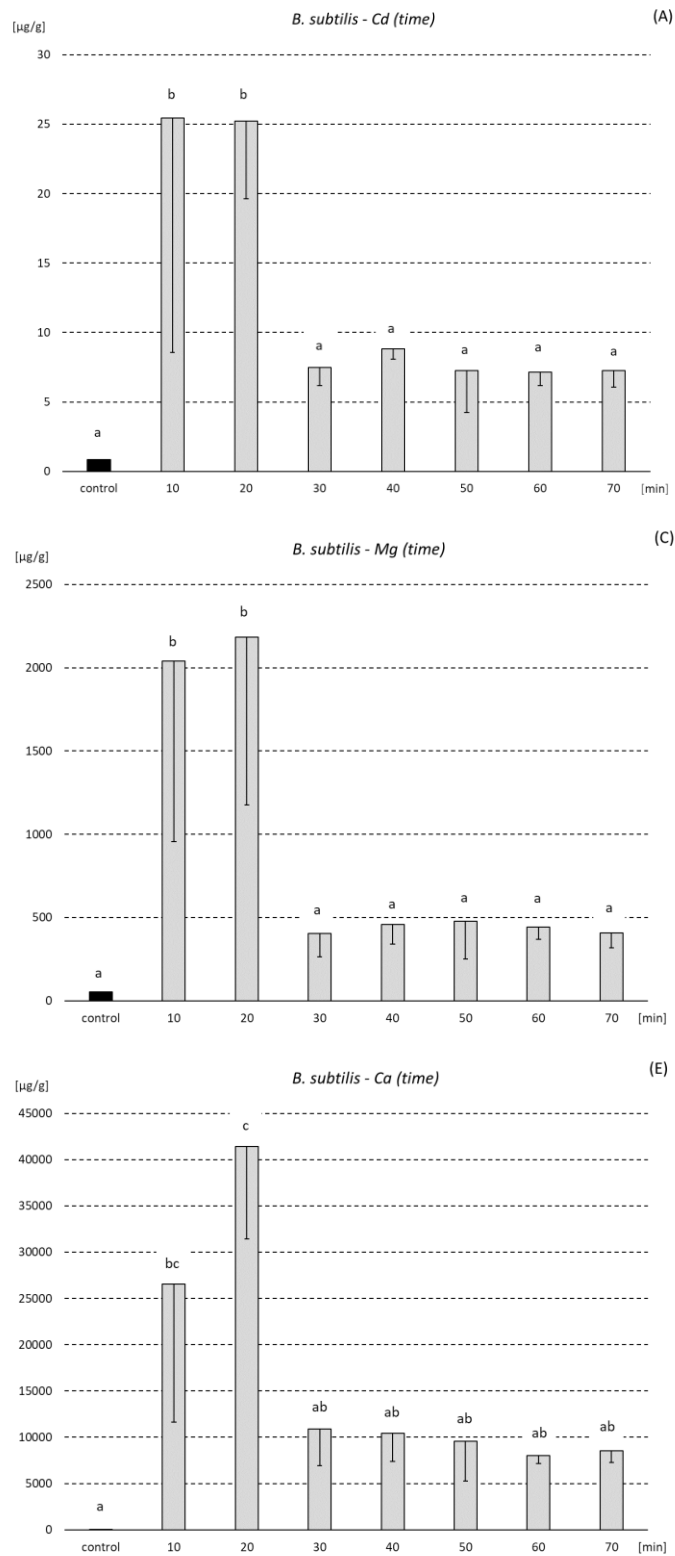


Figure 53: Accumulation des éléments Cd, Mg et Ca dans *B. subtilis*, mesurée par SAA

L'accumulation de Cd dans *C. albicans* a augmenté progressivement jusqu'à 50 minutes après la fin de l'incubation, atteignant une valeur moyenne de $26,22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ à ce moment. À partir de ce moment, l'accumulation de Cd a commencé à diminuer (figure 54B). L'accumulation de Mg dans *C. albicans* était environ 3 fois plus élevée à 10 min après incubation, et environ 2 fois plus élevée à d'autres moments, par rapport au groupe témoin (figure 54D). L'incubation avec du minerai de phosphate a provoqué une augmentation significative de la concentration de Ca dans la biomasse de *C. albicans* jusqu'à 30 minutes, par rapport au groupe témoin (figure 54F).

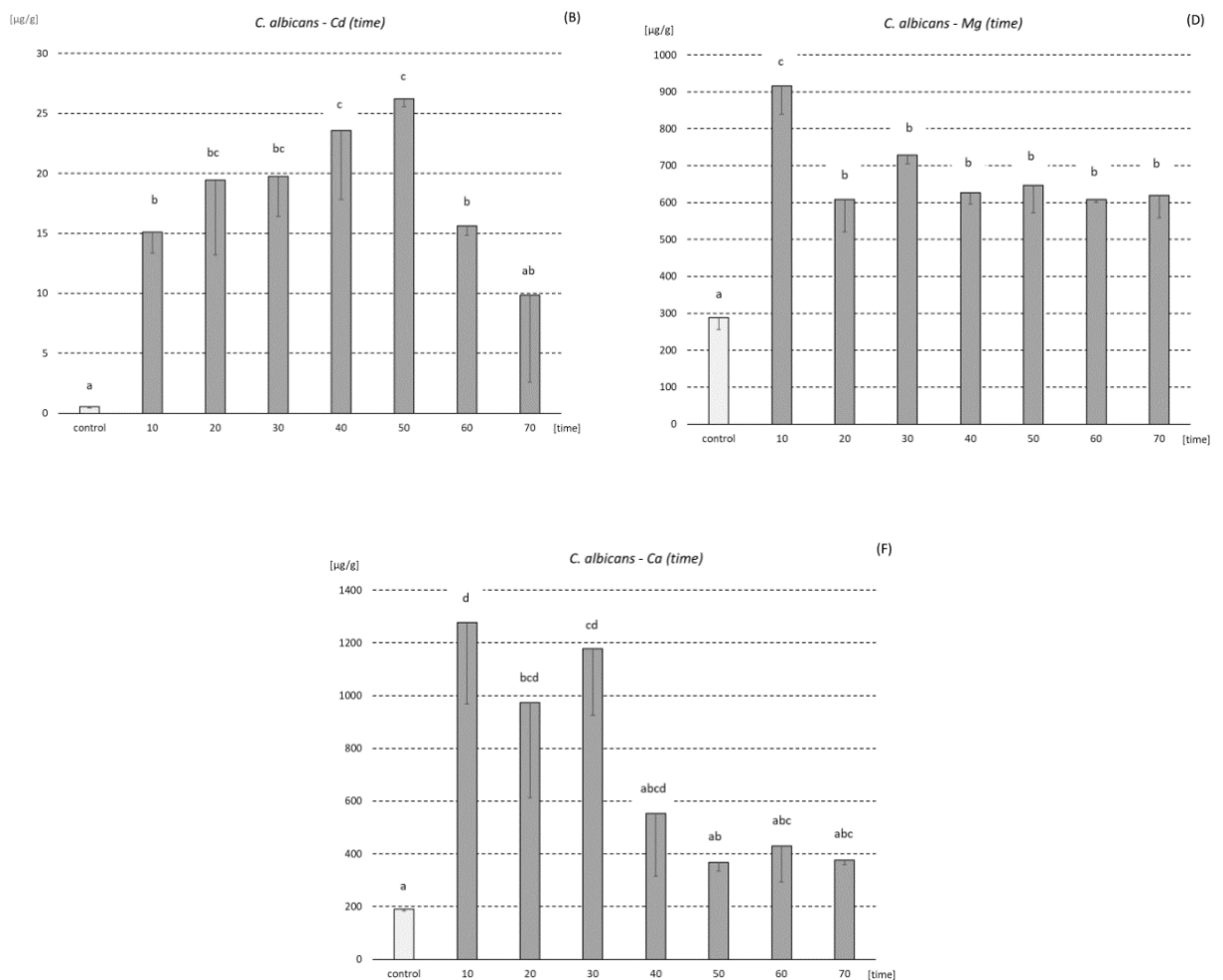


Figure 54: Accumulation des éléments Cd, Mg et Ca dans *B. subtilis*, mesurée par SAA

c) Teneur en métaux dans la biomasse - pH d'incubation différent:

La concentration de Cd, Mg et Ca a été influencée par le pH de la solution dans laquelle l'incubation a été effectuée, dans le cas des deux microorganismes testés. Les valeurs obtenues étaient, dans une large mesure, conformes à la tendance observée dans des échantillons témoins spéciaux (minerai incubé sans microorganismes). La quantité de métaux lessivés dépendait du pH. A un pH plus élevé, une teneur plus faible en métaux dans la solution a été observée après incubation. La plus forte accumulation de Cd dans la solution a été observée après incubation. La plus forte accumulation de Cd dans la biomasse de *B. subtilis* a été trouvée à pH 6. Étonnamment, la valeur moyenne de l'accumulation de Cd à pH 12 était également élevée et proche de celles trouvées à pH 6 et 8 (figure 55A). L'accumulation de Cd dans les cellules de *C. albicans* dans tous les groupes de pH testés était significativement plus élevée que dans les cellules témoins, et à une plage de pH comprise entre 4 et 10, les valeurs moyennes ont créé un groupe homogène (figure 55B).

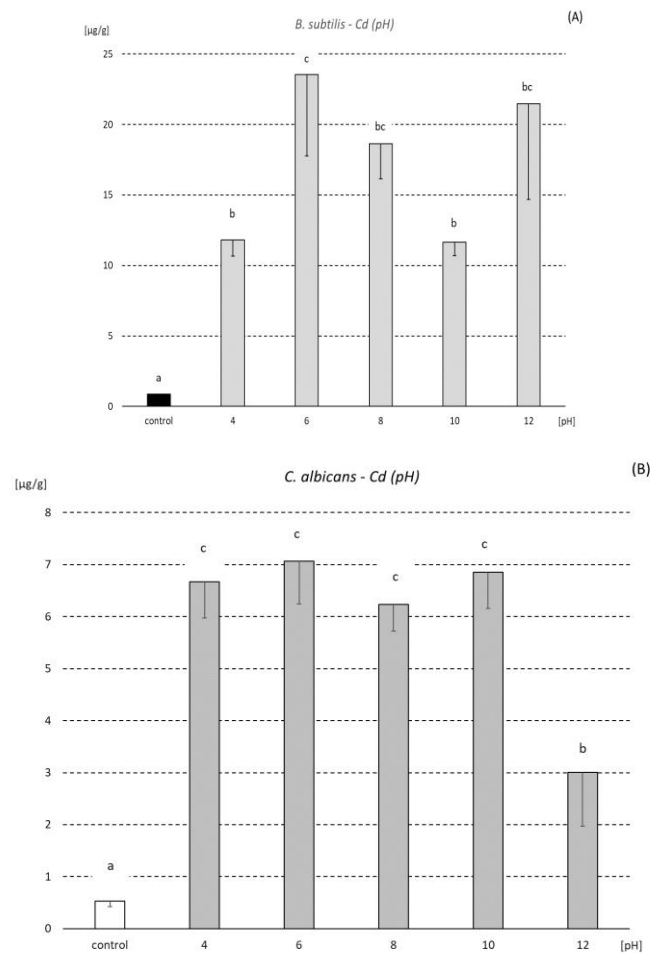


Figure 55: Accumulation de Cd dans la biomasse de *B. subtilis* et *C. albicans*

La concentration de Mg la plus élevée dans *B. subtilis* a été trouvée à pH 4 (la valeur moyenne était presque 55 fois plus élevée que dans le groupe témoin (figure 56C). *C. albicans* a accumulé du Mg dans une moindre mesure que *B. subtilis*. La valeur la plus élevée, qui a été trouvée à pH 8, n'était que 3 fois plus élevée que dans le groupe témoin (figure 56D).

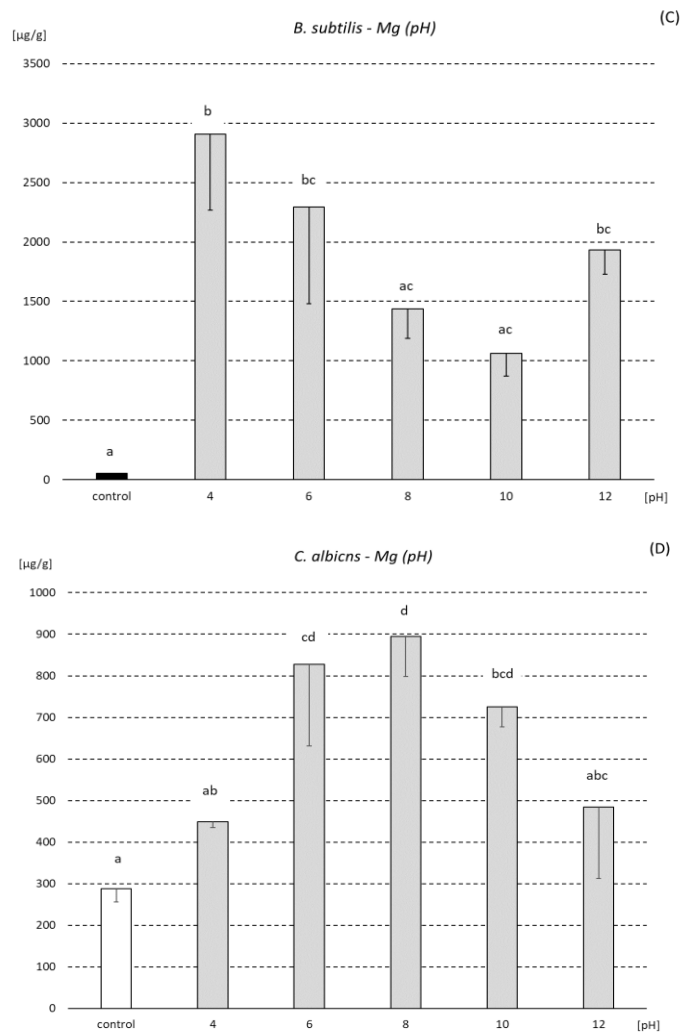


Figure 56: Accumulation de Mg dans la biomasse de *B. subtilis* et *C. albicans*

L'accumulation de Ca dans les cellules de *B. subtilis* a révélé la même allure que le Mg dans la même bactérie (figure 57E). Le niveau d'accumulation de Ca par *C. albicans* à pH 6 était 11,7 fois plus élevé que dans le groupe témoin (figure 57F). Pour *B. subtilis*,

la teneur moyenne en Ca la plus élevée (trouvée après incubation à pH 4) était 2412 fois plus élevée que dans le groupe témoin.

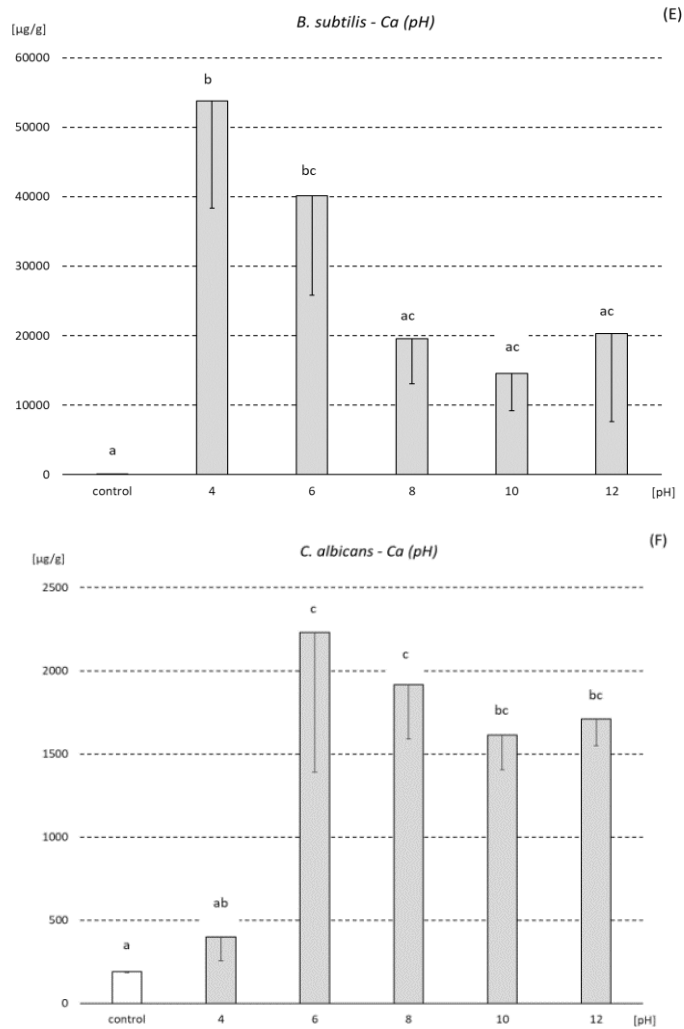


Figure 57: Accumulation de Ca dans la biomasse de *B. subtilis* et *C. albicans*

ETUDE DE LA BIOSORPTION DE Cd ET Mg AVEC DES SOUCHES NATIVES

L'objectif principal du travail était une étude des capacités de biosorption de microorganismes natifs sélectionnés, isolés du minerai de Djebel Onk (région de Kef Essnoun, Algérie). Les microorganismes natifs se différencient par l'efficacité de l'accumulation de métaux. Dans la grande majorité des microorganismes examinés, la teneur en Cd ou Mg trouvée était plus élevée que dans *B. subtilis* - utilisée comme souche de référence. L'incubation du minerai de phosphate avec des souches sélectionnées de microorganismes (pendant environ 20 minutes et à pH neutre) peut augmenter considérablement la récupération de Mg et de Cd. C'est une façon écologique de nettoyer le minerai et les déchets post-flottation. La souche prometteuse HK4N 4L semble être universelle et peut être utilisée pour éliminer divers métaux sur une large plage de pH.

Quatre souches, qui accumulaient bien le cadmium lorsque le pH d'incubation a été abaissé à 4, ont été identifiées parmi toutes les souches étudiées. Il s'agissait de souches HK2 1G, HK2 3K, HK3 3A et HK4N 4L, pour lesquelles la concentration moyenne de Cd dans la biomasse après incubation était respectivement de 43,83, 60,84, 92,81 et 85,01 $\mu\text{g/g}$ (figure 58). Lorsque le pH de la suspension pendant l'incubation était de 7, une concentration relativement élevée de cadmium a été observée dans la souche HK4N 1L et les souches HK2 3K et HK4N 4L. L'augmentation du pH à 10 pendant l'incubation a créé les conditions de biosorption les moins favorables pour les souches étudiées. Une forte accumulation de Cd a de nouveau été atteinte par deux souches, HK2 3K et HK4N 4L. L'accumulation moyenne à un pH de 10 pour ces souches était respectivement de 38,11 et 84,99 $\mu\text{g/g}$ (figure 58).

L'analyse statistique a révélé trois souches qui n'étaient pas influencées par la valeur du pH pendant l'incubation, mais une différence d'accumulation entre ces souches était notable. La concentration de Cd dans la biomasse de la souche de référence (*Bacillus subtilis* de la collection de l'Université de Silésie à Katowice) et de la souche HK3 2B était indépendante du pH et supérieure par rapport au groupe témoin (lorsque les bactéries ont été incubées sans minerai), mais les valeurs moyennes ne sont jamais dépassées 20 $\mu\text{g/g}$. La même tendance a été observée dans la souche HK4N 4L, mais les valeurs moyennes étaient toujours supérieures à 80 $\mu\text{g/g}$. Cette observation nous a

permis d'identifier la souche HK4N 4L comme un très bon biosorbant de Cd, actif dans une large gamme de valeurs de pH. Parmi les souches étudiées, celles avec une biosorption de Cd fortement dépendante du pH ont également été trouvées, atteignant les valeurs les plus basses à pH 4 et les plus élevées à pH 10. L'analyse post-hoc montre qu'à un pH de 4, les souches HK3 3A et HK4N 4L présentaient la variance la plus élevée par rapport aux autres souches en termes de capacités d'accumulation de Cd. À un pH de 10, les souches HK3N 4L et HK2 3K étaient très différentes (tableau 17). Pour la majorité des souches natives (à l'exception de la souche HK4N 2H uniquement), l'accumulation de Cd était plus élevée que dans la biomasse de *B. subtilis* - le microorganisme de référence.

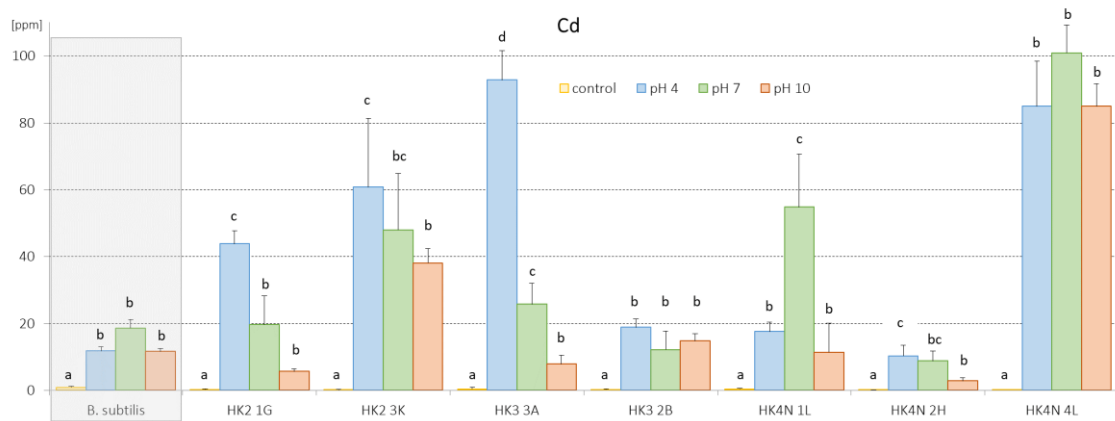


Figure 58: Accumulation de Cd par les microorganismes natifs et *B. subtilis*

Tableau 17 : Résultats du test post-hoc (ANOVA, LSD, $p < 0,05$) pour la concentration de Cd dans 7 souches de bactéries natives isolées du minerai de Djebel Onk. Abréviations: x - une paire donnée de moyennes diffère significativement en terme d'accumulation de Cd. (A) - contrôle, (B) - pH 4, (C) - pH 7 et (D) - pH 10.

(A)		HK32B	HK21G	HK4N2H	HK4N1L	HK33A	HK4N4L	HK23K		(B)
control	HK32B					x	x	x	pH4	HK32B
	HK21G					x	x			HK21G
	HK4N2H					x	x	x		HK4N2H
	HK4N1L					x	x	x		HK4N1L
	HK33A							x		HK33A
	HK4N4L									HK4N4L
	HK23K									HK23K

(C)		HK32B	HK21G	HK4N2H	HK4N1L	HK33A	HK4N4L	HK23K		(D)
pH7	HK32B						x	x	HK32B	pH10
	HK21G						x	x	HK21G	
	HK4N2H						x	x	HK4N2H	
	HK4N1L	x	x	x			x	x	HK4N1L	
	HK33A						x	x	HK33A	
	HK4N4L	x	x	x	x	x		x	HK4N4L	
	HK23K	x		x					HK23K	

Quatre souches se sont révélées très efficaces dans l'accumulation de Mg à pH 4, à savoir: les souches HK4N 4L, HK3 2B, HK3 3A et HK2 1G (figure 59). Pour ces souches, l'accumulation moyenne après incubation avec le minerai à pH 4 était respectivement de 5741, 4500, 4309 et 4103 $\mu\text{g/g}$.

L'incubation du minerai avec des microorganismes à pH neutre a de nouveau révélé une très grande efficacité de la souche HK4N 4L (moyenne: 8147 $\mu\text{g/g}$). La teneur en Mg de la biomasse dans ce groupe était 272 fois plus élevée que dans le groupe témoin de HK4N 4L (incubation sans minerai). À un pH de 7, une biosorption relativement bonne de Mg a également été affichée par les souches: HK4 1L, HK3 2B, HK2 3K et HK2 3A. De bons résultats dans la biosorption de Mg à pH 10 ont été montrés par HK4N 4L, HK3 2B et HK2 3K. Comme dans le cas du Cd, la souche HK4N 4L a également révélé une capacité de biosorption élevée sur une large gamme de pH pour le Mg (figure 59).

Il a été découvert que trois souches ne modifiaient pas leur capacité d'accumulation de pH sous l'influence d'une modification du pH. Un tel comportement a été observé dans les souches HK2 3K, HK3 2B et HK4N 4L. Les souches avec une corrélation négative entre l'accumulation de Mg et le pH (donc l'accumulation était la plus élevée à un pH bas) étaient: souche de référence *B. subtilis*, HK2 1G, HK3 3A, KH4N 2H. Des tests post-hoc ont révélé la plus grande variance d'accumulation de Mg à pH 10 pour les souches: HK4N 4L, HK3 2B et HK2 3K. Pendant ce temps, à un pH de 7, la souche HK4N 4L est restée la plus différente de toutes les autres (tableau 18).

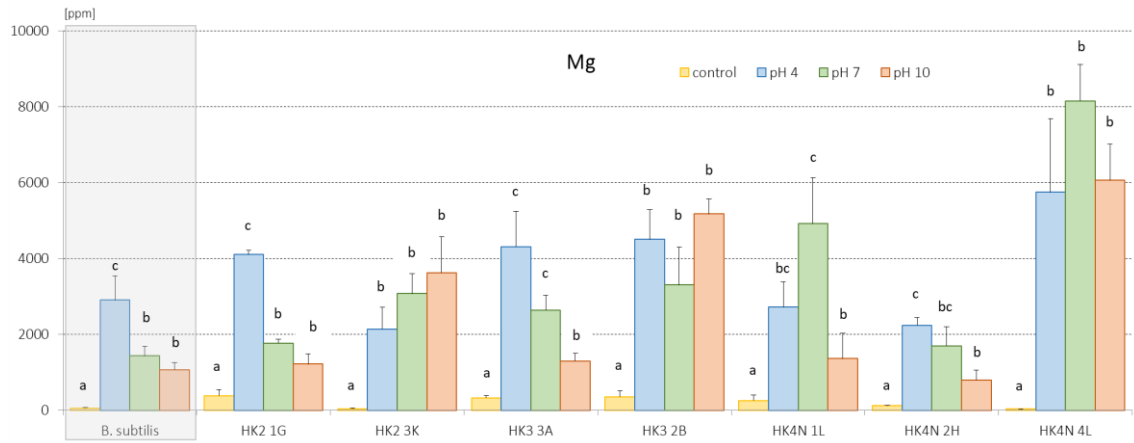


Figure 59: Accumulation de Mg par les microorganismes natifs et *B. subtilis*

Tableau 18 : Résultats du test post-hoc (ANOVA, LSD, $p < 0,05$) pour la concentration de Mg dans 7 souches de bactéries natives isolées du minerai de Djebel Onk. Abréviations : x - une paire donnée de moyennes diffère significativement en terme d'accumulation de Cd. (A) - contrôle, (B) - pH 4, (C) - pH 7 et (D) - pH 10.

(A)		HK32B	HK21G	HK4N2H	HK4N1L	HK33A	HK4N4L	HK23K		(B)
control	HK32B								HK32B	pH4
	HK21G								HK21G	
	HK4N2H						x		HK4N2H	
	HK4N1L						x		HK4N1L	
	HK33A								HK33A	
	HK4N4L	x	x					x	HK4N4L	
	HK23K	x	x						HK23K	
(C)		HK32B	HK21G	HK4N2H	HK4N1L	HK33A	HK4N4L	HK23K		(D)
pH7	HK32B		x	x	x	x			HK32B	pH10
	HK21G						x	x	HK21G	
	HK4N2H						x	x	HK4N2H	
	HK4N1L		x	x			x	x	HK4N1L	
	HK33A						x	x	HK33A	
	HK4N4L	x	x	x	x	x		x	HK4N4L	
	HK23K								HK23K	

3.4. TESTS DE BIOFLOTTATION

Les essais de bioflottation ont été réalisés à la faculté de biologie à l'université de Silésie. La meilleure réduction du MgO a été réalisée en utilisant l'acide oléique et HK2 3k avec une récupération de P₂O₅ égale à 94% et une réduction de MgO jusqu'à 0,86 %. Beaucoup d'essais sur les minéraux standard (apatite pure et dolomite pure) ont été effectués afin de réduire le nombre des analyses de haute précision, en se basant seulement sur la récupération pondérale, pour les tests individuels.

Lors de la bioflottation d'un minerai, le principe de la flottation des éléments et la dépression des autres reste toujours le même en comparaison avec celui de la flottation classique. La seule différence est le mode de conditionnement de ces derniers, qui a besoin généralement de plus de temps et de prudence.

3.4.1. METHODOLOGIE

En comparaison avec la flottation conventionnelle, la bioflottation est réalisée en gardant le même principe qui consiste à faire flotter des grains en les rendant hydrophobes et déprimer autres grains en les rendant hydrophiles. Le protocole de la bioflottation est divisé en deux parties pour faciliter la manipulation avec les microorganismes:

a) Bio-conditionnement:

Compte tenu des conditions spécifiques de cette partie et de son importance pour la réussite de la bioflottation, celle-ci est réalisée séparément de la machine de micro flottation, sur la base des résultats et techniques de la partie «Étude d'adhésion» (principalement côté technique). Des bioréactifs sont utilisés afin de contrôler le processus de bioflottation comme: *Bacillus subtilis*, bactérie native HK2 3K, BYC (Baker's Yeast Cells) et une enzyme (uréase). Pour des raisons de complexité et de danger de travail avec des microorganismes inconnus, les microorganismes natifs seront identifiés et utilisés au futur.

Dans un erlenmeyer, 2 g de minerai stérilisé sont ajoutés à 10 ml de solution bactérienne dans l'eau ionisée, pour obtenir une pulpe à 20% de solide. Ensuite le mélange est mélangé pendant deux minutes, puis incubé pendant 20 minutes, dans une salle à une température 28 °C. Après l'incubation, le mélange sera utilisé dans la

prochaine étape. Les conditions de pH et le type de bioréactifs utilisés sont indépendants de la prochaine étape de la bioflottation.

b) Micro flottation:

La micro flottation est réalisée dans un tube Hallimond modifié avec la capacité de 100 ml, équipé d'un système d'agitation pour permettre l'agitation de la pulpe. Le mélange conditionné est rajouté au tube puis rempli jusqu'à 100 ml avec de l'eau ionisée. En maintenant l'agitation, l'air est injecté dans le tube pendant 5 minutes, en produisant des bulles d'aires régulières de taille entre 0,6 à 1 mm. Le concentré et le rejet seront sécher, peser puis destiner aux analyses DRX, FRX et MEB.

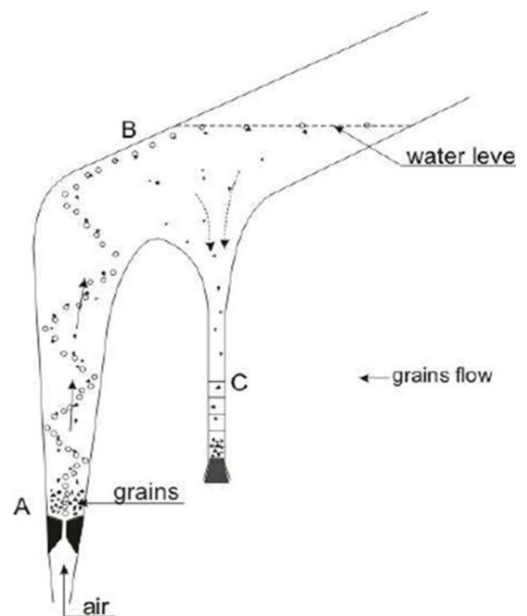


Figure 60: Tube Hallimond – principe de fonctionnement



Figure 61: Tube Hallimond - les différentes parties du tube et la méthode d'utilisation au laboratoire



Figure 62 : Tube Hallimond - la formation de mousse pendant la flottation a été visualisée

3.4.2. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

a) Etude de la flottabilité de la dolomite pure:

La flottabilité de la dolomite pure a été étudiée en utilisant les bioréactifs suivants : *B. subtilis*, HK2 3K et l'enzyme uréase. L'utilisation des enzymes a été introduite récemment dans le traitement des minerais, et elle a donné de bons résultats dans notre laboratoire, mais sans une interprétation complète.

1) *B. subtilis* et HK2 3K

B. subtilis et HK2 3K ont été testées dans le pH 9 sur la base des résultats d'études précédentes. La concentration de la solution bactérienne a été variée de 25 µg/L jusqu'à 125 µg/L pour les deux bactéries (calculée en fonction du volume du tube, pour 2 g de minerai). L'allure de graphe de récupération de la dolomite est le même pour les deux bactéries et a montré une bonne capacité de déprimer la dolomite pure à partir de la concentration 100 µg/L pour *B. subtilis* et 125 pour HK2 3K, ce qui peut s'expliquer par l'intérêt de ces deux bactéries en Mg (selon les résultats précédents) (figure 63). La concentration de la solution bactérienne est en relation inverse avec la récupération de la dolomite, dont la récupération diminue en augmentant la concentration, ce qui confirme le rôle de *B. subtilis* et HK2 3K comme déprimants.

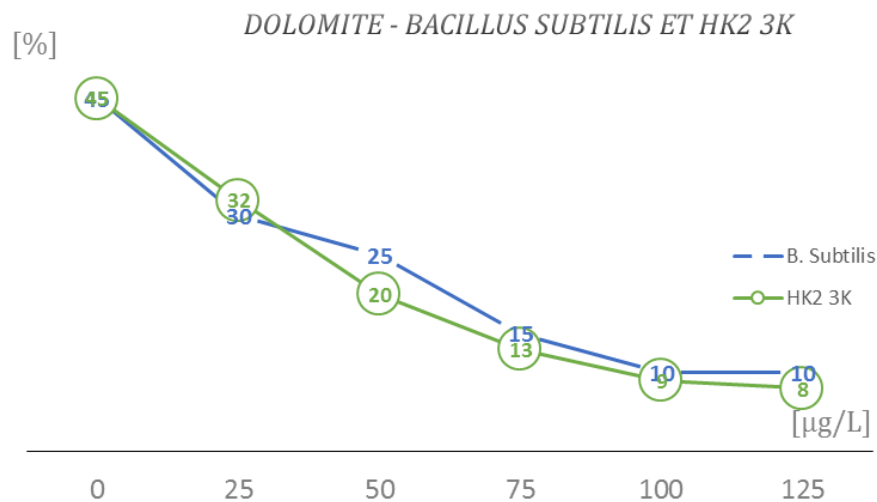


Figure 63: Récupération de la dolomite pure en fonction de concentration de *B. subtilis* et HK2 3K –avec un pH 9-

2) Uréase :

L'uréase est parmi les solutions prometteuses pour la dépression de la dolomite, qui a été testée pour la première fois dans cette thèse pour étudier son influence sur la flottation du minerai pur de la dolomite. Pour un pH 7, la récupération de la dolomite a été réduite jusqu'à 5% pour une concentration de 1% (figure 64) qui est considérée assez grande en comparaison avec résultats habituels dans les autres études. Cependant, l'utilisation des enzymes pour la flottation des phosphates est très recommandée, à cause de la facilité de la manipulation des enzymes en comparaison avec les bactéries et les champignons.

Les résultats montrent au-dessus, seront la base des prochaines études, dans le but de récupération ou réduction de la dolomite, compte tenu de l'efficacité de l'uréase dans la diminution de la flottabilité de la dolomite.

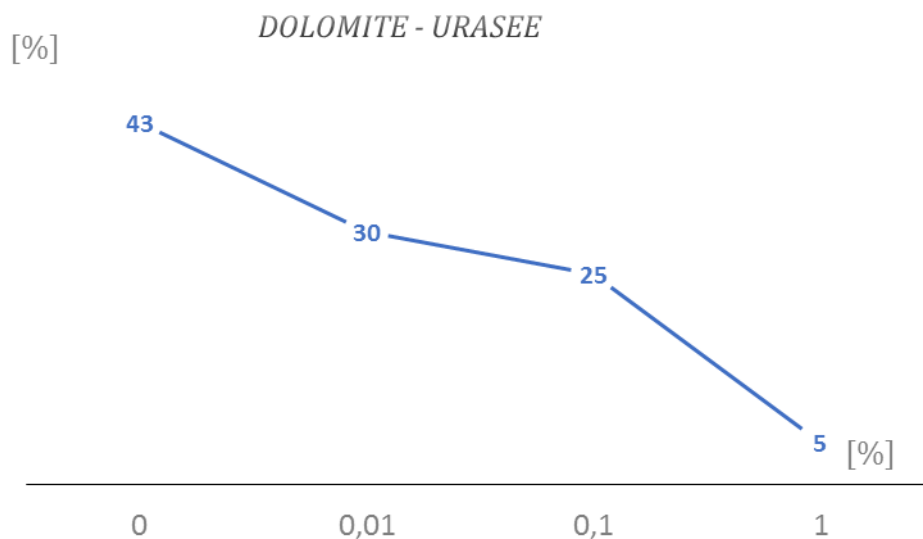


Figure 64: Récupération de la dolomite pure en fonction de concentration de l'enzyme uréase –avec un pH 7-

Explication du fonctionnement de l'uréase :

Les molécules enzymatiques sont principalement recouvertes de groupes fonctionnels hydrophiles. Ils ont également des poches hydrophobes (sites actifs). On peut supposer qu'il existe une liaison hydrophobe entre la surface minérale et la poche hydrophobe trouvée sur la surface de l'enzyme. Cela détermine la bonne orientation de l'enzyme. La

nouvelle surface créée de particule minérale devient hydrophile en raison de la présence de groupes hydrophiles sur la surface de l'enzyme. Nous supposons que cela se produit sur les surfaces de dolomite. On ne sait pas encore exactement quelle est la base de l'affinité plus élevée des poches hydrophobes enzymatiques à la surface de la dolomite (figure 65). Un autre effet a été obtenu par (57) pour les enzymes cellulases. Ces auteurs ont utilisé de l'acide oléique et de la cellulase. Ils ont montré que dans de telles conditions, la cellulase peut agir comme un déprimant du phosphate dans la flottation de dolomite-phosphate. Cependant, il ne faut pas oublier que les enzymes diffèrent considérablement dans leur affinité pour des groupes spécifiques et même pour les ions métalliques. D'autres études sur l'affinité de l'uréase pour la surface de la dolomite devraient être menées.

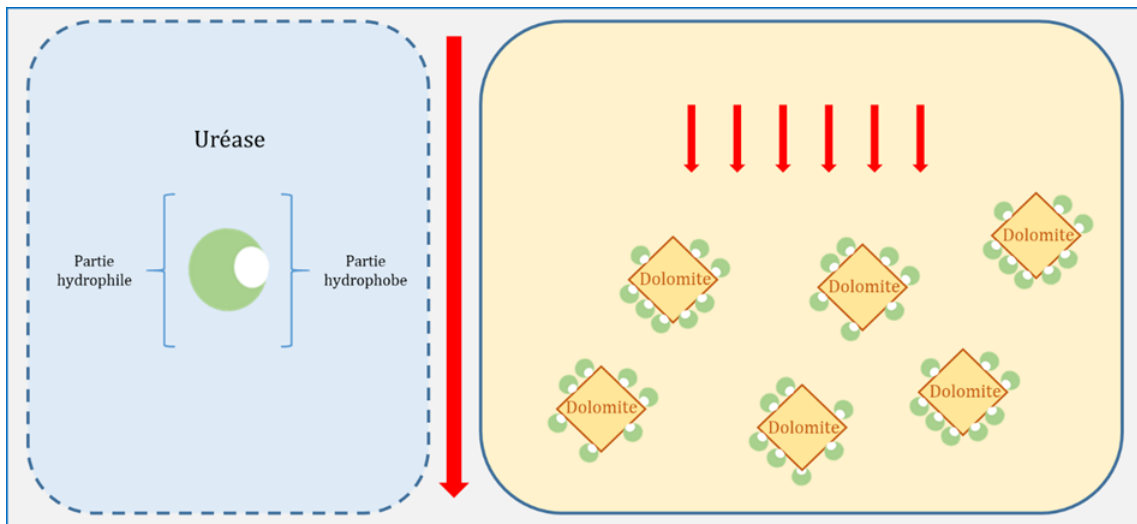


Figure 65:L'explication du fonctionnement de l'uréase dans la dépression de la dolomite

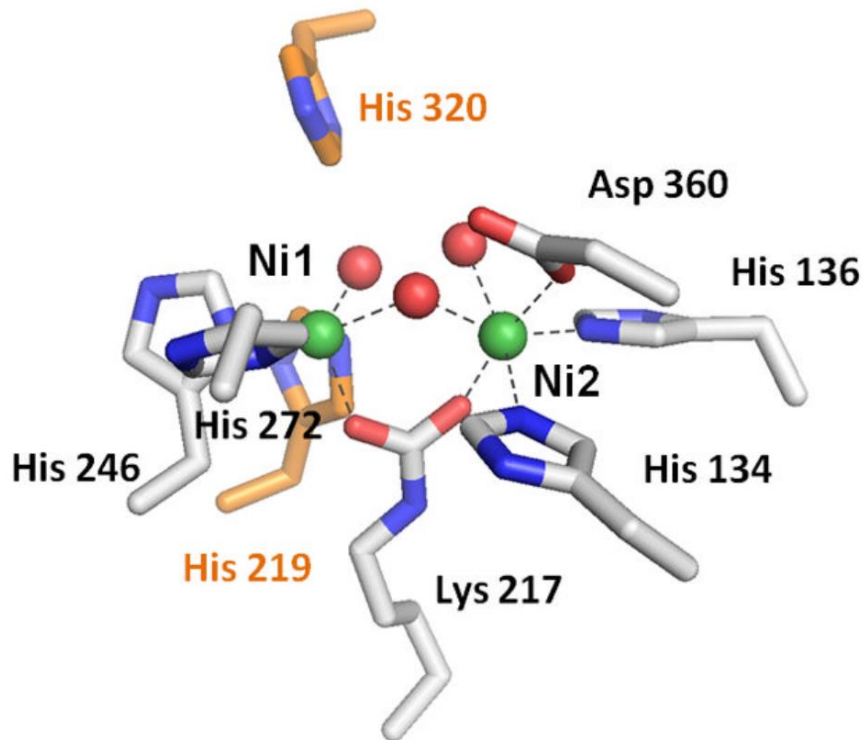


Figure 66: Le site actif de l'uréase. Le site actif de l'uréase contient deux atomes de nickel (vert) pontés par une lysine carboxylée et un groupe hydroxyle. Source: (58)

c) Etude de la flottabilité de l'Apatite:

1) Préparation de la levure de boulanger (BYC):

Dans cette expérience, l'utilisation commerciale des cellules de levure de boulanger (BYC) a été optimisée, suivant la procédure décrite par Silva (40). La levure de boulanger est un microorganisme très pratique car il est relativement facile à multiplier à l'échelle industrielle, et il n'est pas bio-dangereux et peut être trouvé partout dans le monde.

La levure de boulanger a été achetée dans une épicerie. Elle contient des émulsifiants et des conservateurs, alors elle a été lavée avec de l'eau distillée avant la saponification. La levure a été dissoute dans de l'eau distillée (donnant une solution de 1 g de BYC / 20 ml). La solution a été centrifugée à température ambiante pendant 5 minutes à 3400 tr / min pour éliminer les émulsifiants et les conservateurs. Les granulés obtenus ont été mis en suspension dans de l'eau distillée. Ce traitement a été répété trois fois pour s'assurer que la levure était bien rincée. Une solution de BYC a été préparée: 100 g de BYC rincé et 600 ml d'eau distillée ont été mélangés dans un bêcher en verre et agités sur un agitateur magnétique (100 tr / min) à température ambiante jusqu'à ce qu'une suspension

uniforme soit obtenue. La saponification BYC a été réalisée en ajoutant 400 g d'une solution de NaOH (10%, p / v) à la solution (40). La cinétique de saponification du BYC est lente. C'est pourquoi le réactif nécessite un vieillissement avant son utilisation comme collecteur. Par conséquent, la suspension préparée a été laissée pendant 4 jours au réfrigérateur (à 8 ° C) pour le vieillissement. Après ce délai, le réactif était prêt à être utilisé.

2) Test de Bioflottation :

BYC a été testée pour étudier la flottabilité de l'apatite pour un milieu neutre (pH 7). La récupération d'une quantité maximale de l'apatite a été l'objet principal de cette étude avec des conditions optimales, notamment après les résultats satisfaisants des parties précédentes concernant l'apatite. On peut constater directement qu'à un pH 7, la concentration optimale pour une récupération maximale d'apatite de 90% est trouvée à 320 mg/L (figure 67).

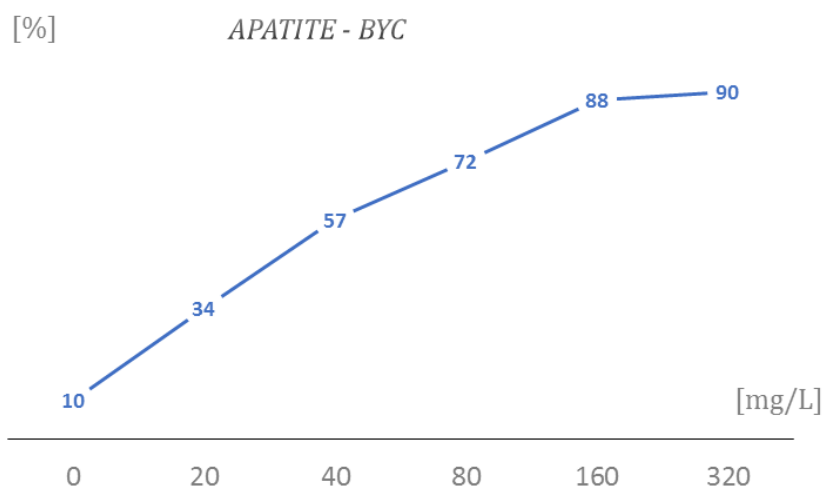


Figure 67: Récupération de l'apatite pure en fonction de concentration de BYC –avec un pH 7-

b) Etude de la bioflottation du minerai de phosphate naturel de Kef Essnoun:

En raison de manque d'échantillons d'apatite pure et de dolomite pure, et le nombre élevé des analyses nécessaires pour évaluer les résultats de la bioflottation, nous avons décidé de réaliser cette partie sur le minerai naturel.

Dans cette études, deux approches ont été suivies afin d'étudier la bioflottation du minerai de phosphate de Kef Essnoun:

- Utilisation de l'acide oléique et la bactérie HK2 3K: La concentration a été variée de 1000, 1250,1500 g/t en fixant celle de HK2 3K à 100 µg/L dans un milieu de pH 9 (dans la partie adhésion et biosorption, nous avons remarqué une interaction entre HK2 3K et le minerai dans un milieu de pH 9). D'après les résultats des premiers essais, la concentration de l'acide oléique a été fixée, et celle de HK23K a été variée de 80, 100,120 µg/L.
- Utilisation de BYC et *B. subtilis*: La concentration de BYC a été varié de 140, 160, 180, 200 mg/L et celle de *B. subtilis* a été fixe à 100 µg/L, puis cette dernière a été variée entre 50, 70, 90, 110 µg/L et celle de BYC a été fixée à 180 µg/L. Le pH du milieu toujours 7.

La bioflottation de phosphate naturel de Kef Essnoun avec les résultats finaux, peut compéter avec la flottation classique sur le même minerai. La nouveauté de ces méthodes rend l'interprétation des résultats plus difficile, mais elles sont bien confirmées dans des autres gisements de phosphates dans le monde (Egypte, USA, Brésil).

1) La bioflottation du minerai de phosphate de Kef Essnoun en utilisant l'acide oléique et HK2 3K:

Test de bioflottation:

L'utilisation de réactifs chimiques et de réactifs biologiques a donné un bon résultat pour la récupération de l'apatite contenue dans le phosphate naturel. L'Acide oléique est connu pour être un bon collecteur pour l'apatite et HK2 3K a été vérifié pour son rôle comme déprimant dans les essais précédents. Le pH du milieu a été fixé à 9 pendant tous les tests, et les concentrations ont été vérifiées dans deux séries de tests.

Pour une valeur de concentration de HK2 3K fixée à 100 µg/L, la récupération de l'apatite a atteint un maximum de 95 % pour une concentration d'acide oléique égal à 1250 g/t (figure 67). Dans le cas de la variation de la concertation de HK2 3K, la récupération maximale a été trouvé à la concentration 100 µg/L. En utilisant l'acide

oléique comme collecteur et HK2 3K comme biodéprimant, 96 % de l'apatite a été récupéré(figure 68).

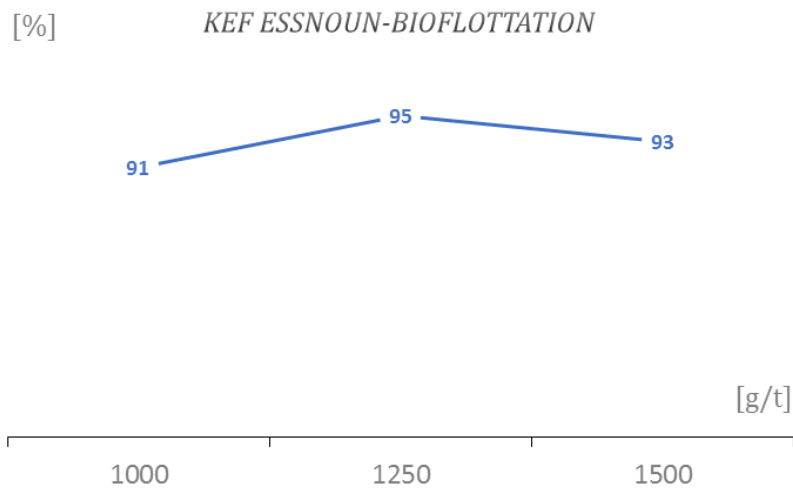


Figure 68: Récupération de l'apatite en fonction de concentration de BYC –avec un pH 9 et concentration de HK2 3K égal à 100 µg/L

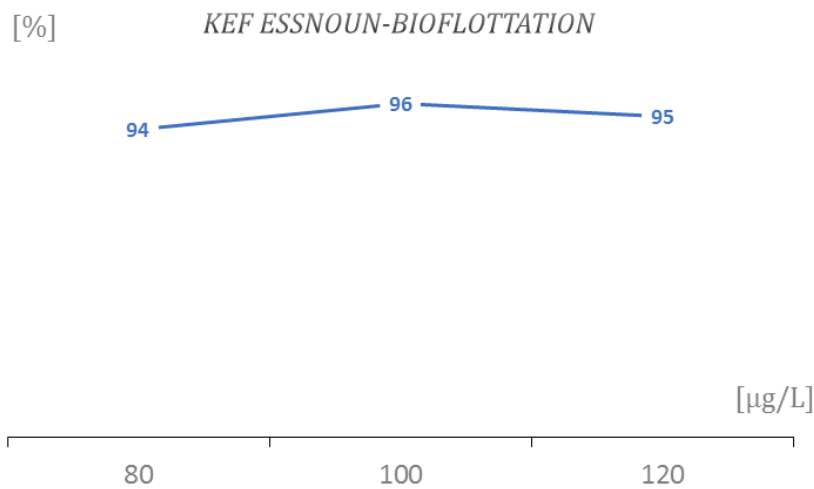


Figure 69: Récupération de l'apatite en fonction de concentration de la concentration de HK2 3K –avec un pH 9 et concentration de BYC égal à 1250 g/t

Explication du fonctionnement:

La nouvelle souche bactérienne HK2 3K isolée du minerai de phosphate de Kef Essnoun a montré une forte affinité pour la surface de la dolomite. À cet égard, il se comporte de manière similaire à *Bacillus subtilis*. Nos études précédentes ont montré que *B. subtilis* montre une adsorption significative à la surface de la dolomite, ce qui

signifie qu'elle peut être sélective dans certaines conditions. Les structures situées à la surface des cellules des microorganismes ont une influence directe sur ce processus. Les exopolysaccharides (EPS) et les projections de protéines sont impliqués dans la formation de liaisons entre la cellule et la surface. Les EPS jouent un rôle important dans la formation des structures de biofilm. De nombreuses études montrent que la présence de matière protéique à la surface cellulaire augmente l'hydrophobicité, tandis que la présence de polysaccharides affecte l'hydrophilie de surface. Apparemment, la souche HK2 3K est caractérisée par la présence d'une grande quantité de polysaccharides à la surface de la cellule, car elle augmente clairement l'hydrophilie de la dolomite et agit comme un déprimant de ce minéral. L'orientation des chaînes d'acide oléique sur la surface de l'apatite augmente son hydrophobicité et facilite la flottabilité de ce minéral (59)(figure 70).

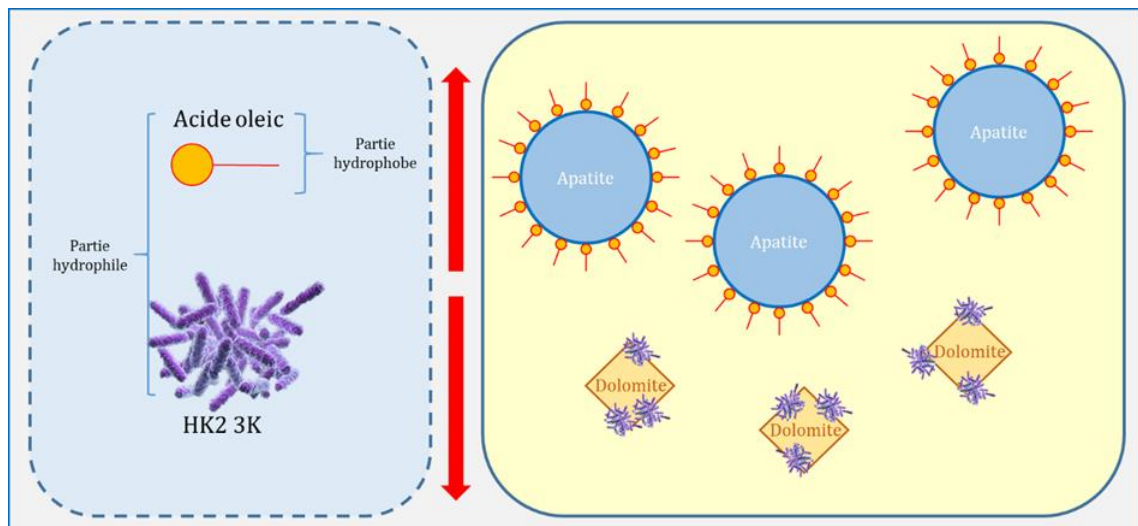


Figure 70:Explication du fonctionnement de la Bioflottation de l'apatite et de la dolomite en utilisant l'acide oléique et HK2 3K

Produit final:

Le produit final a été obtenu en utilisant 1250 g/t de l'acide oléique et 100 µg/L de HK2 3K, il a été récupéré et a subi des différents analyses: DRX, RXF, MEB et EDS. La récupération pondérale du minerai est 86,5% avec une concentration de CFA égal à 93 %.

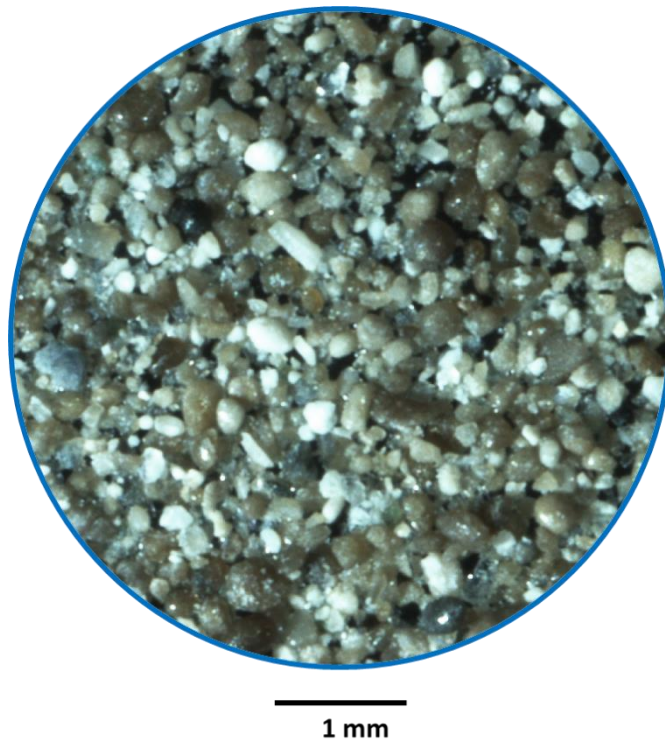


Figure 71: Le produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant l'acide oléique et HK2 3K (binoculaire Nikon SMZ 1500)

Table 21: Le produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant l'acide oléique et HK2 3K (MEB)

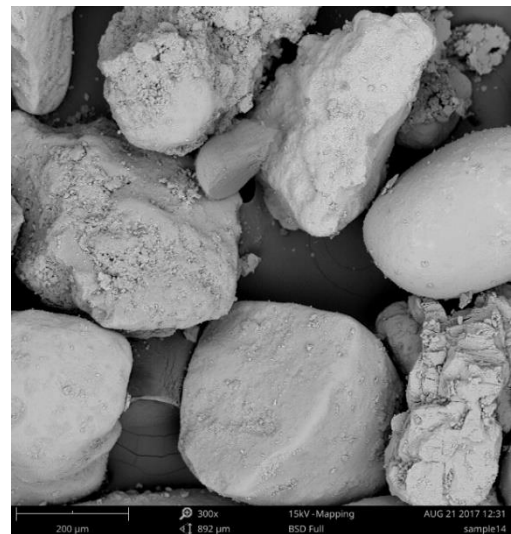
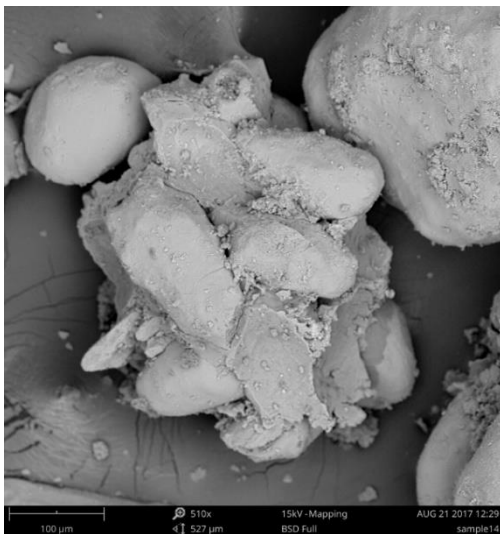
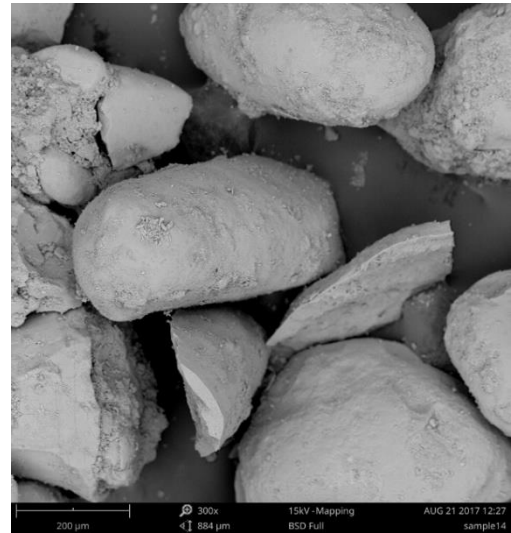
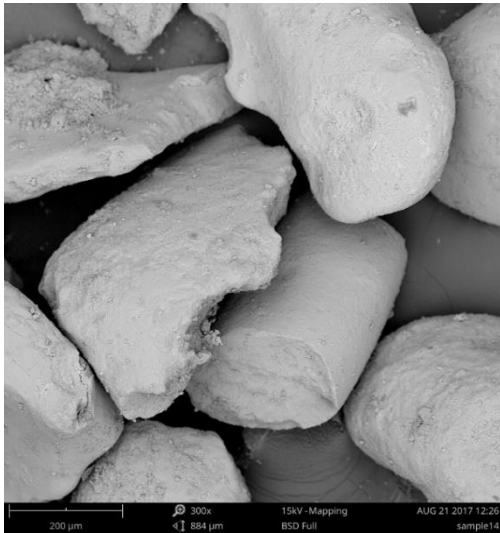
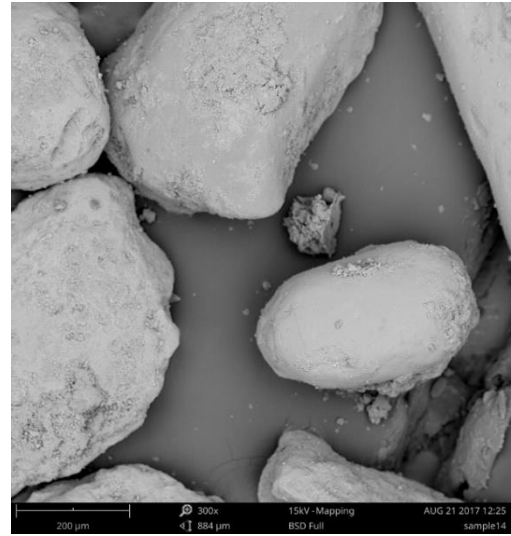
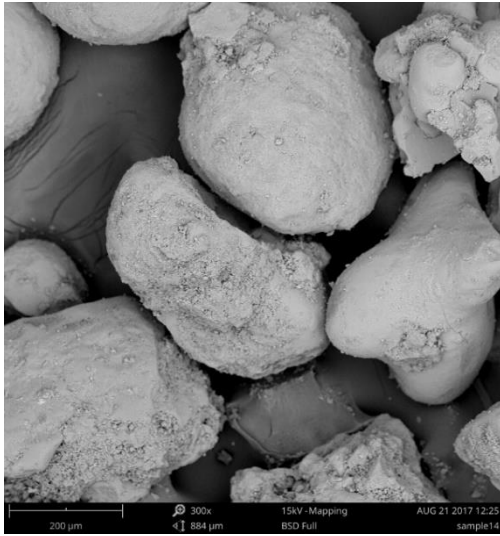
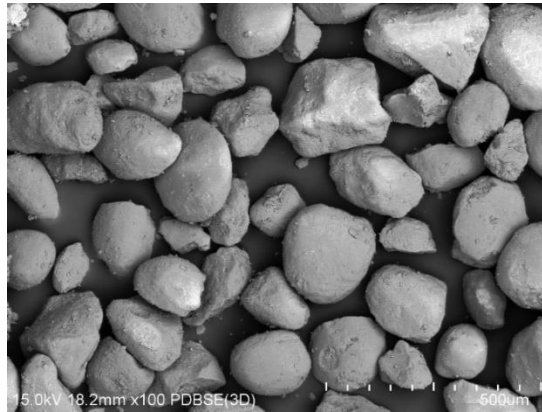
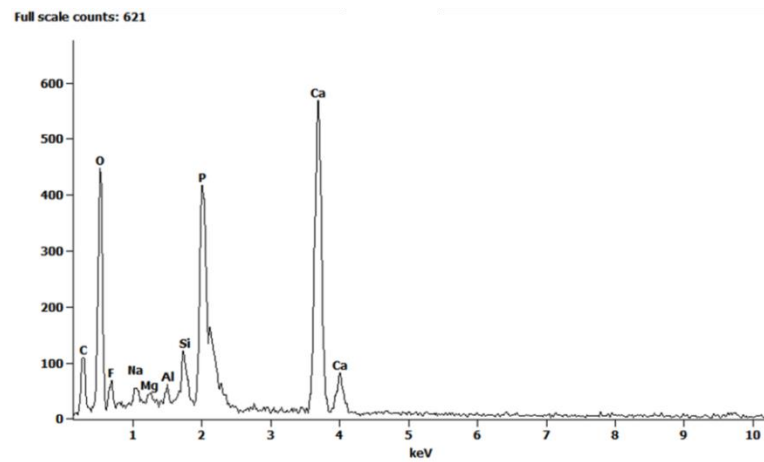


Table 22: Caractérisation générale du produit final de bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant l'acide oléique et HK2 3K (MEB/EDX)

Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
<i>C K</i>	5,8	10,1	C	5,8
<i>O K</i>	44,6	58,5	O	44,6
<i>F K</i>	4,8	5,3	F	4,8
<i>Na K</i>	1,0	0,9	Na	1,0
<i>Mg K</i>	0,5	0,4	Mg	0,5
<i>Al K</i>	0,4	0,3	Al	0,4
<i>Si K</i>	2,4	1,8	Si	2,4
<i>P K</i>	9,8	6,7	P	9,8
<i>Ca K</i>	30,6	16,0	Ca	30,6
<i>Total</i>	100,0	100,0		100,0



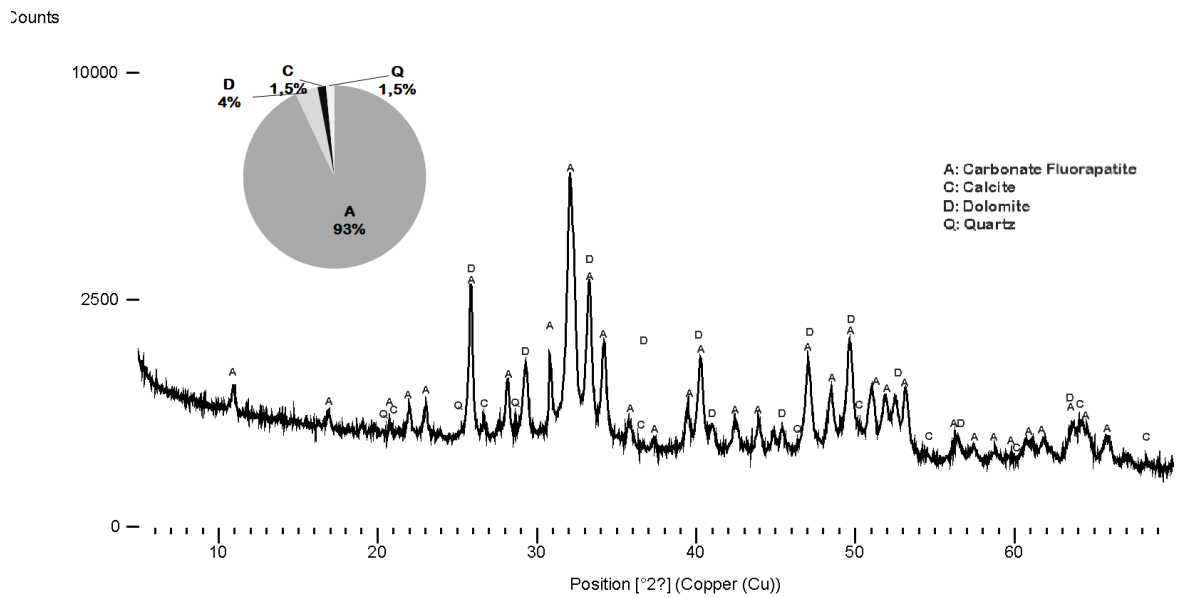


Figure 72: La composition minéralogique du produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant l'acide oléique et HK2 3K (DRX)

Tableau 19: La composition chimique du produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant l'acide oléique et HK2 3K (FRX)

	Masse%	Concentration (%)		Récupération (%)	
		P ₂ O ₅	MgO	P ₂ O ₅	MgO
Produit de mousse	86,5	34,12	0,86	94	36
Produit de cellule	13,5	14,4	9,8	6	64
Alimentation	100	31,47	2,08	100	100

2) La bioflottation du minerai de phosphate de Kef Essnoun en utilisant *BYC* et *B. subtilis*:

Test de bioflottation:

Les résultats obtenus pour ces essais, sont considérés préliminaires, car les deux bioréactifs ont montré des bons résultats lors de l'étude de la flottabilité de l'apatite pure et la dolomite pure. Certainement, lors de la flottation du minerai de Kef Essnoun (phosphate naturel), le mélange des deux bioréactifs, a donné des résultats remarquable, mais pas assez bons, compte tenu de leur efficacité individuellement. Mais rien n'empêche de montrer les résultats obtenus qui peuvent être critiqué et améliorer dans les prochaines études.

En fixant la concentration de *BYC* à 160 mg/L, on peut bien remarquer, qu'à partir d'une concentration de *B. subtilis* de 90 µg/L, la récupération se stabilise à 89 % (figure 73). Alors on a pris cette valeur comme la concentration optimale pour une meilleure récupération d'apatite.

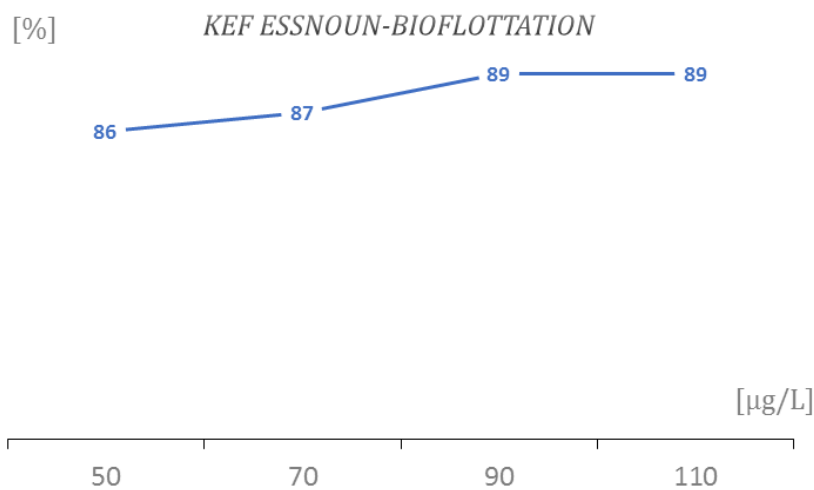


Figure 73: La récupération de l'apatite en fonction de la concentration de *B. subtilis* – avec un pH 7 et concentration de *BYC* égal à 160 mg/L

Un maximum de récupération de 91% a été obtenu en fixant la concentration de *B. subtilis* à 90 µg/L et en variant de *BYC*, jusqu'à une valeur optimale de 180 mg/L ou la récupération se stabilise (figure 74).

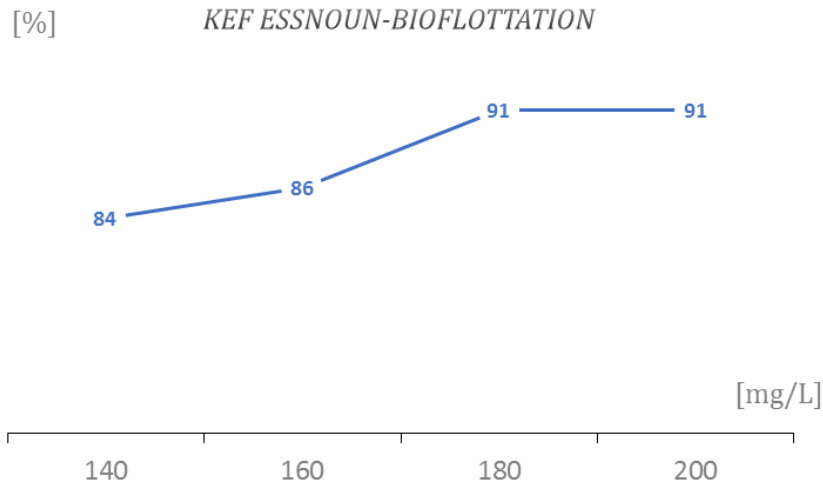


Figure 74: La Récupération de l'apatite en fonction de la concentration de BYC –avec un pH 7 et concentration de *B. subtilis* égal à 90 µg/L

Explication du fonctionnement:

Ce modèle a été inspiré par les recherches de (40). *Bacillus subtilis* a été utilisé comme déprimant, qui a de bonnes propriétés d'adhésion à la dolomite. Cette souche est connue pour sa capacité de produire des polysaccharides lors de la formation du biofilm. Certains auteurs affirment que les polysaccharides jouent un rôle important dans la formation de la couche de conditionnement, créant des conditions favorables à l'adhésion. Ils sont donc appelés «polysaccharides adhésifs». Leur synthèse a lieu avec la participation d'un appareil enzymatique spécifique caractéristique d'un type donné de microorganisme et d'un polysaccharide. La composition des composants individuels de la matrice EPS dépend des conditions dans lesquelles *B. subtilis* se développe. Dans des conditions préférées, la quantité de polysaccharides peut aller jusqu'à 80%. Cela augmente les chances que les bactéries adhèrent à la surface, et après l'adhésion, cela change les propriétés du minéral - le rendant plus hydrophile.

La composition principale des cellules de levure est constituée de lipides, de protéines et de deux types de polysaccharides (mannane et glucane). Lors de la saponification, les lipides réagissent avec l'hydroxyde de sodium pour former des lipides solubles. Ceci est appelé saponification alcaline. La saponification de la graisse en présence de NaOH produit des savons de sodium. La levure saponifiée peut donc agir comme un agent moussant similaire à l'acide oléique. D'autres recherches devraient viser à estimer le

coût et l'efficacité de l'utilisation de levure saponifiée dans le processus de flottation du minéral de phosphate (figure 75).

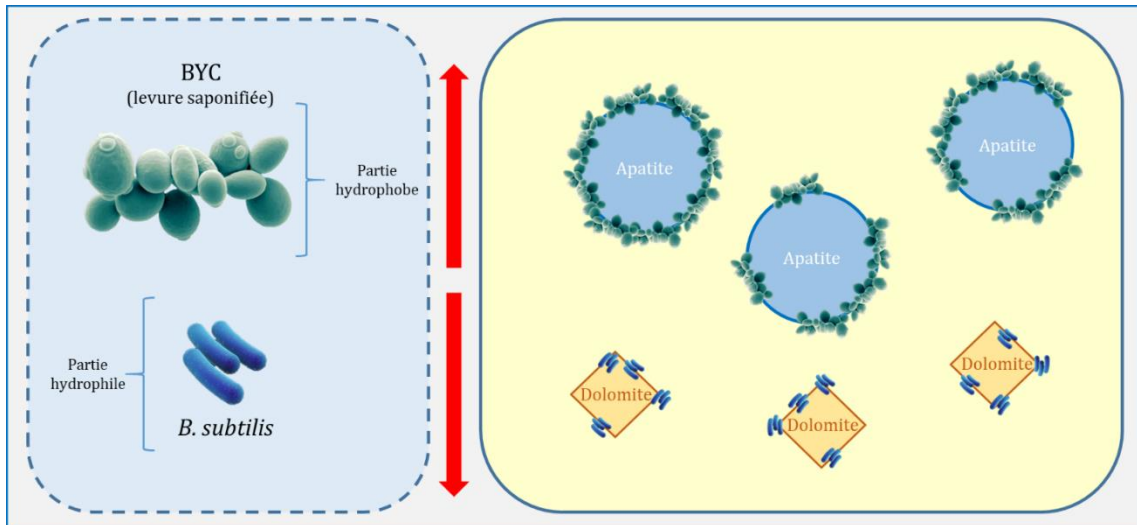


Figure 75: Explication du fonctionnement de la bioflottation de l'apatite et de la dolomite en utilisant BYC et *B. subtilis*

Produit final:

Le produit final a été obtenu utilisant 180 mg/L de BYC et 90 µg/L de *B. subtilis*. Il a été récupéré et subi a des différents analyses : DRX, RXF, MEB et EDS: sachant que la récupération pondérale du minéral est 86%.

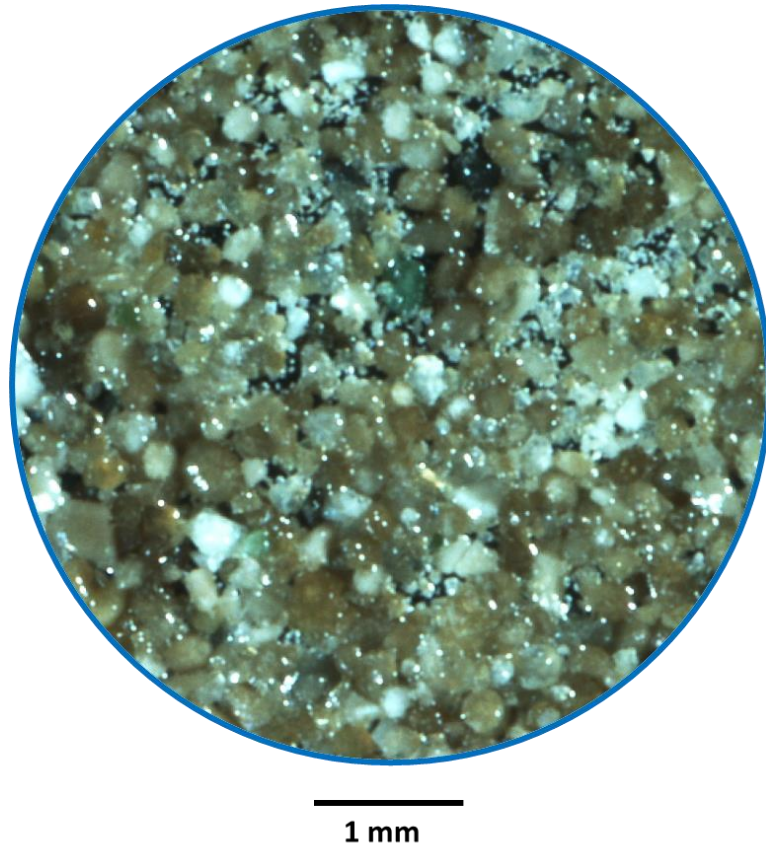


Figure 76: Le produit final de la bioflotation du minerais de Kef Essnoun en utilisant BYC et *B. subtilis* (binoculaire Nikon SMZ 1500)

Table 23: Le produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant BYC et *B. subtilis* (MEB)

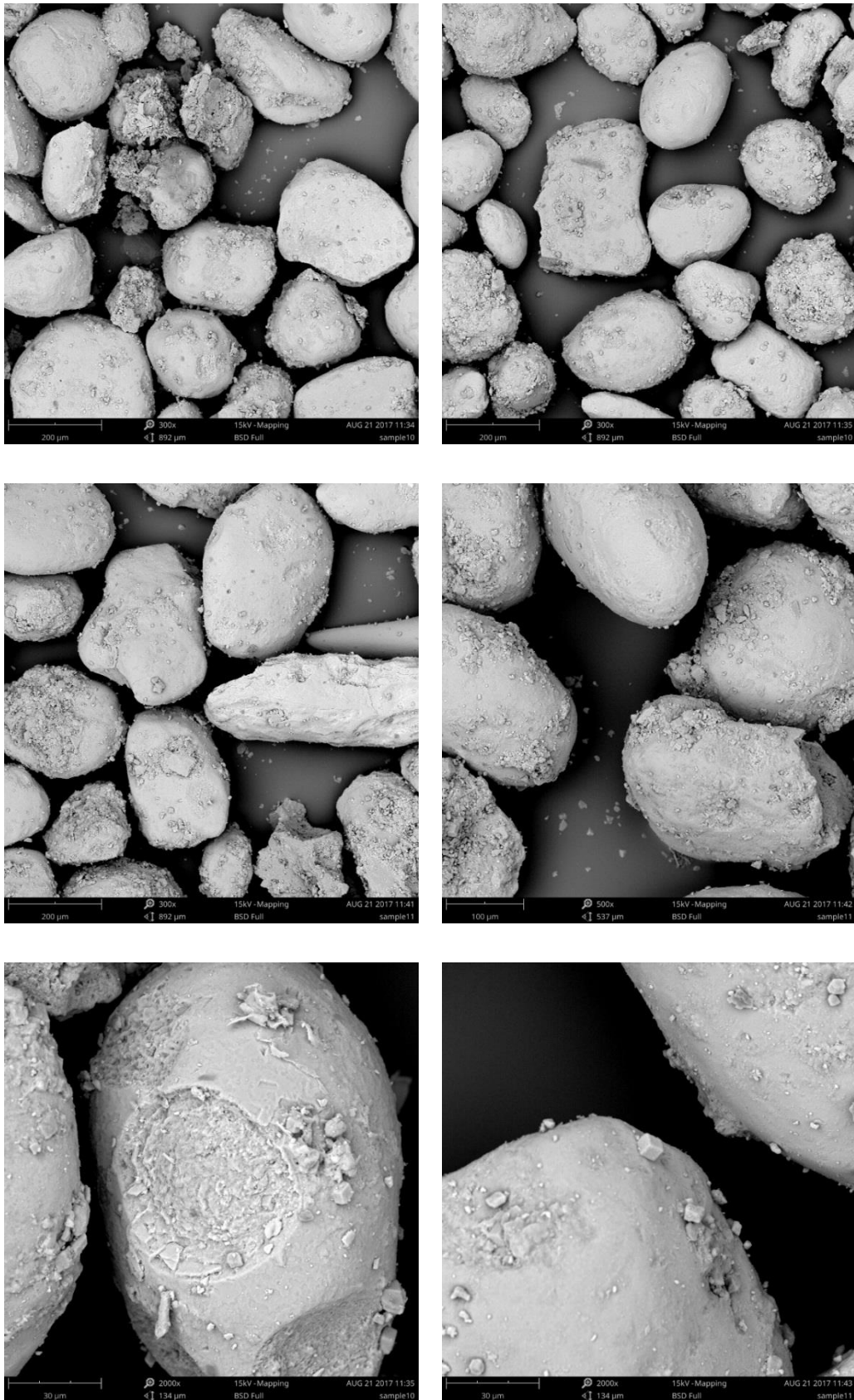
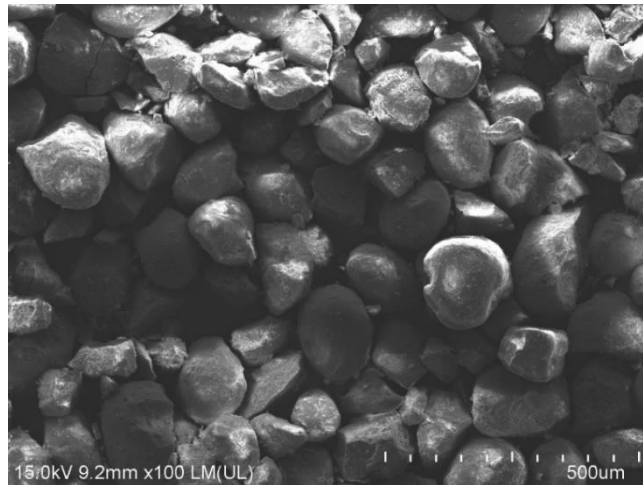


Table 24: Caractérisation générale du produit final de bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant BYC et *B. subtilis* (MEB/EDX)

	Elément chimique	Masse %	Atome %	Formule	Composition %
	C K	2,8	5,0	C	2,8
	O K	45,6	60,7	O	45,6
	F K	6,3	7,0	F	6,3
	MG K	0,9	0,8	Mg	0,9
	AL K	1,6	1,2	Al	1,6
	SI K	5,8	4,4	Si	5,8
	P K	7,4	5,1	P	7,4
	CA K	29,7	15,8	Ca	29,7
	TOTAL	100,0	100,0		100,0

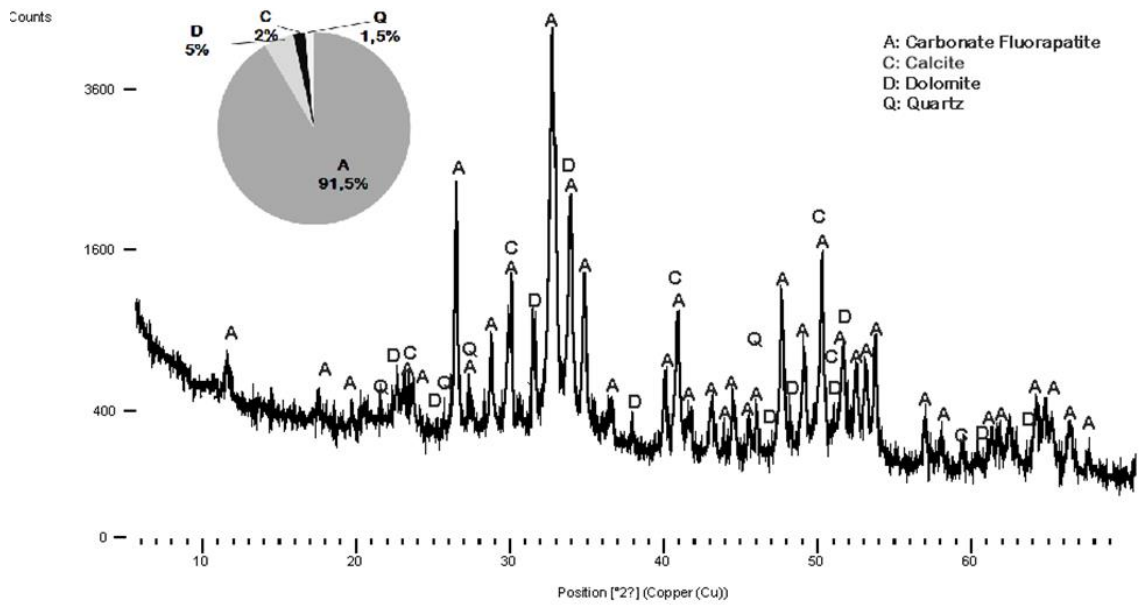


Figure 77: La composition minéralogique du produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant BYC et *B. Subtilis* (DRX)

Tableau 20: La composition chimique du produit final de la bioflottation du minerai de Kef Essnoun en utilisant BYC et *B. subtilis* (FRX)

	Masse (%)	Concentration (%)		Récupération (%)	
		P ₂ O ₅	MgO	P ₂ O ₅	MgO
Produit de mousse	86	33,61	0,91	92	38
Produit de cellule	14	16,8	9,2	8	62
Alimentation	100	31,47	2,08	100	100

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Dans le cadre de ma thèse de doctorat D-LMD, portant sur la réduction de l'oxyde de magnésium, un travail d'investigation a été entrepris dans deux laboratoires différents ; Le laboratoire de Minéralurgie du Génie Minier de l'ENP et du laboratoire de la faculté de microbiologie de l'université de Silésie.

Le but principal de cette étude, est de pouvoir réduire le taux de MgO contenu dans les phosphates naturels de Djebel onk, en l'occurrence, ceux provenant du site de Kef Essenoun. Le travail expérimental effectué porte sur l'ensemble des points suivants :

- La préparation mécanique du minerai, objet de cette présente étude
- La caractérisation des échantillons
- L'isolement et la préparation des microorganismes
- Les tests d'adhésion
- Les différents procédés utilisés, à savoir : La flottation conventionnelle et la bioflottation

Ar regard de tout le travail accompli, nous pouvons conclure que :

1. La roche phosphatée de Djebel Onk est de type sédimentaire qui représente 75% du phosphate mondial, et qui se caractérise par la francolite comme minerai utile et les impuretés qui se résument en : argiles, calcite, dolomite, et quartz. Les roches sédimentaires se caractérisent par une similarité de groupes d'impuretés contenues dans le même type même si dans des différents gisements dans le monde.

2. Dans le cas du phosphate sédimentaire de Kef Essnoun, le magnésium se trouve comme impureté principale dans la dolomite et élément trace dans la francolite. Les différentes caractérisations nous ont servi comme base principale pour les besoins de la valorisation de ces phosphates.

3. La réduction de MgO dans le phosphate de Djebel Onk a été possible suite à l'élimination de la dolomite.

4. La séparation physique de la francolite et de la dolomite est très difficile, en raison de l'appartenance des deux minéraux à la famille des carbonates, qui ont les mêmes caractéristiques de surface. Cette appartenance rend la sélectivité des méthodes de séparations physiques très faible. Ce qui nous amène à chercher des nouvelles solutions, outre les méthodes de séparation physique.

5. Suite aux travaux effectués par d'autres chercheurs, et dans le cadre de la protection de l'environnement, nous avons jugé nécessaire de réorienter nos travaux dans un domaine innovant, à savoir le traitement biologique.

6. Avant la réalisation des essais de bioflottation du minerai de Kef Essenoun, les tests d'adhésion qui nous permettent de vérifier l'interaction des différents microorganismes avec la surface du minerai ont été effectués.

7. Suite aux tests de biosorption, nous avons pu quantifier de différents métaux (Ca, Cd et Mg) accumulés par les microorganismes incubés avec le minerai. Après avoir confirmé l'interaction des différents microorganismes avec le minerai de phosphate, des tests ont été effectués pour déterminer les conditions favorables pour une meilleure adhésion et biosorption maximale des métaux choisis. Deux types de microorganismes ont été utilisés: type Commercial et ceux isolés à partir du minerai de phosphate de Kef Essenoun.

8. L'isolement des microorganismes du minerai de phosphate de Kef essenoun a abouti à la découverte d'environ 160 souches, dont huit (08) ont fait l'objet d'une évaluation et de tests supplémentaires. La capacité d'adhésion (en tant que principal facteur influençant le changement de tension superficielle) et la capacité de biosorption des métaux, principalement le Mg et le Cd, ont été estimés.

9. Sur 8 souches natives, en particulier celle avec l'identifiant: HK2 3K, ont montré des propriétés très prometteuses en termes de biosorption et d'adhésion. Cette souche a été utilisée dans d'autres tests de bioflottation.

10. La souche bien connue *Bacillus subtilis* et la levure de boulanger saponifiée (BYC) ont également été utilisées dans les tests de bioflottation.

11. Des enzymes telles l'uréase et la cellulase ont été aussi utilisées lors de la bioflottation du minerai de phosphate. L'utilisation d'enzymes dans le processus de

bioflottation est certainement une direction prometteuse et de telles recherches devraient être et menées l'avenir.

12. La flottation a été réalisée dans un pH en utilisant 1100 g/t et 200 g/t d'acide citrique, suivie par une calcination pendant 10 min à la température de 800 °C. La récupération du minerai est de 87 % avec une concentration de P₂O₅ et MgO de 34,81% et 0,75 % respectivement.

13. Deux bioflottations ont été réalisées:

- Utilisation de l'acide oléique et la bactérie HK2 3K avec des concentrations de 1250 g/t et 100 µg/L respectivement, avec un pH du milieu égal à 9. La récupération du minerai était 86,5 % avec une concentration de P₂O₅ et MgO de 34,12% et 0,86 respectivement.
- Utilisation de BYC et *B. subtilis* avec des concentrations de 1250 g/t et 100 µg/L respectivement, avec un pH du milieu égal à 7. La récupération du minerai était 86,5 % avec une concentration de P₂O₅ et MgO de 33,61% et 0,91% respectivement.

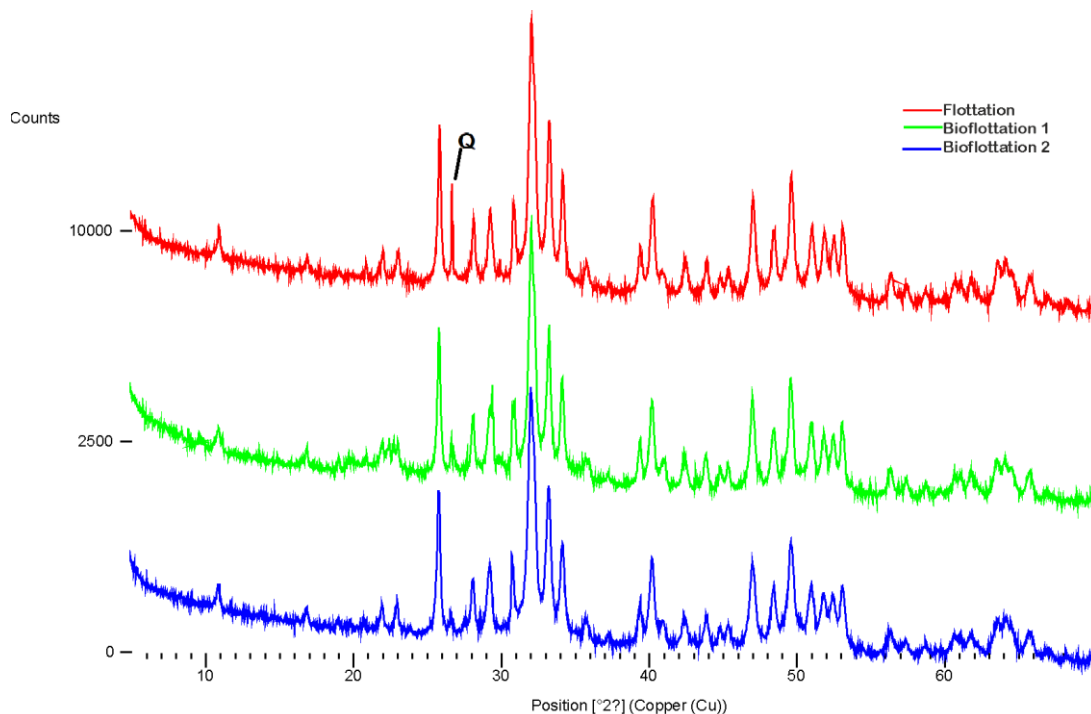


Figure 78: Caractérisation minéralogique des trois produits de la valorisation du minerai de Kef Essnoun.

14. L'utilisation de la flottation a montré une meilleure réduction avec une petite différence avec les traitement par la bioflottation. Cependant, dans le cas de la flottation, nous avons utilisés les conditions presque parfaite pour le traitement, surtout avec l'utilisation de l'acide de l'acide citrique qui est très cher, ce qui la désavantage par rapport à la bioflottation. Un autre inconvénient de la flottation est l'utilisation excessive des réactifs chimiques qui est nuisant pour l'environnement à moyen et long termes. Contrairement à la bioflottation qui n'a pas d'impact sur l'environnement et qui a donné des résultats satisfaisants, qui doivent être certainement améliorée à l'avenir.

15. L'explication du mécanisme d'action des bactéries HK2 3K, *Bacillus subtilis*, levure de boulanger saponifiée et uréase est à confirmer par des recherches ultérieures. On a supposé qu'un matériau biologique avec une adhérence sélective sur la surface des minéraux peut modifier la tension superficielle des particules et donc leur flottabilité.

16. L'utilisation de bactéries ou de levures saponifiées ou d'enzymes peut être utilisée pour la flottation et également pour le traitement post-flottation. Étant donné qu'un certain nombre de souches bactériennes ont d'excellentes propriétés de biosorption, il est possible de laver le produit de la flottation avec des bactéries. De cette manière, il est possible de nettoyer davantage le minerai, et après que la biomasse a été isolée et minéralisée, il est possible de récupérer les éléments précieux sous forme pure.

17. L'utilisation de bactéries, de levures saponifiées et d'enzymes est une approche écologique du traitement et de la purification du minerai de phosphate de Djebel Onk. Cependant, avant la mise en œuvre de la méthode, son rapport coût-efficacité, la technique d'obtention de grandes quantités de matériel biologique et la sécurité du matériel biologique doivent être évalués. Par conséquent, les recherches entreprises dans cette thèse doivent être poursuivies.

18. Ce travail n'est qu'un début d'un long chemin pour le traitement des phosphates avec gangue carbonatée. Plusieurs approches ont été présentées et testées au niveau de laboratoire par notre équipe, avec l'utilisation des différents microorganismes (bactéries et champignons) et des enzymes. Cela va permettre de trouver plus de

solutions pour le traitement de ce type des phosphates ainsi autres minerais en appliquant directement les bioréactifs dans le biotraitement.

19. L'introduction de la bioflottation dans l'industrie semble très possible selon les essais effectués au laboratoire, mais il faudra travailler plus sur la méthodologie et mettre en place un protocole possible à appliquer dans des différentes conditions d'environnement de traitement, température et surtout l'aspect économique. Pour les conditions climatiques qui peuvent impacter le fonctionnement des bioréactifs utilisé dans le biotraitement, nous avons aussi testés des microorganismes isolés de la même région du minerai avec des résultats satisfaisants, ce qui nous donne plus chance d'installer une usine de traitement indépendamment des conditions climatiques.

20. Les travaux réalisés dans ce travail peuvent ouvrir d'autres axes de recherche pour le même minerai ou d'autres minerais en Algérie. On cite:

- Application directe de la bioflottation, avec changement de ses paramètres : pH, durée, température et concentration de bioréactifs, dans le traitement du minerai de Dejbél Onk
- L'utilisation de bioflottation dans l'industrie.
- Elargir l'utilisation des microorganismes dans le traitement des minerais Algériens.
- Optimisation et amélioration de l'utilisation des microorganismes pour faciliter leur manipulation et réduire les différents coûts liées à leur utilisation.

BIBLIOGRAPHIE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. HECKENMÜLLER, Markus, NARITA, Daiju et KLEPPER, Gernot. Global Availability of Phosphorus and Its Implications for Global Food Supply: An Economic Overview. Kiel Working Paper [en ligne]. 2014. N° 1897, pp. 1 26. Disponible à l'adresse : <https://www.econstor.eu/bitstream/10419/90630/1/776834355.pdf>.
2. ELMAHDY, A.M., EL-MOFTY, S.E., ABDEL-KHALEK, M.A., ABDEL-KHALEK, N.A. et EL-MIDANY, A.A. Bacterially induced phosphate–dolomite separation using amphoteric collector. Separation and Purification Technology [en ligne]. Janvier 2013.Vol. 102,pp. 94 102. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383586612005187>.
3. BEHERA, Sunil Kumar et MULABA-BAFUBIANDI, Antoine Floribert. Microbes Assisted Mineral Flotation a Future Prospective for Mineral Processing Industries: A Review. Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review [en ligne]. 2017. Vol. 38, n° 2, pp. 96 105.Disponible à l'adresse : <http://dx.doi.org/10.1080/08827508.2016.1262861>.
4. SMITH, Ross W. et MIETTINEN, Mauno. Microorganisms in flotation and flocculation: Future technology or laboratory curiosity? Minerals Engineering. 2006. Vol. 19, n° 6 8, pp. 548 553.Disponible à l'adresse : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0892687505003055>.
5. VAN STRAATEN. Rocks for crops: Agrominerals of sub-Saharan Africa [en ligne]. 2002. ISBN 0889555125.Disponible à l'adresse: http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=BQpwVz68KdKc&oi=fnd&pg=PT8&dq=Rocks+for+crops&ots=ejnT-92qh0&sig=26xwAbelbWqDMd_kBAkvzC_psZ8Rocks for Crops.
6. ABOUZEID, Abdel Zaher M. Physical and thermal treatment of phosphate ores - An overview. International Journal of Mineral Processing. 2008. Vol. 85, n° 4, pp. 59 84. Disponible à l'adresse : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301751607002037>.
7. FAYIGA, Abioye O. et NWOKE, O. C. Phosphate rock: Origin, importance, environmental impacts, and future roles. Environmental Reviews. 2016. Vol. 24, n° 4,

pp. 403-415. Disponible à l'adresse: <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/er-2016-0003?journalCode=er>.

8. ABDEL-KHALEK, Nagui A, SELIM, Khaled A et ABDALLAH, Mahmoud M. Flotation of Egyptian Newly Discovered Fine Phosphate Ore of Nile Valley. In : Proceedings of the International Conference on Mining, Material and Metallurgical Engineering [en ligne]. 2014. pp. 1-8. Disponible à l'adresse : https://avestia.com/MMME2014_Proceedings/papers/150.pdf.

9. MCKELVEY, V.E. Phosphate deposits [en ligne]. 1967. Disponible à l'adresse : <https://pubs.usgs.gov/bul/1252d/report.pdf>

10. KOMAR KAWATRA, S. et CARLSON, J.T. Beneficiation of phosphate ore [en ligne]. 2014. ISBN 978-0-87335-391-5. Disponible à l'adresse : [https://books.google.pl/books?id=f_BIAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=Beneficiation+of+phosphate+ore&hl=fr&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=Beneficiation of phosphate ore&f=false](https://books.google.pl/books?id=f_BIAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=Beneficiation+of+phosphate+ore&hl=fr&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=Beneficiation+of+phosphate+ore&f=false).

11. MCCONNELL, D. A Structural Investigation of the Isomorphism of the Apatite Group. The American Mineralogist [en ligne]. 1938. pp. 29. Disponible à l'adresse : <https://pubs.geoscienceworld.org/msa/ammin/article-abstract/23/1/1/536947/A-Structural-Investigation-of-the-Isomorphism-of?redirectedFrom=fulltext>.

12. MCCLELLAN, Guerry H. Mineralogy of carbonate fluorapatites. Journal of the Geological Society [en ligne]. novembre 1980. Vol. 137, n° 6, pp. 675-681. DOI 10.1144/gsjgs.137.6.0675. Disponible à l'adresse : <http://jgs.lyellcollection.org/lookup/doi/10.1144/gsjgs.137.6.0675>.

13. AL-THYABAT, JS. Evaluation of Mechanical Flotation of Non-slimes Jordanian Siliceous Phosphate. Arabian Journal for Science and Engineering [en ligne]. 37, 877-887. 2012. Disponible à l'adresse : <https://link.springer.com/article/10.1007/s13369-012-0235-0>.

14. BEZZI, Nacer. Gestion de la qualité et valorisation des minerais de phosphate de bled el hadba, Djebel Onk - Tebessa. Thèse de doctorat : Génie des Procédés. Université Ferhat Abbas-Sétif, 2005.

15. JASINSKI, S.M. U.S. Geological Survey, Mineral Commodity Summaries: Phosphate Rock. U.S. Geological Survey [en ligne]. 2019. N° 703, pp. 122 123. Disponible à l'adresse : https://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/phosphate_rock/mcs-2019-phosp.pdf.
16. RADULOVI, Dragan S et MIHAJLOVI, Slavica R. Definition the technology method of apatite flotation concentration from the phosphate. [en ligne]. 2014. Vol. 765, n° 2, pp. 131 146. Disponible à l'adresse: <https://www.semanticscholar.org/paper/DEFINITION-THE-TECHNOLOGY-METHOD-OF-APATITE-FROM-Radulovic-Mihajlovic/ce830d9b7f458ee852daffce5c9f8de03a94e2a4>.
17. CHABOU-MOSTEFAI, S. Etude de la série phosphatée tertiaire du Djebel Onk (Algérie): stratigraphie, pétrographie, minéralogie et analyse statistique [en ligne]. 1986. Disponible à l'adresse : <https://books.google.pl/books?id=SgOLtgAACAAJ>.
18. BEHLOULI, Mohammed. Calcination du Phosphate de Djebel-Onk pour la Production des Superphosphates. Mémoire de fin d'études : Génie Minier. ENP d'Alger.2014.
19. CHABOU-MOSTEFAI, S. Etude de la série phosphatée tertiaire du Djebel Onk (Algérie): stratigraphie, pétrographie, minéralogie et analyse statistique [en ligne]. 1986. Disponible à l'adresse : <https://books.google.pl/books?id=SgOLtgAACAAJ>.
20. DIRIG, Saadoune Abderrahmane. Caractérisation et enrichissement du minerai phosphaté de Djebel Onk (W. TEBESSA). Mémoire de fin d'études : Génie Minier. ENP d'Alger.2010.
21. MEZAM, Mohammed Cherif et BACHAR ASSED, Mohamed Aguid. Étude Rétro-analytique du glissement du bord Nord de la mine à ciel ouvert de Kef Essenoun (Djebel Onk), Algérie. Bulletin of Engineering Geology and the Environment [en ligne]. 17 novembre 2017. Vol. 76, n° 4, pp. 1307 1320. Disponible à l'adresse : <https://doi.org/10.1007/s10064-016-0988-x>.
22. AISSAOUI, Djelloul. Les structures liées à l'accident sud-atlasique entre Biskra et le Djebel Mandra, Algérie. Évolution géométrique et cinématique. Thèse de 3 ème

cycle, Univ. Louis Pasteur, Strasbourg. 1984.

23. MAXICOURS.COM. Biologie des microorganismes et conservation des aliments. [en ligne]. Disponible à l'adresse : <https://www.maxicours.com/se/cours/biologie-des-microorganismes-et-conservation-des-aliments/>.

24. Qu'est-ce qu'une bactérie ?. [en ligne]. Disponible à l'adresse : <https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/classification>.

25. La cellule bactérienne. [en ligne]. Disponible à l'adresse : http://www.ecosociosystemes.fr/cellule_bacterienne.html.

26. NATURE EDUCATION. What Is a Cell? [en ligne]. Disponible à l'adresse : <https://www.nature.com/scitable/topicpage/what-is-a-cell-14023083/>.

27. BRUSLIND, Linda. GENERAL MICROBIOLOGY [en ligne]. Oregon State University. Disponible à l'adresse : <https://open.oregonstate.edu/generalmicrobiology/>.

28. BARRY A. WILLS, Tim Napier-Munn. Wills' Mineral Processing Technology [en ligne]. Elsevier, 2016. ISBN 9780080970530. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/C20100654782>.

29. CARLSON, J T, EISELE, T C et KAWATRA, S Komar. Investigation of jigging as a method for removing dolomite from high-MgO phosphate ores. Mining, Metallurgy & Exploration [en ligne]. 2012. Vol. 29, n° 1, pp. 56-61. Disponible à l'adresse : <https://link.springer.com/article/10.1007/BF03402333>.

30. AL-FARISS, Tariq F, EL-ALEEM, Farag A Abd et EL-NAGDY, Khaled A. Beneficiation of Saudi phosphate ores by column flotation technology. Journal of King Saud University - Engineering Sciences [en ligne]. 2013. Vol. 25, n° 2, pp. 113-117. DOI 10.1016/j.jksues.2012.05.002. Disponible à l'adresse : <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksues.2012.05.002>.

31. WONYEN, Darius, KROMAH, Varney, GIBSON, Borbor, NAH, Solomon et CHELGANI, Saeed. A Review of Flotation Separation of Mg Carbonates (Dolomite and Magnesite). Minerals [en ligne]. 15 août 2018. Vol. 8, n° 8, pp. 354. Disponible à

l'adresse:<http://www.mdpi.com/2075-163X/8/8/354>.

32. SOTO, H. et IWASAKI, I. Selective flotation of phosphates from dolomite using cationic collectors. I. Effect of collector and nonpolar hydrocarbons. *International Journal of Mineral Processing* [en ligne]. janvier 1986. Vol. 16, n° 1-2, pp. 3-16. Disponible à l'adresse: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0301751686900712>.

33. OULD-HAMOU, Malek. Beneficiation of Algerian phosphate tailings by electrostatic methods .Thèse de 3 ème cycle, Univ. de Leeds.1990.

34. GHARABAGHI, Mahdi, IRANNAJAD, Mehdi et NOAPARAST, Mohammad. A review of the beneficiation of calcareous phosphate ores using organic acid leaching. *Hydrometallurgy* [en ligne]. juin 2010. Vol. 103, n° 1-4, pp. 96-107. DOI 10.1016/j.hydromet.2010.03.002. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304386X10000599>

35. ZAFAR, Zafar Iqbal, ANWAR, M.M. et PRITCHARD, D.W. Selective leaching of calcareous phosphate rock in formic acid: Optimisation of operating conditions. *Minerals Engineering* [en ligne]. novembre 2006. Vol. 19, n° 14, pp. 1459-1461. DOI 10.1016/j.mineng.2006.03.006. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0892687506000963>.

36. PTÁČEK, Petr. Mining and Beneficiation of Phosphate Ore. In : *Apatites and their Synthetic Analogues - Synthesis, Structure, Properties and Applications* [en ligne]. InTech, 2016. Disponible à l'adresse : <http://dx.doi.org/10.5772/62215>.

37. RAWLINGS, DOUGLAS E, JOHNSON, D. Barrie. *Bio mining* [en ligne]. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 2007. ISBN 978-3-642-07115-7. Disponible à l'adresse : <https://www.springer.com/gp/book/9783540349099>.

38. ELMAHDY, A. M., EL-MOFTY, S. E., ABDEL-KHALEK, M. A., ABDEL-KHALEK, N. A. et EL-MIDANY, A. A. Bacterially induced phosphate-dolomite separation using amphoteric collector. *Separation and Purification Technology*. 2013. Vol. 102, pp. 94-102. DOI 10.1016/j.seppur.2012.09.033.

39. ALICJA, Bakalarz, GERDA, Gloy et ANDRZEJ, Luszczkiewicz. Flotation of Sulfide Components of Copper Ore in the Presence of n-Dodecane. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review* [en ligne]. 4 mars 2015. Vol. 36, n° 2, pp. 103-111.

DOI 10.1080/08827508.2014.898301. Disponible à l'adresse :
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08827508.2014.898301>

40. SILVA, André Carlos, CARA, Diego Valentim Crescente, SILVA, Elenice Maria Schons, LEAL, Geraldo Sadoyama, MACHADO, Alex Malüe et DA SILVA, Lucas Martins. Apatite flotation using saponified baker's yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*) as a bioreagent. *Journal of Materials Research and Technology* [en ligne]. 2019. Vol. 8, n° 1, pp. 752-758. Disponible à l'adresse :
<https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2018.05.018>.

41. FARAHAT, Mohsen, HIRAJIMA, Tsuyoshi, SASAKI, Keiko et DOI, Katsumi. Adhesion of *Escherichia coli* onto quartz, hematite and corundum: Extended DLVO theory and flotation behavior. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [en ligne]. novembre 2009. Vol. 74, n° 1, pp. 140-149. DOI 10.1016/j.colsurfb.2009.07.009. Disponible à l'adresse :
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776509003063>.

42. KIM, Gahee, CHOI, Junhyun, SILVA, Rene A., SONG, Youngsoo et KIM, Hyunjung. Feasibility of bench-scale selective bioflotation of copper oxide minerals using *Rhodococcus opacus*. *Hydrometallurgy* [en ligne]. mars 2017. Vol. 168, pp. 94-102. DOI 10.1016/j.hydromet.2016.06.029. Disponible à l'adresse :
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304386X16303991>.

43. RAMOS-ESCOBEDO, G.T., PECINA-TREVIÑO, E.T., BUENO TOKUNAGA, A., CONCHA-GUERRERO, S.I., RAMOS-LICO, D., GUERRA-BALDERRAMA, R. et ORRANTIA-BORUNDA, E. Bio-collector alternative for the recovery of organic matter in flotation processes. *Fuel* [en ligne]. juillet 2016. Vol. 176, pp. 165-172. DOI 10.1016/j.fuel.2016.02.018. Disponible à l'adresse :
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016236116001393>.

44. AMINI, E., OLIAZADEH, M. et KOLAHDOOZAN, M. Kinetic comparison of biological and conventional flotation of coal. *Minerals Engineering* [en ligne]. mars 2009. Vol. 22, n° 4, pp. 344-347. DOI 10.1016/j.mineng.2008.09.008. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0892687508002380>.

45. FARAHAT, Mohsen, HIRAJIMA, Tsuyoshi, SASAKI, Keiko, AIBA, Yuuki et DOI, Katsumi. Adsorption of *SIP E. coli* onto quartz and its applications in froth

flotation. *Minerals Engineering* [en ligne]. avril 2008. Vol. 21, n° 5, pp. 389-395. DOI 10.1016/j.mineng.2007.10.019. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0892687507003172>.

46. VILINSKA, A. et RAO, K. Hanumantha. Leptosirillum ferroxidans-sulfide mineral interactions with reference to bioflotation nad bioflocculation. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* [en ligne]. décembre 2008. Vol. 18, n° 6, pp. 1403-1409. DOI 10.1016/S1003-6326(09)60016-9. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1003632609600169>.

47. DWYER, R, BRUCKARD, W J, REA, S et HOLMES, R J. Bioflotation and bioflocculation review : microorganisms relevant for mineral beneficiation. . 2012. Vol. 121, n° 2, pp. 65-71. DOI 10.1179/1743285512Y.0000000005.

48. BEHERA, S.K., PANDA, S.K., PRADHAN, N., SUKLA, L.B. et MISHRA, B.K. Extraction of nickel by microbial reduction of lateritic chromite overburden of Sukinda, India. *Bioresource Technology* [en ligne]. décembre 2012. Vol. 125, pp. 17-22. DOI 10.1016/j.biortech.2012.08.076. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852412012667>.

49. BEHERA, Sunil Kumar et MULABA-BAFUBIANDI, Antoine Floribert. Advances in microbial leaching processes for nickel extraction from lateritic minerals - A review. *Korean Journal of Chemical Engineering* [en ligne]. 11 août 2015. Vol. 32, n° 8, pp. 1447-1454. DOI 10.1007/s11814-015-0085-z. Disponible à l'adresse : <http://link.springer.com/10.1007/s11814-015-0085-z>.

50. PENG, Zhi-jun, YU, Run-lan, QIU, Guan-zhou, QIN, Wen-qing, GU, Guo-hua, WANG, Qing-liang, LI, Qian et LIU, Xue-duan. Really active form of fluorine toxicity affecting *Acidithiobacillus ferroxidans* activity in bioleaching uranium. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* [en ligne]. mars 2013. Vol. 23, n° 3, pp. 812-817. DOI 10.1016/S1003-6326(13)62533-9. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1003632613625339>.

51. RASTEGAR, S.O., MOUSAVI, S.M., SHOJAOSADATI, S.A. et SARRAF MAMOORY, R. Bioleaching of V, Ni, and Cu from residual produced in oil fired furnaces using *Acidithiobacillus ferroxidans*. *Hydrometallurgy* [en ligne]. octobre 2015. Vol. 157, pp. 50-59. DOI 10.1016/j.hydromet.2015.07.006. Disponible à

l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304386X15300426>

52. WATLING, H.R. The bioleaching of nickel-copper sulfides. *Hydrometallurgy* [en ligne]. mars 2008. Vol. 91, n° 1-4, pp. 70-88. DOI 10.1016/j.hydromet.2007.11.012.

Disponible à l'adresse :
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304386X07002551>.

53. SOTO, H. et IWASAKI, I. Selective flotation of phosphates from dolomite using cationic collectors. Part II. Effect of particle size, abrasion and pH. *International Journal of Mineral Processing* [en ligne]. janvier 1986. Vol. 16, n° 1-2, pp. 17-27. DOI 10.1016/0301-7516(86)90072-4.

Disponible à l'adresse :
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0301751686900724>.

54. KHALEK, M. A. Abdel. Separation of dolomite from phosphate minerals by flotation with a new amphoteric surfactant as collector. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy* [en ligne]. 18 août 2001. Vol. 110, n° 2, pp. 89-93. DOI 10.1179/mpm.2001.110.2.89.

Disponible à l'adresse :
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/mpm.2001.110.2.89>.

55. PACWA-PŁOCINICZAK, Magdalena, PŁOCINICZAK, Tomasz, IWAN, Joanna, ŻARSKA, Monika, CHORAŻEWSKI, Mirosław, DZIDA, Marzena et PIOTROWSKA-SEGET, Zofia. Isolation of hydrocarbon-degrading and biosurfactant-producing bacteria and assessment their plant growth-promoting traits. *Journal of Environmental Management* [en ligne]. mars 2016. Vol. 168, pp. 175-184. DOI 10.1016/j.jenvman.2015.11.058.

Disponible à l'adresse :
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301479715304126>.

56. FUSS, Damien. Mise au point et étude de stabilité physico-chimique et microbiologique d'une forme orale liquide de nicardipine à visée pédiatrique. [en ligne]. 2016. pp. 152. Disponible à l'adresse : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01496131>.

57. YEHIA, Ahmed, KHALEK, Mohamed A. et AMMAR, Mayar. Cellulase as a new phosphate depressant in dolomite-phosphate flotation. *Physicochemical Problems of Mineral Processing*. 2017. Vol. 53, n° 2, pp. 1092-1104. Disponible à l'adresse:

<https://doi.org/10.5277/ppmp170232>.

58. CARTER, Eric L., FLUGGA, Nicholas, BOER, Jodi L., MULROONEY, Scott B. et HAUSINGER, Robert P. Interplay of metal ions and urease. *Metallomics* [en ligne]. 2009. Vol. 1, n° 3, pp. 207. DOI 10.1039/b903311d. Disponible à l'adresse : <http://xlink.rsc.org/?DOI=b903311d>

59. JONG, Kwangsok, HAN, Yongchol et RYOM, Sokchol. Flotation mechanism of oleic acid amide on apatite. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [en ligne]. juin 2017. Vol. 523, pp. 127-131. DOI 10.1016/j.colsurfa.2016.11.038. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775716309797>.

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

1. ARTICLES

Article Publié :

www.nature.com/scientificreports**SCIENTIFIC
REPORTS**
nature research


OPEN

Adhesion abilities and biosorption of Cd and Mg by microorganisms - first step for eco-friendly beneficiation of phosphate ore

Received: 2 April 2019

Accepted: 24 August 2019

Published online: 10 September 2019

Hakim Rabia¹, Malek Ould Hamou¹, Katarzyna Kasperkiewicz², Jolanta Brożek³ & Maria Augustyniak⁴ 

Chemical reagents used in traditional mineral processing can be toxic and hazardous for the environment. Therefore, the use of biotechnological methods is becoming increasingly important. Great hopes are being placed in the use of microorganisms for bio-beneficiation of raw materials. However, assessment of adhesion abilities of bacteria onto minerals surface as well as biosorption of metals are essential steps before designing final process of each ore beneficiation. The main aim of this work was an investigation of biosorption of Cd and Mg, as well as adhesion abilities of five microorganism species with minerals included in the natural mixture of phosphate ore from Djebel Onk, Algeria. The ore, due to its unique composition, created conditions for adhesion of all five tested microbial strains onto apatite surface during incubation at pH 3. Moreover, *Rhodococcus erythropolis* CD 130, *Pseudomonas fluorescens* and *Escherichia coli* adhered distinctly onto apatite surface during incubation at pH 7. Incubation lasting 20 min at pH 4-6 created the most favorable conditions for biosorption of metals by *B. subtilis* and adhesion of cells. In case of *C. albicans*, biosorption of metals as well as adhesion of cells onto the mineral surface were more effective after longer time and in a wider pH range.

In the last decade, cadmium (Cd) contamination of soil became an extremely burning problem for European Union countries. Apart from atmospheric deposition, sewage sludge, compost and manure, the most important source of Cd in soil are phosphate fertilizers used by farmers. Cd, as well as other trace elements, have the ability to accumulate in soil, and can be transferred through food chains, posing a threat to animal and human health^{1,2}. Three scenarios of consequences of changing EU policy concerning Cd content in soil, phosphate fertilizers and raw material were presented in the report of the Institute for Environmental Studies, Vrije Universiteit Amsterdam, Netherlands³. First of them is rather short-term, and assumes no changes in usage of Cd-rich phosphate ores, with all the financial consequences related to the introduction of a charge for exceeding permissible levels in fertilizers, and thus in the raw material. The second scenario is highly probable, especially in the long-term perspective. It assumes a gradual increase in use of natural low-cadmium raw materials, with all the consequences for countries which have natural deposits of phosphate ores³. Third scenario assumes decadmiation of the raw material, allowing phosphate rocks with high initial Cd concentration to be used. However, in the last scenario a new technology has to be developed. Safety of such technology for human health and the environment is crucial². Therefore, particular attention should be paid to biological methods, in which the production of toxic waste during decadmiation would be significantly reduced, while recovery of Cd and other trace elements would be possible. The third scenario can also be promising in the long-term perspective, because global deposits of phosphate rock are limited, like other nonrenewable resources. Sooner or later, industry will have to resort to resources that contain more pollution, including high level of Cd and other trace elements.

¹Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, 10 Avenue Hassen Badi BP 182 El Harrach, 16200, Alger, Algeria.

²Department of Microbiology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice, Jagiellońska 28, 40-034, Katowice, Poland. ³Department of Zoology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice, Bankowa 9, 40-007, Katowice, Poland. ⁴Department of Animal Physiology and Ecotoxicology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice, Bankowa 9, 40-007, Katowice, Poland. Correspondence and requests for materials should be addressed to M.A.

(email: maria.augustyniak@us.edu.pl)

Phosphate ore, which can be used as a source material for phosphoric acid, fertilizers, as well as animal feed production, has to fulfill specific requirements. The content of P_2O_5 must be higher than 30% of phosphate ore weight. CaO/P_2O_5 ratio should be less than 1.6%, and MgO content shouldn't be higher than 1% of phosphate ore weight⁴⁻⁷. Raw materials that do not meet these criteria should undergo beneficiation, during which most of impurities have to be removed^{4,7,8}. Depending on the origin of the ore, its' geological condition, and changes that have occurred after deposition, several minerals can be found in phosphate ore in various proportions⁸. Other minerals, like the dolomite, quartz, calcite, clays, or organic deposits can be found in various proportions, together with fluoroapatite, hydroxyapatite, carbonated hydroxyapatite or francolite. These additional minerals are an onerous source of pollution of ore, along with metals like Mg or Cd, that hinder the use of ore in various technological processes and in agriculture. Therefore, one should focus on improving methods to increase efficiency of dolomite removal from phosphate ore.

Chemical reagents used in traditional mineral processing, including froth flotation that require application of frothers, collectors, depressants and other chemicals⁴, can be toxic and hazardous for the environment. Due to the environmental risks posed by conventional methods of ore beneficiation, the use of biotechnological methods is becoming increasingly important. Great hopes are being placed in the use of microorganisms and their metabolic products for bioleaching of metals, but also for biomining and bioremediation⁹⁻¹².

The phenomenon of biosorption of metals by biological materials can be used for mining and metallurgical waste water purification. Potential organic sorbents, such as bacteria^{13,14}, fungi^{15,16}, and algae¹⁷, display extracellular accumulation, cell surface sorption or/and intracellular accumulation. The process can be metabolic-dependent or metabolic-independent. Physical adsorption utilizes van der Waals' forces. Polysaccharides, proteins, lipids and other components that are present on the surface of microorganism cells provide a rich variety of functional groups ready to exchange or bind metal ions. This metabolic-independent process is usually very fast and can be reversible⁹. Accumulation of metals in the cell usually requires more time, and involves transport of ions across the wall. Therefore, a metabolic-dependent process can occur only in living cells⁹.

Another, recently developing field of science is implementation of microorganisms and their metabolites for flotation^{11,12}. Microorganisms and/or substances produced by them, such as surfactants¹⁸, EPS - extracellular polymeric substances¹⁹, and various proteins²⁰ can modify surfaces of various substrates, also minerals. The key task is to match reagents (in classical flotation)⁴, or microorganisms (in bioflotation)^{11,12}, to bring about the selective hydrophobization of minerals in a given ore. In their review articles, Behera and Mulaba-Bafubandi¹¹ as well as Dwyer *et al.*¹² presented several studies, in which applications of microorganism in mineral flotation process have been applied. However, Behera and Mulaba-Bafubandi point to the need for further detailed research in order to determine the nature and characteristics of bio-reagents responsible for selectively changing the surface of a mineral in a given mixture of ore. Bio-hydrometallurgy is still in a laboratory phase¹¹. After studies of adhesion of microorganisms onto pure minerals in a model study, as it was done by Zheng *et al.*²¹ in case of dolomite and apatite, it is the time to test the abilities and properties of microorganisms in a natural mixture of minerals - phosphate ore in case of this study. A large scale production of microbial reagents will become the challenge for the future¹¹.

The main aim of this work was an investigation of the interaction of five microorganism species with minerals included in the natural mixture of phosphate ore from Djebel Onk, Kef Essnoun region, Algeria. In preliminary tests, Cd and Mg binding abilities, as well as adhesion onto dolomite or apatite, were tested for five microbial strains. In the second and third tests, bio-sorption and adhesion studies were performed for *Bacillus subtilis* and *Candida albicans*, also in an *in situ* model. Various pH and incubation times were taken into account. The results were discussed in perspective of potential use of tested microorganisms in further bioflotation.

Results

Preliminary test results. Cd concentration in control samples (microorganisms incubated without ore) was low, and never exceeded $0.64 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Fig. S1-A). After 20 min of incubation with phosphate ore, Cd accumulation in biomass increased to various degrees, demonstrating differentiation among strains. The highest value was found in *B. subtilis* at pH 7, where it was as high as $13.58 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ of biomass (Fig. S1-B). Mg accumulation in control samples was pH-dependent (Fig. S1-C). Twenty minutes of incubation with ore resulted in a several-fold increase of Mg content in biomass. The highest values were observed for *C. albicans*, *B. subtilis*, and *P. fluorescens* as well (Fig. S1-D). Ca accumulation in the control samples resembled Mg accumulation (Fig. S1-E). Because *C. albicans* and *B. subtilis* showed relatively high accumulation of all examined elements at pH 7 (which may be beneficial for further work on application of microorganisms in bioflotation) all following research was undertaken on these two strains.

Metal content in biomass - different time after incubation with ore. Concentration of all elements, measured in biomass of *B. subtilis* after incubation with phosphate ores, revealed a similar pattern. The highest accumulation was found up to 20 min after incubation. Cd concentration in *B. subtilis* cells after 10 and 20 min of incubation was more than 29 times higher than in control group (Fig. 1A, enlarged version in supplementary information in Fig. S1_bis). Starting from 30 min of incubation up to 70 min, the level of Cd accumulation was lower and very stable, oscillating between 7.14 and $8.82 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Mg content in *B. subtilis* cells after 10 and 20 min was respectively 38.5 and 41.2 times higher than in control cells (Fig. 1C, Fig. S1_bis). Twenty minutes after incubation, Ca accumulation in *B. subtilis* was the highest. At that time-point the mean value of Ca was 1884 times higher than in control group (Fig. 1E, Fig. S1_bis).

Accumulation of Cd in *C. albicans* increased gradually up to 50 minutes after the end of incubation, reaching a mean value of $26.22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ at this time-point. From this point onwards Cd accumulation started to decrease (Fig. 1B, Fig. S1_bis). Mg accumulation in *C. albicans* was about 3 times higher at 10 min after incubation, and

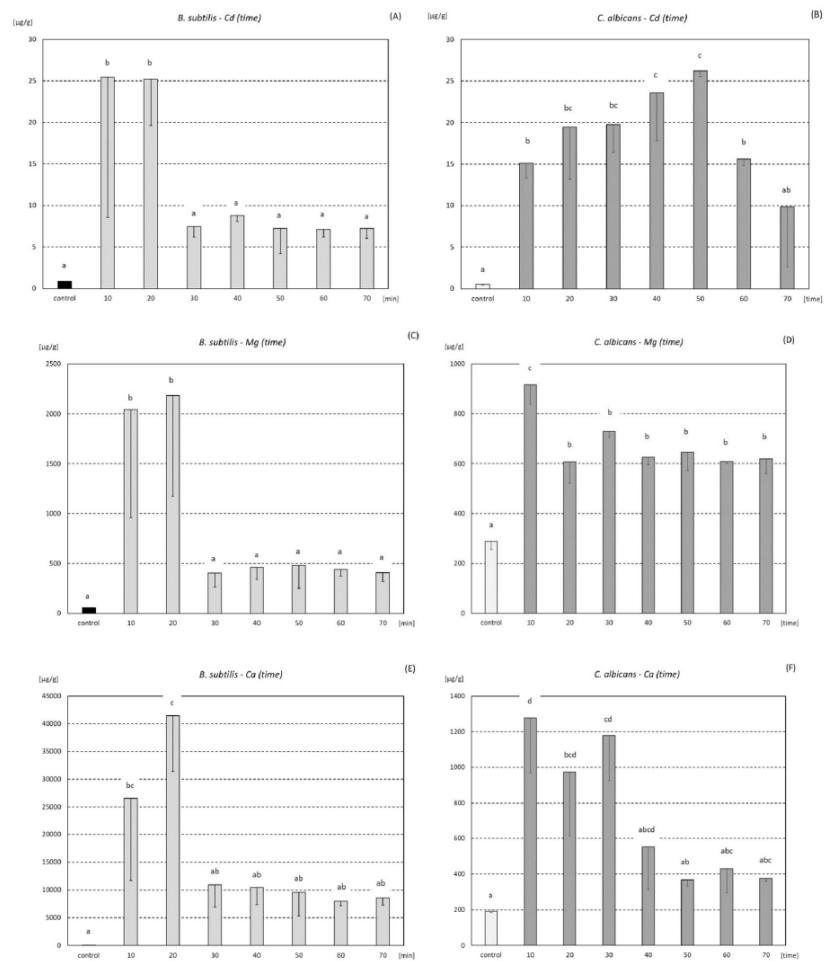


Figure 1. Cd, Mg, and Ca accumulation (mean \pm SD; $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) in biomass (*B. subtilis* - A,C,E, and *C. albicans* - B,D,F) after incubation with phosphate ore up to 70 min. The same letter indicate no significant differences among time-groups (ANOVA, LSD; $p < 0.05$).

about 2 times higher at other time-points, compared to the control group (Fig. 1D, Fig. S1_bis). Incubation with phosphate ore caused significant increase of Ca concentration in *C. albicans* biomass up to 30 min, compared to the control group (Fig. 1E, Fig. S1_bis).

Metal content in biomass - different pH of incubation. Concentration of Cd, Mg, and Ca was influenced by pH of solution in which incubation was performed, in case of both tested microorganisms (Fig. 2, Fig. S2_bis). The obtained values were, to a large extent, consistent with the tendency which was found in special control samples (ore incubated without microorganisms). The amount of leached out metals was pH dependent. In higher pH a lower metals content in solution was observed after incubation (Table 1S). The highest Cd accumulation in *B. subtilis* biomass was found at pH 6. Surprisingly, mean value of Cd accumulation at pH 12 was also high, and close to those found at pH 6 and 8 (Fig. 2A, Fig. S2_bis). Cd accumulation in *C. albicans* cells in all tested pH groups was significantly higher than in control cells, and, at pH range between 4 and 10, the mean values created a homogenous group (Fig. 2B, Fig. S2_bis). The highest Mg concentration in *B. subtilis* was found at pH 4 (the mean value was almost 55 times higher than in control group) (Fig. 2C, Fig. S2_bis). *C. albicans* accumulated Mg to a lesser extent than *B. subtilis*. The highest value, which was found at pH 8, was only 3 times higher than in control group (Fig. 2D, Fig. S2_bis). Ca accumulation in *B. subtilis* cells revealed the same pattern as Mg

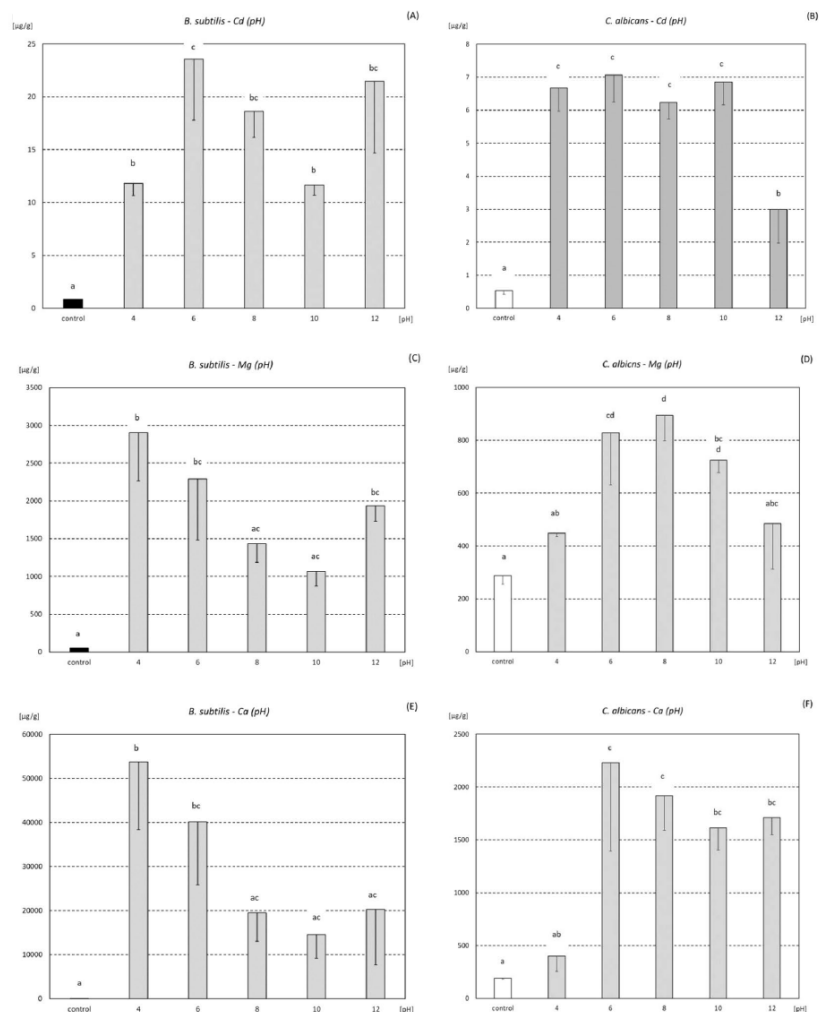


Figure 2. Cd, Mg, and Ca accumulation (mean \pm SD; $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) in biomass (*B. subtilis* - A,C,E, and *C. albicans* - B,D,F) after incubation with phosphate ore at different pH. The same letter indicate no significant differences among pH-groups (ANOVA, LSD; $p < 0.05$).

accumulation in this strain (Fig. 2E, Fig. S2_bis). The level of Ca accumulation by *C. albicans* at pH 6 was 11.7 times higher than in the control group (Fig. 2F, Fig. S2_bis). For *B. subtilis* the highest mean Ca content (found after incubation at pH 4) was 2412 times higher than in control group.

Adhesion/sedimentation of microorganisms onto ore from Djebel Onk. The process of sedimentation of *B. subtilis* was similar at pH 7 and 10, and was between 7% and 8% at time point t1. Sedimentation in these samples did not exceed 30% until the end of observation (time-point t4). Incubation of bacteria at low pH 2 caused very intensive sedimentation, which reached 72% at time t1. At the end of the experiment, sedimentation at pH 2 reached 97%. Incubation of bacteria with the ore at pH 7 and 10 caused a clearer decrease in OD values, which indicated a higher percentage of adhesion/sedimentation. At time-point t1, the adhesion/sedimentation percentage of *B. subtilis* onto ore was 15.4% at pH 10 and 21.8% at pH 7. After subtracting the percentages of control groups from these values, the observed increase of adhesion was 8.5% and 13.8% at pH 10 and 7, respectively. The values in subsequent time-points were significantly higher compared to these found at time-point t1,

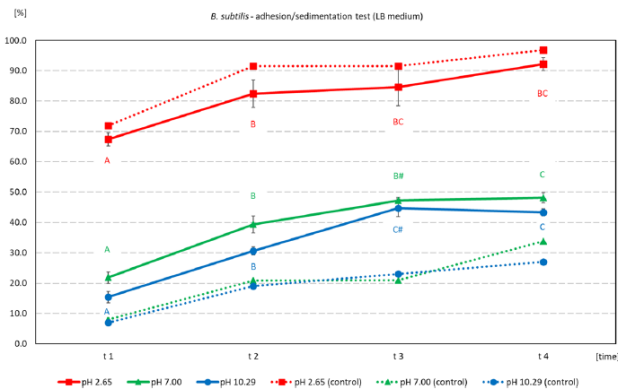


Figure 3. Adhesion/sedimentation [%] of *B. subtilis* cultured in LB media onto Djebel Onk phosphate ore, after incubation at various pH, as a function of time after the end of incubation. Abbreviations: The values were calculated based on optical density (OD) of suspension of bacteria before, and after incubation: % of adhesion/sedimentation = 100% - (initial OD measured before test - final OD measured after incubation with ore at subsequent time-points); solid line - treated groups (bacteria after incubation with ore), dotted lines - control groups (bacteria after incubation without ore); the same letters indicate homogenous time-groups within given pH; the same marks indicate homogenous pH-group within given time. Estimated initial bacteria density = 1.04×10^9 cells/mL.

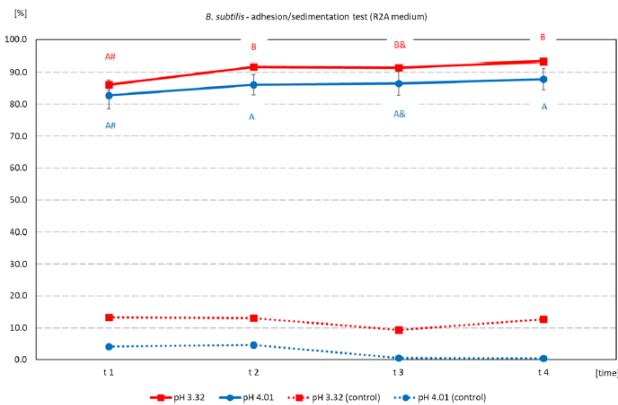


Figure 4. Adhesion/sedimentation [%] of *B. subtilis* cultured in R2A media onto Djebel Onk phosphate ore, after incubation at various pH, as a function of time after the end of incubation. Abbreviations: see Fig. 3. Estimated initial bacteria density = 3.16×10^8 cells/mL.

which most probably reflects the level of sedimentation in these samples. The level of adhesion/sedimentation in samples incubated with ore at pH 2 was very high, and coincided with values for control samples. This indicates a significant share of independent sedimentation at such low pH (Fig. 3).

Because of relatively high sedimentation in the first adhesion/sedimentation test, in the second test a suspension with lower cell density (grown on less nutrient-dense medium) was used. In such conditions, sedimentation in control samples was low and very stable in time (Fig. 4). Adhesion of *B. subtilis* onto phosphate ores from Djebel Onk in these conditions was very high both at pH 3 and 4, oscillating between 82.82% (at t1 time-point in pH 4) and 93.33% (at t4 time-point in pH 3). Adhesion of microorganisms onto ores at pH 4 was stable in time (Fig. 4).

The following values for the number of bacteria that can bind onto 1 g of ore were estimated: pH 10 ~ 0.80×10^{10} cells/1 g ore; pH 7 ~ 1.13×10^{10} cells/1 g ore, pH 4 ~ 1.29×10^{10} cells/1 g ore, pH 3 ~ 1.36×10^{10} cells/1 g ore. Incubation of *B. subtilis* with ore, at pH between 3 and 4, results in high adhesion, which is

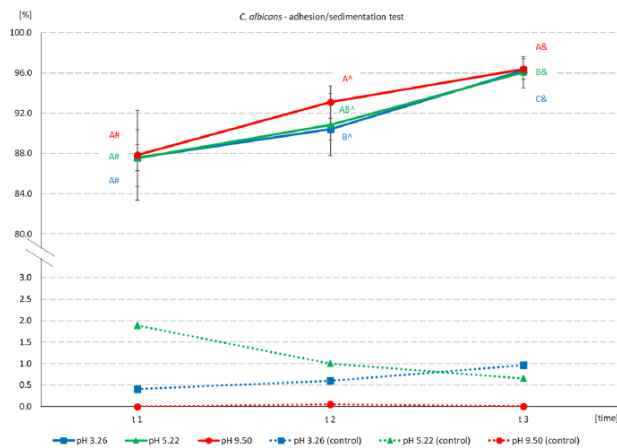


Figure 5. Adhesion/sedimentation [%] of *C. albicans* onto Djebel Onk phosphate ore, after incubation at various pH, as a function of time after the end of incubation. Abbreviations: see Fig. 3. Estimated initial fungus density = 1.78×10^9 cells/mL.

accompanied by relatively low sedimentation. Sedimentation of *C. albicans* in the control samples was low, and similar at all measured pH and all time-points. The values oscillated between 0.007% (at time-point t1 and pH 9) and 1.89% (at time-point t1 and pH 5). Meanwhile adhesion (measured after incubation with ore) was high regardless of pH. Mean values at time-point t1 were very close and equaled: 87.58%, 87.55%, and 87.83% for samples incubated at pH 3, 5 and 9 respectively. Final adhesion (time-point t3) equaled: 96.28%, 96.06%, and 96.39% for samples incubated at pH 3, 5 and 9 respectively (Fig. 5).

At pH 3 and 4, *B. subtilis* displayed very good adhesion onto apatite particles from Djebel Onk ore (Figs 6–8, Figs S6–S8). High resolution images allow to assume that the adhesion of *B. subtilis* onto surface was strong (Fig. S2). The adhesion of *B. subtilis* onto dolomite at pH 3–4 was also observed, but to a lesser degree than in case of apatite (Figs. 6–8, Figs S6–S8). As it was in case of apatite, adhesion of bacteria onto dolomite seemed to also be very strong (Fig. S2). At pH 7 and 10, adhesion of *B. subtilis* onto particles, both apatite and dolomite, was limited only to loosely spaced, single bacterial cells, but mostly - adhesion was not observed.

C. albicans colonized dolomite particles slightly more efficiently than apatite particles. In the first test, many *C. albicans* cells were found on dolomite particles at pH 3 and 7 (Fig. 6, Fig. S6). In the next test, the level of colonization by *C. albicans* was the highest at pH 5, in case of both apatite and dolomite (Fig. 8, Fig. S8). At pH 9 the cells were also found on the surface of minerals, but to a much lesser degree. In turn, *R. erythropolis* CD 130 colonized apatite particles to a higher extent, and was observed on the surface of apatite after incubation at pH 3 and 7. Occasionally, cells of *R. erythropolis* CD 130 were observed on the surface of dolomites after incubation at pH 7. *P. fluorescens* displayed good colonization of apatite particles and weak adhesion to dolomite particles in both tested pH values. *E. coli* was also more likely to colonize apatite particles, and displayed almost no adhesion to dolomite particles (Fig. 6, Fig. S6).

Discussion

The screening test showed that the content of Cd and Mg in biomass after incubation with phosphate ore from Djebel Onk increased for all tested microbial strains (Fig. S1). However, two out of five strains, namely *B. subtilis* and *C. albicans*, appeared to be particularly promising. In subsequent tests we showed that *B. subtilis* binds metals in a higher amount during up to 20 minutes of incubation (Fig. 1, Fig. S1_bis), which is consistent with the literature data. The rapid change of metal concentration in biomass, that we observed in our experiment (Fig. 1, Fig. S1_bis), suggests the biosorption phenomenon, which involves mechanisms of binding metals onto the surface of a cell, and not bioaccumulation, where the transport of ions into the cell takes place. To explain the observed results, Van der Waals forces, together with ion exchange and/or complexation with compounds presented in the microbial cell wall should be considered²². Assuming that the rapid metal accumulation observed by us (Fig. 1, Fig. S1_bis) can be an effect of biosorption (metabolic-independent process⁹) inactivated cells can be used for further tests, making biomass safe for use.

Bacteria are characterized by high surface to volume ratio and offer an abundance of functional groups that can participate in biosorption. To date, hydroxyl, carboxyl, amino, ester, sulfhydryl, carbonyl, and phosphoryl groups were identified as functional groups involved in biosorption²³. X-ray absorption fine structure (XAFS) spectroscopy analysis indicated that below pH 4.4, Cd binds mostly to phosphoryl ligands present in the *B. subtilis* wall, whereas at higher pH, adsorption to carboxyl groups becomes more important. At pH 7.8, activation of an additional binding site, described as a phosphoryl site (with smaller Cd-P distance than the one that is active

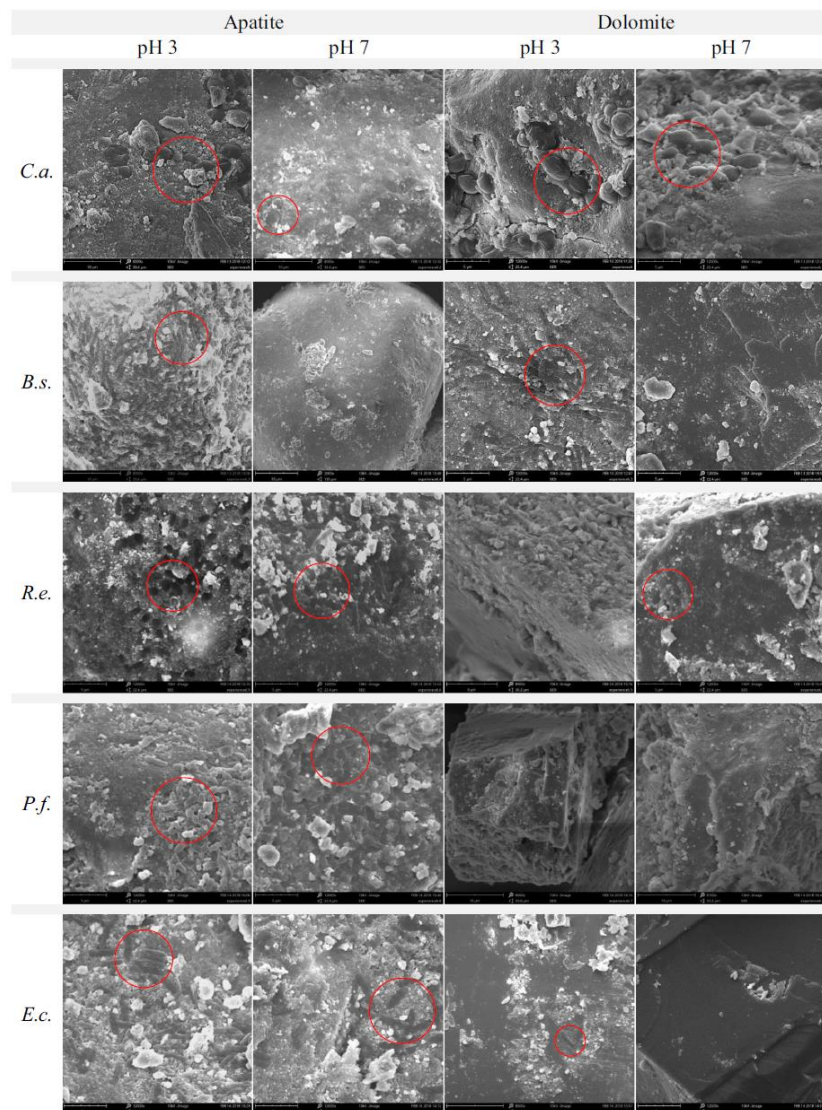


Figure 6. SEM images of apatite or dolomite from Djebel Onk ore, showing various microorganism adsorption onto the minerals surface. Abbreviations: microorganism strains: *Candida albicans* (C.a.), *Bacillus subtilis* (B.s.), *Rhodococcus erythropolis* CD 130 (R.e.), *Pseudomonas fluorescens* (P.f.), and *Escherichia coli* (E.c.) were incubated with ores at different pH (3 or 7), and at 28 °C for 20 min. Red circles - example of microorganisms.

at lower pH), was observed²⁴. Most probably, the phenomena described above may be the cause of differences observed by us in the biosorption of metals (Fig. 2, Fig. S2_bis), that was pH dependent. Essential and non-toxic elements, such as Mg or Ca, can be exchanged by other ions of toxic elements (e.g. Cd). Endo and Aoyagi¹⁴ reported the maximum adsorption of divalent metal ions by *Lactobacillus casei* JCM1134 in the following order: $\text{Cu}^{2+} > \text{Ba}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Ni}^{2+}$. The authors found high positive correlation of ions adsorption with the ionic radius and postulated that metal adsorption by *L. casei* JCM1134 was greatly realized by an ion exchange mechanism¹⁴. However, biogenic elements, such as Mg, Ca, Zn or Cu, are also biosorbed (Figs 1 and 2, Figs S1_bis and S2_bis). The basis of this phenomenon can be metal complexation, as it was found in

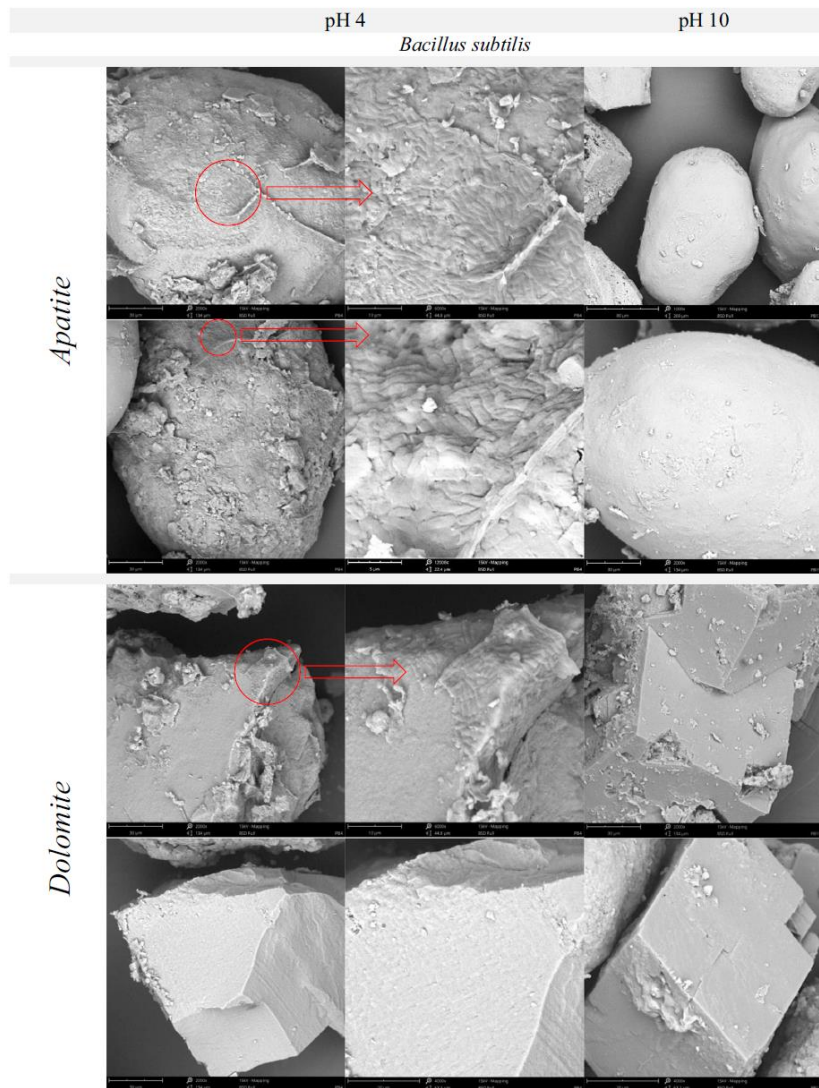


Figure 7. SEM images of apatite and dolomite from Djebel Onk ore, showing *B. subtilis* adsorption onto the minerals surface after incubation at pH 4 or 10 (at 28 °C for 20 min). Red circles - areas which were magnified and showed in the second column.

the case of *Pseudomonas syringae*^{9,22}. Biosorption observed in our experiments was reversible, thus, most likely, Van der Waals forces and/or the Coulombic Attraction forces were involved. The range of Cd biosorption that we observed for microorganisms was not very high (Figs 1 and 2, Figs S1_bis and S2_bis). Even *R. erythropolis* CD 130, for which siderophore secretion was proved²⁵, did not bind large amounts of Cd (Fig. S1). At this point, it should be clearly stated that the Cd content in our samples, and thus in the solution obtained after leaching elements out of the ore (Table S1), was not as high as in the case of other industrial wastewater, which arose as a result of direct contact with Cd-rich materials. Estimated calculations showed that the amount of bacteria used during the experiments (about 0.2–0.3 g of dry weight·L⁻¹) allowed for biosorption of a vast majority (or even all) of leached metals. Thus, a 20-minute incubation with bacteria can effectively reduce Cd from wastewater that

was generated after phosphate ore treatment. However, further detailed research and more sophisticated calculations should be performed. Cd sorption by resistant/tolerant bacteria can be significantly higher^{26–29}. Gourdon *et al.*²⁸ evaluated Cd biosorption abilities in Gram-positive and Gram-negative bacteria isolated from sludge, and showed that biosorption of Cd in both groups of bacteria was pH-dependent. Gram-positive bacteria revealed higher Cd biosorption abilities than Gram-negative bacteria²⁸. Bacterial biosorption of essential (but harmful) or nonessential (and toxic) metals was also described or reviewed by others^{9,22,23}. Also, a variety of fungal species have a great potential to bind metals (Figs 1 and 2, Figs S1_bis and S2_bis). Chitin, which is present in the cell wall, offer amino, amide and hydroxyl groups that assist sorption of metals^{22,23,30,31}.

The amount of metals leached out from the sample of ore (after incubation without any microorganism) was pH dependent (Table 1S), and certainly influenced the biosorption dynamic, especially in case of *B. subtilis* which reached higher values of metal content. One can suspect that biosorption for this species is therefore limited by higher pH, which is directly related to the availability of metals in the solution. In sum, biosorption depends on pH, type of metal ions, concentration and properties of biomass, but also pretreatment of biomass, and presence of various ligands in solution³¹. In our experimental conditions, using phosphate ore from Djebel Onk, we found that biosorption was species-, time- and pH-dependent (Figs S1 and 1–2). Content of Mg in *B. subtilis* biomass was about two times higher than in *C. albicans* cells. Moreover, Ca biosorption by *B. subtilis* was about 40 times higher than sorption of Ca by *C. albicans* cells (Fig. 1, Fig. S1_bis). Explanation of the results can be connected with the specific conditions that were present during incubation with phosphate ore from Djebel Onk, as well as distinct demand for ions of both microorganisms. *C. albicans* cells are larger than *B. subtilis*, which means that the total area of sorption (calculated for a given mass) for *C. albicans* is smaller. Also the amount and quality of functional groups that are present in chitin^{22,23,30,31} can be less efficient than those present in *B. subtilis* surface. Ca ions were widely available in the incubation mixture, as they are present in dolomite and apatite. Mg ions are a component of dolomites⁵. Certainly, such composition determines and influences adhesion efficiency of these microorganisms to particular components of phosphate ore, in the specific conditions that we set in our experiment. Only the combination of results of biosorption and adhesion can give a full view of the behavior of microorganisms under the special conditions caused by ore.

We found that adhesion of *B. subtilis* onto phosphate ore from Djebel Onk was effective at pH between 3 and 4 and was stable after the end of incubation (Fig. 4). Meanwhile, *C. albicans* revealed very good adhesion over a wide pH range (Fig. 5). There are not many articles discussing the problem of adhesion of microorganisms onto minerals present in phosphate ore. All of these new articles prove that the use of bacteria as bioreagents in phosphate ore processing is still in early stages of development^{21,32–37}. Zheng *et al.*²¹ studied adhesion of two bacteria, *Bacillus subtilis* and *Mycobacterium phlei*, onto dolomite and apatite, and found that both bacteria adhered to dolomite better than to apatite (at acidic and near neutral pH values). The authors explain that a wall of Gram-positive bacteria can be perceived as “a layer of microporous ion exchanger”. Furthermore they report that the amount of Mg²⁺ which can be bound by *B. subtilis* is about 10 times greater than Ca²⁺. Thus, *B. subtilis* should adhere more strongly to minerals containing Mg²⁺ (e.g. dolomite), than to minerals that do not contain this element (e.g. apatite). This valuable research, however, was done on high quality of dolomite (20.62% MgO) and apatite (0.07% MgO), and adhesion tests were most probably done separately for each mineral²¹. However, we cannot ignore the fact that bacteria can also bind Ca ions, which are present in both dolomite and apatite. In our experiment, designed for phosphate ore with natural composition of dolomite and apatite (*in situ* approach), SEM analysis revealed better adhesion of *B. subtilis* onto apatite at pH 3–4, than for dolomite (Figs 6 and 7, Figs S6–S7 and S2). *C. albicans* presented good adhesion to both apatite and dolomite, at all tested pH values (Figs 6 and 8, Figs S6 and S8). Good and selective adhesion of *R. erythropolis* CD 130, *P. fluorescens* and *E. coli* to apatite at both tested pH (namely 3 and 7), together with almost complete lack of adhesion to dolomite (Figs 6, S6), shows a lot of potential. These strains will be tested in the future by us.

Certainly, the incubation time and cell concentration are important for the adhesion of bacteria onto substrate surface. At very high bacteria concentration some interaction between cells and increased sedimentation can occur (Figs 3 and 4). After sufficient time, a biofilm formation process will start on substrate surface^{20,38–41}. Divalent cations, such as Mg²⁺ and Ca²⁺, can have an important impact on biofilm formation. Recent research has shown that Mg ions can slow down the formation of *B. subtilis* biofilm at Mg²⁺ concentration of 50 mM or higher, but do not inhibit growth of bacteria themselves. Most probably, Mg²⁺ inhibit expression of genes responsible for extracellular matrix formation³⁸. On the other hand, there are studies showing that the presence of Ca ions can restrict *B. subtilis* biofilm expansion. In the absence of Ca²⁺ in the media, peripheral cells of the colony can expand faster, and boost the size of the colony⁴².

Adhesion of the microorganisms onto the mineral surface is one of the most important steps in mineral bioprocessing^{32,33,36}. This is because microorganisms modify the surface of minerals, and therefore separation of minerals is possible. Merma *et al.*^{33,36} report that *Rhodococcus opacus* seems to be useful for separating apatite, calcite and quartz particles under specific conditions. Analysis of SEM images confirmed that *R. opacus* tends to adhere onto surfaces of both apatite and quartz, but the level of adhesion onto apatite is greater. According to Smith and Miettinen³⁷, *Saccharomyces carnosus* can interact with surfaces of apatite, calcite and quartz. Both alive microorganisms and freeze dried cells improved recovery of appetite during tests conducted at pH 9. Last year, commercial baker's yeast cells (BYC - *Saccharomyces cerevisiae*) were also tested³². The authors demonstrated yeast adhesion to high-purity apatite crystals at a wide pH range. Reduction of pH from 10 to 7 during mineral processing seems to be very attractive for the future, as it can diminish costs of mineral beneficiation and limit the detrimental impact of mineral processing on the environment. However, as the authors claim themselves, more tests with phosphate ore are needed to prove the potential use of BYC as an industrial bioreagent³². Egyptian scientists also work on the use of bacteria to improve phosphate ore processing^{34,35}. They observed that *Corynebacterium diphtheria intermedium* and *Pseudomonas aeruginosa* can modify dolomite and phosphate surfaces and improve the selectivity of separation. *P. aeruginosa* gave better results than *C. diphtheria intermedium*.

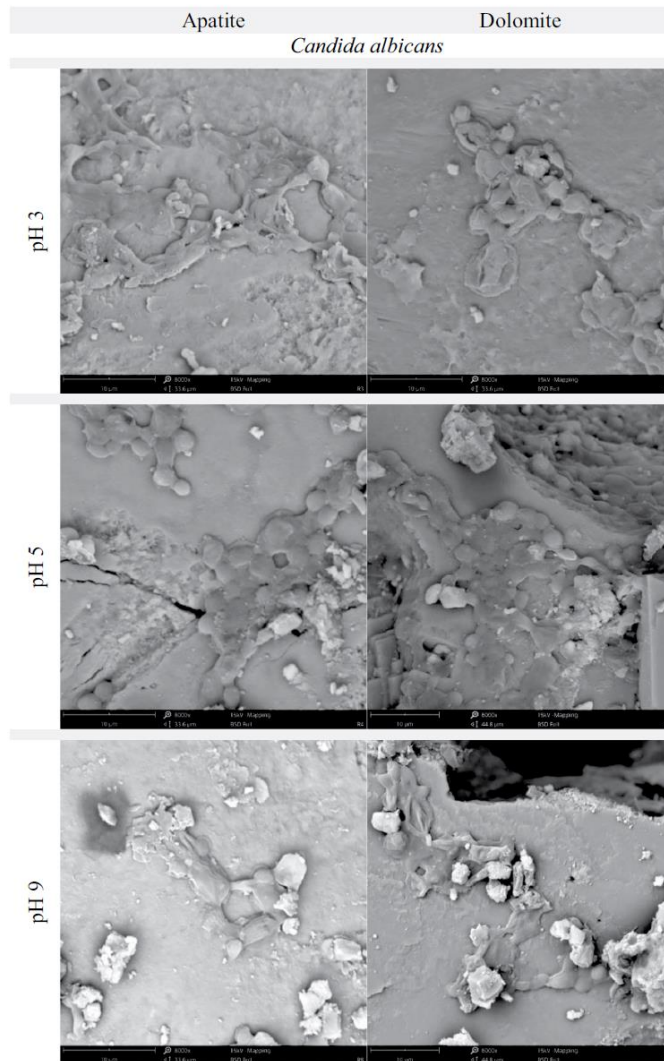


Figure 8. SEM images of apatite and dolomite from Djebel Onk ore, showing *C. albicans* adsorption onto the minerals surface after incubation at pH 3, 5 or 9.5 (at 28 °C for 20 min).

In addition, longer incubation time of minerals with bacteria effectively reduced the MgO content to below 1%³⁴. Abdel-Khalek *et al.*³⁵ isolated *Desulfivibrio desulfuricans* from phosphate ore and used for tests of separation of silica from apatite. Bacteria revealed better affinity to apatite than quartz surface. However, a separation test of natural phosphate ore with *D. desulfuricans*, conducted at pH 3, allowed them to acquire a concentrate containing 30% P₂O₅ and 10% SiO₂ from slurry containing 20.52% P₂O₅ and 23.51% SiO₂³⁵.

Undoubtedly, each deposit is characterized by unique composition and properties that create particular conditions for microorganisms. It is unlikely to develop one, universal method for ore bioprocessing. Therefore, each phosphate rock should be treated individually for the most effective bioprocessing. Detailed biosorption and adhesion tests should always be performed before attempting to use microorganisms for beneficiation of a given ore.

Material and Methods

Material characteristic and sample preparation. The samples, originated from the Djebel Onk mine, are representative for the entire Kef Essnoun region. Raw material was obtained courtesy of the National Company of Iron and Phosphate FERPHOS. Mechanical preparation of the ore included crushing, grinding and granulometric study. The particle size analysis of the sample revealed that 3% of the particles were less than 80 μm . Subsequent mechanical preparation involved reduction of fine particles and collection of desirable size of grains during grinding (Fig. S3).

Particles between 80–160 μm in size were used for metal accumulation and adhesion tests. Mineralogical composition of Djebel Onk phosphate ore of 80–160 μm fraction was as follows: carbonate fluoroapatite (CFA; $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$) 61.6%, dolomite ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) 29.1%, calcite (CaCO_3) 1.1%, clinoptilolite ($\text{Ca}_2\text{Al}_2(\text{Al,Si})_2\text{Si}_4\text{O}_{16}\cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 2.1%, and quartz (SiO_2) 6.1%. Cd and Mg concentration in the sample was 36.8 and 5369.1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (detailed mineralogical and elemental composition of each of the 16 size-class fractions, determined by XRD and AAS methods, are currently being prepared for publication). Before all tests, ore was sterilized to eliminate any microorganisms interfering with the experiment. Samples of 1 g of ore were weighed out, autoclaved (121 $^\circ\text{C}$, 2 h), and stored in sterile conditions for further use.

Microorganism strains and growth conditions. Microorganisms used in the experiments were obtained from the microbial collection of the Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice, Poland. For tests of metal adsorption and microbial adhesion onto ore, strains of five microorganisms were selected, based on literature studies and prior experience of microbiologists from University of Silesia. Four microbial strains: *Bacillus subtilis*, *Rhodococcus erythropolis* CD 130, *Pseudomonas fluorescens*, and *Escherichia coli*, as well as one fungal strain: *Candida albicans* were chosen. Strain of *B. subtilis* and *R. erythropolis* CD 130 belong to Gram-positive, while *P. fluorescens*, *E. coli* to Gram-negative bacteria. *R. erythropolis* CD 130 strain was isolated by Magdalena Pacwa-Plociniczak *et al.*²⁵ from soil heavily contaminated with petroleum hydrocarbons and characterized by high phosphate solubilization activity and siderophore production^{25,43}.

Depending on the type of experiment, one of two types of medium was used for bacteria cultivation. As a rich medium Luria-Bertani broth (LB) (10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ peptone K, 10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ sodium chloride, and 5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ yeast extract) was chosen. As a medium with low nutrient concentration (nutrient-poor) we used R2A medium (0.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ yeast extract, 0.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ proteose peptone, 0.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ peptone K, 0.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ glucose, 0.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ starch, 0.3 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ dipotassium phosphate, 0.024 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ magnesium sulfate, 0.3 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ sodium pyruvate, 15 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ agar). *Candida albicans* were cultivated in broth with glucose (0.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ peptone, 2.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ yeast extract, 2.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ meat extract, 4.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ sodium chloride, 20.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ glucose, 20.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ agar). The components were purchased from BTL sp. z o.o. company.

Cultivation of bacteria in LB medium and *C. albicans* in broth with glucose was performed at 28 $^\circ\text{C}$ on a rotary shaker at 120 rpm for 24 h. In case of microorganisms grown in R2A medium, to get a sufficient number of bacteria, they were cultured up to 72 h. Then, the cultures were centrifuged at 5000 rpm for 15 min, and biomass was washed with 0.98% NaCl three times. Finally, the cells were resuspended in 0.98% NaCl and, for assessment of the initial number of microorganisms, spectrophotometric density was measured at 600 nm using a double beam UV spectrophotometer (ThermoSpectronic).

Experimental models. *Experiment 1.* In the first experiment (screening test), the five strains of microorganisms were checked for their ability to accumulate metals and adsorb onto surface of minerals. For this experiment selected bacteria were cultivated in LB medium for 24 h, then washed, centrifuged and suspended in 0.98% NaCl. To standardize the approximate number of bacteria in a suspension McFarland standards were used. Wherever necessary, the suspensions were diluted with 0.98% NaCl. The sterilized 1 g samples of ore were incubated (at 28 $^\circ\text{C}$ with continuous shaking) with microorganism suspension (50 mL), at various pH and constant time (pH 3 and 7; 20 min). Immediately after incubation, samples were left for 5 min to allow for particle sedimentation. Microorganism suspension was gently decanted into 50 mL Faalcon tubes. Then, a small amount (–0.1 g) of ore was taken and prepared for SEM analysis. The rest of ore was washed with 0.98% NaCl (5 mL) and, after decantation, the liquid with detached cells was added to microorganism suspension. The whole suspension was centrifuged (5000 rpm, 15 min) and the obtained biomass was gently washed with deionized water, lyophilized and prepared for determination of metal content by AAS method.

Experiment 2. In the second experiment, two species of microorganisms, *B. subtilis* and *C. albicans*, were selected based on the results of the first test. *B. subtilis* and *C. albicans* revealed a relatively high levels of metal accumulation and adhesion onto dolomite particles. The aim of the experiment was to establish optimal conditions (pH and time) for incubation of microorganisms with ore, in order to maximize metal accumulation in biomass and/or adhesion of cells onto minerals. In the first part of the experiment the sterilized samples of 1 g of ore were incubated with *B. subtilis* or *C. albicans* suspended in 50 mL of 0.98% NaCl (28 $^\circ\text{C}$, shaking: 120 rpm, pH 7) in conical flasks. Times of incubation were as follows: 10, 20, 30, 40, 50, 60, and 70 minutes. In the second part of the experiment the conditions remained the same except for pH, which was variable. The incubation was carried out for 20 min at pH: 4, 6, 8, 10, and 12. Immediately after incubation the ore were sedimented (5 min), then the microorganism suspension was decanted and centrifuged (at 5000 rpm for 15 min). Biomass and minerals were prepared for AAS and SEM analysis as described previously. Control samples consisted of microorganisms incubated at pH 7 for 20 min. All experimental groups contained 4 technical replications. Special control, involving samples of ore incubated without microorganisms at various pH, were also performed. This way the amount of leached out metals, at a given experimental conditions, was estimated (Table S1).

Experiment 3. Third experiment included one test for *C. albicans* and two tests for *B. subtilis*. Second test for *B. subtilis* was designed after receiving results of the first test. In the second test pH was limited to the promising

range (3–4) as well as the amount of microorganisms was lower than in the first test. *B. subtilis* was cultured in LB (first test) and R2A (second test) media. After cultivation microorganisms were recovered from the media, washed three times and suspended in 0.98% NaCl. Total suspensions were divided into three (or two) portions and pH was adjusted. For bacteria cultured in LB medium, pH 2, 7, and 10 was established. For bacteria cultured in R2A a pH of medium was established as followed 3 and 4. For *C. albicans* pH 3, 5, and 9 was established. Next, all suspensions were divided into 50 mL samples, and 1 g of sterilized ore was added to each. Incubation was carried out in standard conditions: 28 °C with continuous shaking (120 rpm) for 20 min. The level of adhesion was evaluated based on optical density (OD) after pH adjustment. Then the ore was added to bacterial suspension and OD was measured again in four time-points after incubation. The following time-points were established for *B. subtilis*: t1 – 10 min, t2 – 20 min, t3 – 30 min, and t4 – 40 min after the end of incubation. For *C. albicans* OD was measured at t1 – 10 min, t2 – 20 min, and t3 – 30 min after the end of incubation. In the end, minerals were separated by sedimentation and prepared for SEM analysis. Control samples consisted of microorganisms incubated in the same conditions, but without ore. All experimental groups consisted of 4 technical replications, while control groups were performed with two replications.

Cd, Mg and Ca content assessment. After incubation experiment with ore, the suspensions of microorganisms were centrifuged (Ultracentrifuge Beckman Optima LE-80K) at 8000 rpm and 10 °C for 15 min. Then, biomass was frozen to –70 °C and lyophilized (Freeze dryer Alpha 1–4; Christ, Germany) at –35 °C and pressure 0.2 mBar for 24 h. A portions of ~0.02 g dried microorganisms were mineralized with 0.5 mL of ~65% HNO₃ at 110 °C for 48 h. After mineralization was completed, the samples were diluted with deionized water to a total volume of 5 mL. Cd, Mg and Ca contents were measured by AAS methods with an iCE 3500 AAS atomic absorption spectrometer (Thermo Fisher Scientific). Quality of the analytical procedure was confirmed using standard solutions from Merck at initial concentration of 1 g of metal·L⁻¹ of water. Metal content was expressed as µg·g⁻¹ of biomass. The metal analyses for samples in the screening experiment (Exp. 1) and control samples in subsequent experiments were done in two replications. The test for metal content in biomass after incubation with ores in each experimental group was replicated for 4 samples.

Particle surface analysis. After incubation with microorganisms, the ore samples were frozen to –70 °C and lyophilized (Freeze dryer Alpha 1–4; Christ, Germany) at –35 °C and pressure 0.2 mBar for 4 h. After drying, the ores were gently powdered, stuck to an aluminum cylinder with a double sided adhesive carbon tape and coated with ≥ 15 nm film of gold in Pelco SC6 coater (Ted Pella, Inc.). The gold layer covering the sample reduced adverse effects (charging, thermal damage) related to the electron beam action in microscopic vacuum, and improved the imaging of samples. All samples were imaged using Scanning Electron Microscopy Phenom XL at 15 kV accelerating voltage. For better resolution, selected samples (See Fig. S2) were also photographed using a Hitachi SU8010 (FESEM; Hitachi High-Technologies Corporation, Tokyo, Japan). Imaging was performed in the scanning microscopy laboratories of the Faculty of Biology and Environmental Protection of the University of Silesia in Katowice.

Adhesion/sedimentation calculation. Adhesion and sedimentation levels were calculated based on optical density (OD) measured at wavelength 600 nm, in suspension of bacteria before and after incubation. The following formula was applied:

$$\% \text{Sedimentation} = 100\% - [(OD_c * 100\%) / OD_i]$$

$$\% \text{Adhesion} = 100\% - [(OD_o * 100\%) / OD_i]$$

where: *OD_i* - initial optical density, before mixing bacteria suspension with ore; *OD_c* - optical density in control samples (without ore) after incubation; *OD_o* - optical density in suspension after incubation with ore.

Estimated number of bacteria that can bind onto 1 g of ore was calculated based on *OD_o* - *OD_i* and assumption: *OD₆₀₀* of 1.0 = 8 × 10⁸ cells/mL. Assuming the value obtained at time-point t1 is the predominant effect of adhesion, and taking the difference between the initial and t1 OD values into account, the number of bacteria that was bound on the surface of 1 gram of 80–160 µm particles was estimated. The decrease in optical density (OD) value in the first test was: 0.874, 0.283, 0.200 at pH 2, 7, and 10, respectively. In the second test, the difference between the initial value and the one measured at time-point t1 was 0.340 and 0.323 at pH 3 and 4, respectively. Because of extremely high sedimentation obtained at pH 2 this data were omitted during estimation of number of bacteria that can bind onto 1 g of ore.

Dotted lines in Figs 3–5 represent percentage values based on optical density (OD) of the suspension. They were measured in control samples after incubation of microorganisms without ore, and reflect the level of sedimentation.

Statistical analysis. In the first test (screening study), metal concentrations in biomass of five microorganisms were measured in two replications for each group. Therefore, in Fig. S1 the mean of two measurements has been presented, without standard deviation. All other analyses (in the second and third experiments) were done in four replications, and thus statistical procedures have been applied. The rare outlying results, identified by means of Q-Dixon test, were omitted prior statistical analysis. The normality of data was tested using the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests. The homogeneity of variances was checked using the Levene test. Parameters fulfilled the criteria for normal distribution and variance homogeneity. Consequently, parametric tests were used to evaluate the significance of differences among the experimental groups. Accumulation of metals and adhesion of microorganisms onto ore were expressed as mean ± SD. Analysis of variance was performed,

and Tukey honest significant difference HSD test (ANOVA; $p < 0.05$) was used to identify differences separately for each strain and for metal content or pH (in the adhesion test). Statistical analysis was conducted using Statistica 13.1 software.

References

- Jiao, W., Chen, W., Chang, A. C. & Page, A. L. Environmental risks of trace elements associated with long-term phosphate fertilizers applications: A review. *Environ. Pollut.* **168**, 44–53 (2012).
- Oosterhuis, E., Brouwer, F. & Wijnants, H. A possible EU wide charge on cadmium in phosphate fertilisers: Economic and environmental implications. *Report number E-00/02* (2000).
- Mar, S. S. & Okazaki, M. Investigation of Cd contents in several phosphate rocks used for the production of fertilizer. *Microchem. J.* **104**, 17–21 (2012).
- Sis, H. & Chander, S. Reagents used in the flotation of phosphate ores: a critical review. *Miner. Eng.* **16**, 577–585 (2003).
- Birken, I., Bertucci, M., Chappelin, J. & Jorda, E. Quantification of impurities, including carbonates speciation for phosphates beneficiation by flotation. *Procedia Eng.* **138**, 72–84 (2016).
- Al-Thyabat, S. Evaluation of Mechanical Flotation of Non-slimed Jordanian Siliceous Phosphate. *Arab. J. Sci. Eng.* **37**, 877–887 (2012).
- Radulović, D. S., Mihajlović, S. R., Sekulić, Ž. T. & Vučinić, D. R. Definition the technology method of apatite flotation concentration from the phosphate. *Min. Metall. Eng. Bor* **765**, 131–147 (2014).
- Abdel-Khalek, N. A., Selim, K. A., Abdallah, M. M., El-bellihi, A. A. & Bayoumy, W. A. Flotation of Egyptian Newly Discovered Fine Phosphate Ore of Nile Valley. *Proc. Int. Conf. Mining, Mater. Metall. Eng. Prague, Czech Republic, August 11-12, 2014 Pap.* 1–10 (2014).
- Veglio, F. & Beolchini, F. Removal of metals by biosorption: a review. *Hydrometallurgy* **44**, 301–316 (1997).
- Behera, S. K. & Mulaba-bafubandi, A. F. Advances in microbial leaching processes for nickel extraction from lateritic minerals - A review. *Korean J. Chem. Eng.* **32**, 1447–1454 (2015).
- Behera, S. K. & Mulaba-bafubandi, A. F. Microbes Assisted Mineral Flotation a Future Prospective for Mineral Processing Industries: A Review. *Miner. Process. Extr. Metall. Rev.* **38**, 96–105 (2017).
- Dwyer, R., Bruckard, W. J., Rea, S. & Holmes, R. J. Bioflotation and bioflocculation review: microorganisms relevant for mineral beneficiation. *Miner. Process. Extr. Metall. IMM Trans. Sect. C* **121**, 65–71 (2012).
- Yuan, W. *et al.* Optimization of cadmium biosorption by *Shewanella putrefaciens* using a Box-Behnken design. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **175**, 138–147 (2019).
- Endo, R. & Aoyagi, H. Adsorption preference for divalent metal ions by *Lactobacillus casei* JCM1134. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1134**, 1–8 (2018).
- Albert, Q. *et al.* Use of soil fungi in the biosorption of three trace metals (Cd, Cu, Pb): promising candidates for treatment technology? *Environ. Technol.* **0**, 1–12 (2019).
- Ojima, Y., Kosako, S., Kihara, M., Miyoshi, N. & Igarashi, K. Recovering metals from aqueous solutions by biosorption onto phosphorylated dry baker's yeast. *Sci. Rep.* 1–9, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36306-2> (2019).
- Michalak, I., Mironiuk, M. & Marycz, K. A comprehensive analysis of biosorption of metal ions by macroalgae using ICP-OES, SEM-EDX and FTIR techniques. *PLoS One* 1–20, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205590> (2018).
- Singh, A., Hamme, J. D. V. & Ward, O. P. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects. *Biotechnol. Adv.* **25**, 99–121 (2007).
- Sheng, G., Yu, H. & Li, X. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. *Biotechnol. Adv.* **28**, 882–894 (2010).
- Hori, K. & Matsumoto, S. Bacterial adhesion: From mechanism to control. *Biochem. Eng. J.* **48**, 424–434 (2010).
- Zheng, X., Arps, P. J. & Smith, R. W. Adhesion of two bacteria onto dolomite and apatite: their effect on dolomite depression in anionic flotation. *Int. J. Miner. Process.* **62**, 159–172 (2001).
- Hansda, A., Kumar, V. & Anshumali. A comparative review towards potential of microbial cells for heavy metal removal with emphasis on biosorption and bioaccumulation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **32**, 1–14 (2016).
- Javanbakht, V., Alavi, S. A. & Zilouei, H. Mechanisms of heavy metal removal using microorganisms as biosorbent. *Water Sci. Technol.* **69**, 1775–1787 (2014).
- Boyanov, M. I. *et al.* Adsorption of cadmium to *Bacillus subtilis* bacterial cell walls: A pH-dependent X-ray absorption fine structure spectroscopy study. *Geochim. Cosmochim. Acta* **68**, 3299–3311 (2003).
- Pacwa-Plociniczak, M. *et al.* Isolation of hydrocarbon-degrading and biosurfactant-producing bacteria and assessment their plant growth-promoting traits. *J. Environ. Manage.* **168**, 175–184 (2016).
- Rosca, M. *et al.* Comparison of *Rhodotorula* sp. and *Bacillus megaterium* in the removal of cadmium ions from liquid effluents. *Green Process Synth* **7**, 74–88 (2018).
- Yilmaz, E. I. & Ensari, N. Y. Cadmium biosorption by *Bacillus circulans* strain EB1. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **21**, 777–779 (2005).
- Gourdon, R., Bhende, S., Rus, E. & Sofer, S. S. Comparison of cadmium biosorption by gram-positive and gram-negative bacteria from activated sludge. *Biotechnol. Lett.* **12**, 839–842 (1990).
- García, R. *et al.* Biosorption of Cd, Cr, Mn, and Pb from aqueous solutions by *Bacillus* sp strains isolated from industrial waste activate sludge. *TIP Rev. Espec. en Ciencias Químico-Biológicas* **19**, 5–14 (2016).
- Akthar, M. N., Sastry, K. S. & Mohan, M. Mechanism of metal ion biosorption by fungal biomass. *BioMetals* **9**, 21–28 (1996).
- Bishnoi, N. R. & Garima. Fungus - An alternative for bioremediation of heavy metal containing wastewater: A review. *J. Sci. Ind. Res.* **64**, 93–100 (2005).
- Silva, C. A. *et al.* Apatite flotation using saponified baker's yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*) as a bioreagent. *J. Mater. Res. Technol.* in press, 1–7 (2018).
- Merma, A. G. & Torem, M. L. Bioflotation of apatite and quartz: Particle size effect on the rate constant. *R. Esc. Minas, Ouro Preto* **68**, 343–350 (2015).
- Elmahdy, A. M., El-Mofly, S. E., Abdel-Khalek, M. A., Abdel-Khalek, N. A. & El-Midany, A. A. Bacterially induced phosphate - dolomite separation using amphoteric collector. *Sep. Purif. Technol.* **102**, 94–102 (2013).
- Abdel-Khalek, N. A., Selim, K. A., Yassin, K. E. & Abdallah, S. S. Bio-flotation of Egyptian Phosphate Using *Desulfuribrio Desulfuricans* Bacteria. *J. Min. World Express* **4**, 19–26 (2015).
- Merma, A. G., Torem, M. L., Morán, J. J. V. & Monte, M. B. M. On the fundamental aspects of apatite and quartz flotation using a Gram positive strain as a bioreagent. *Miner. Eng.* **48**, 61–67 (2013).
- Smith, R. W. & Miettinen, M. Microorganisms in flotation and flocculation: Future technology or laboratory curiosity? *Miner. Eng.* **19**, 548–553 (2006).
- Oknin, H., Steinberg, D. & Shemesh, M. Magnesium ions mitigate biofilm formation of *Bacillus* species via downregulation of matrix genes expression. *Front. Microbiol.* **6**, 1–7 (2015).
- Simoës, M., Simoës, L. C. & Vieira, M. J. A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT - Food Sci. Technol.* **43**, 573–583 (2010).

40. Dunne, W. M. Bacterial Adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately? *Clin. Microbiol. Rev.* 15, 155–166 (2002).
41. Katsikogianni, M. & Missirlis, Y. F. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur. Cells Mater.* 8, 37–57 (2004).
42. Mhatre, E. *et al.* Presence of Calcium Lowers the Expansion of *Bacillus subtilis* Colony Biofilms. *Microorganisms* 5, 1–13 (2017).
43. Pacwa-Plociniczak, M., Czapla, J., Plociniczak, T. & Piotrowska-Seget, Z. The effect of bioaugmentation of petroleum-contaminated soil with *Rhodococcus erythropolis* strains on removal of petroleum from soil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 169, 615–622 (2019).

Acknowledgements

The authors thank: dr Magdalena Pacwa-Plociniczak for making the *Rhodococcus erythropolis* CD 130 available; dr Marta Dziewięcka for help in preparation of samples for AAS analysis; dr Jagna Karcz for her assistance in taking pictures with the SEM technique, dr Tomasz Krzykawski for help in developing the ore composition.

Author Contributions

H.R., M.A., M.O.H. and K.K. conceived and designed the experiments. H.R., K.K., J.B. performed the experiments. H.R., K.K. and M.A. analyzed the data, wrote the manuscript, prepared tables and figures. M.A. and M.O.H. coordinated works. All authors read and provided helpful discussions and approved the final version.

Additional Information

Supplementary information accompanies this paper at <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49406-4>.

Competing Interests: The authors declare no competing interests.

Publisher's note: Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2019

Article en révision:

Preprints are preliminary reports that have not undergone peer review.
They should not be considered conclusive, used to inform clinical practice,
or referenced by the media as validated information.

Mg and Cd biosorption by native bacteria from Djebel Onk mine (Algeria)

Hakim Rabia

Ecole Nationale Polytechnique d'Alger

Malek Ould Hamou

Ecole Nationale Polytechnique d'Alger

Katarzyna Kasperkiewicz (✉ katarzyna.kasperkiewicz@us.edu.pl)

University of Silesia in Katowice

Tomasz Krzykawski

University of Silesia in Katowice

Monika Malicka

University of Silesia in Katowice

Iryna Bodnaruk

University of Silesia in Katowice

Amira Merchichi

Ecole Nationale Polytechnique d'Alger

Magdalena Skowronek

University of Silesia in Katowice

Maria Augustyniak

University of Silesia in Katowice

Research Article

Keywords: microorganisms, phosphate ore, Cd, Mg, biosorption

DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-515290/v1>

License: © ⓘ This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

[Read Full License](#)

2. CHAPITRES

1) Mg and Cd Biosorption by Native Bacteria From Djebel Onk Mine (Algeria)

Mg and Cd Biosorption by Native Bacteria From Djebel Onk Mine (Algeria)



Hakim Rabia, Malek Ould Hamou, Katarzyna Kasperkiewicz, Magdalena Skowronek, and Maria Augustyniak

Abstract The main aim of present work was the investigation of biosorption abilities of selected native microorganisms, isolated from Djebel Onk ore (Kef Essnoun region, Algeria). The native microorganisms differed in the efficiency of metal accumulation. In the vast majority of microorganisms examined, the content of Cd or Mg found was higher than in *B. subtilis*—used as the reference strain. Rinsing (incubation) of the phosphate ore with selected strains of microorganisms (for about 20 min and at neutral pH) significantly increase the recovery of Mg and Cd. It is an eco-friendly way to clean ore and post-flotation wastes. The promising HK4N 4L strain can be used to remove various metals over a wide pH range.

Keywords Microorganisms · Phosphate ore · Cd · Mg · Biosorption

1 Introduction

According to EU policy, cadmium content in soil, phosphate fertilizers, and raw materials has to be limited [1]. Consequently, countries where phosphorene deposits are rich in cadmium, as well as other metal impurities, have to gradually limit sales, as demand for their raw material will systematically decrease. Such a consequence can impact Nauru, Senegal, USA (North Carolina deposits), Tunisia, Morocco, Israel, and also Egypt, Syria, and Algeria. According to Mar and Okazaki [2], cadmium content in phosphate ores from these countries can reach up to 243 mg Cd per kg of phosphate rocks. A reasonable but also profitable solution for countries possessing Cd-rich raw materials to further benefit from ore, including decadmiation.

H. Rabia (✉) · M. O. Hamou
Ecole Nationale Polytechnique D'Alger, Alger, Algeria
e-mail: hakim.rabia@g.enp.edu.dz

K. Kasperkiewicz · M. Skowronek · M. Augustyniak
University of Silesia in Katowice, Bankowa 9, 40-007 Katowice, Poland

© The Editor(s) (if applicable) and The Author(s), under exclusive license to Springer Nature Switzerland AG 2021

835

M. Ksibi et al. (eds.), *Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions (2nd Edition)*, Environmental Science and Engineering, https://doi.org/10.1007/978-3-030-51210-1_131

2) Native Bacteria from Djebel Onk Mine (Algeria) Exhibit Selective Adhesion onto Phosphate Ore

Native Bacteria from Djebel Onk Mine (Algeria) Exhibit Selective Adhesion onto Phosphate Ore



Hakim Rabia, Malek Ould Hamou, Katarzyna Kasperkiewicz, Izabela Potocka, and Maria Augustyniak

Abstract The main aim of the present work was the investigation of the adhesion abilities of selected native microorganisms with phosphate ore particles—natural components of raw material from Djebel Onk, Kef Essnoun region, Algeria. The adhesion/sedimentation level was assessed based on optical density (OD). Microorganisms were marked with quantum dots (CdTe QD; PlasmaChem GmbH), incubated with phosphate ore, and then the particle surface was analyzed using a confocal laser scanning microscope. The highest adhesion onto ore was found for: HK2 3K strain at pH 7, *B. subtilis* at pH 4, and HKR2G1D(a) strain at a wide range of pH. The use of quantum dots for imaging microorganisms revealed their selectivity in adhesion to particles included in phosphate ore from Djebel Onk. Native bacteria with high adhesion properties (HK2 3K) have priority in settling particle surfaces. This is an effect of a long-lasting selection of microorganisms to these specific conditions in the Kef Essnoun region. The assessment of microorganism-particle complexes stability and their floatability will be continued.

Keywords Microorganisms · Adhesion · Phosphate ore · Dolomite · Apatite

1 Introduction

The issue of phosphate ore beneficiation is still an ongoing topic of study in many laboratories [1–3]. Raw materials should undergo beneficiation, during which most impurities have to be removed. Among many methods such as calcination, acid leaching, and magnetic separation, flotation is still the most important [1, 3].

Traditional mineral processing requires application of chemicals which are potentially toxic and dangerous to the environment [1]. In line with the environmental

H. Rabia · M. Ould Hamou
Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, Alger, Algeria

K. Kasperkiewicz · I. Potocka · M. Augustyniak (✉)
University of Silesia in Katowice, Bankowa 9, 40-007 Katowice, Poland
e-mail: maria.augustyniak@us.edu.pl

© The Editor(s) (if applicable) and The Author(s), under exclusive license to Springer Nature Switzerland AG 2021

M. Ksibi et al. (eds.), *Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions (2nd Edition)*, Environmental Science and Engineering, https://doi.org/10.1007/978-3-030-51210-1_116

735

3. CONFERENCES


Assessment of microorganisms cadmium accumulation abilities by selected in phosphate ores from Djebel Onk, Algeria

HAKIM RABIA^{1*} MALEK OULD HAMOU¹ KATARZYNA KASPERKIEWICZ² MAGDALENA PACWA-PŁOCINICZAK² MARTA DZIEWIĘCKA³ MARIA AUGUSTYNIAK³

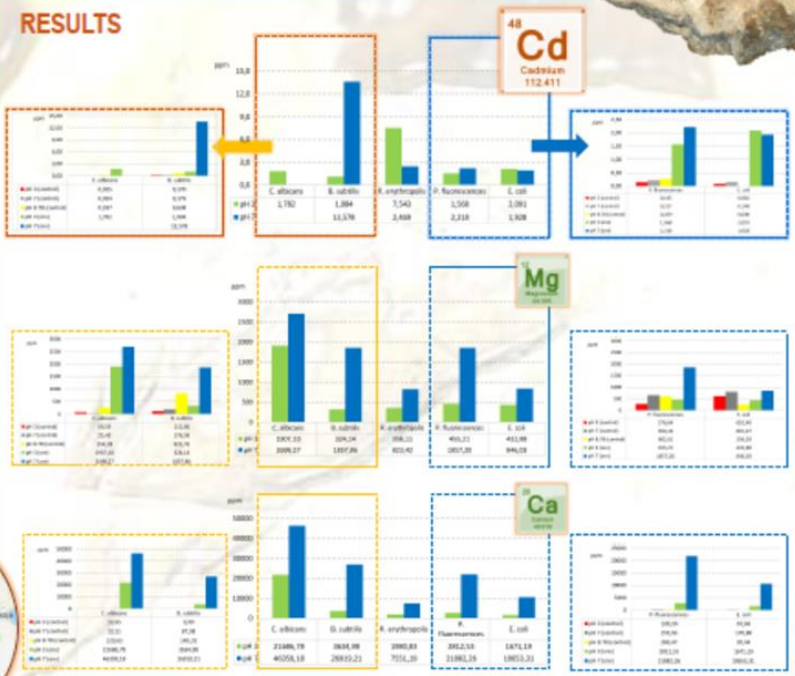
¹Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, 10 Avenue Hassen Badi BP 182 El Harrach 16200 Alger, Algérie (hakim.rabia@univ-alger.dz)
²Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice, Jagiellońska 28, 40-034 Katowice, Poland
³Department of Microbiology, ³Department of Animal Physiology and Ecotoxicology

INTRODUCTION

The problem of phosphate ore contamination with dolomite, as well as toxic metals such as cadmium (Cd), is increasing in importance due to the proposed reduction in the permissible Cd concentration limits in fertilizers. Lowering these limits will have far-reaching consequences for the fertilizer industry, both in Poland and many other European Union (EU) countries. The proposed change in legal regulations, if implemented, will also have a direct economic effect for EU countries that use ores exported from North Africa, including Algeria. New legal regulations require the development of new, effective and environmentally friendly methods for the purification of substrates - phosphate ores. The solution proposed in this study is an attempt to implement biological methods that could support traditional methods of purifying ores.



RESULTS



AIM OF THE STUDY

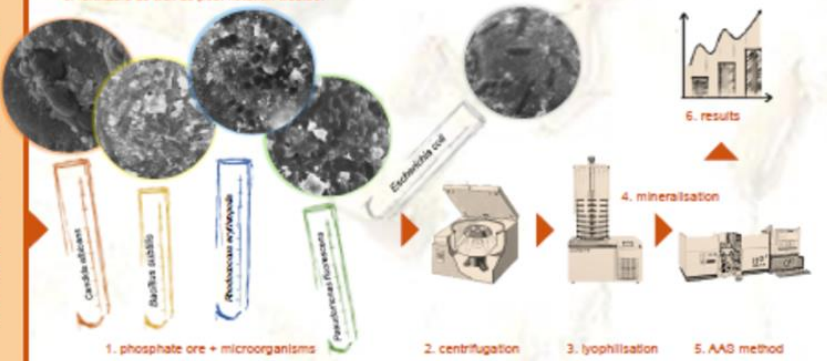
The aim of the work is to assess the ability of selected microorganisms to bind trace amounts of cadmium found in phosphate ores from Djebel Onk, Algeria.

CONCLUSIONS

The Cd content in the control samples varied from 0.0 to 0.638 ppm. Incubation of ores with microorganisms revealed the differences between the tested strains in terms of cadmium absorption capacity. The content of the metal in the samples of *C. albicans*, *P. fluorescens*, and *E. coli* oscillated around 2 ppm regardless of the pH of the medium. Cd accumulation by *R. erythropolis* reached 7.543 ppm at pH 3. Whereas *B. subtilis* accumulated as much as 13.578 ppm cadmium at pH 7. It is worth mentioning that *B. subtilis* also revealed a very good accumulation of Mg and Ca ions at pH 7, which predisposes this organism for further research aimed at optimizing flotation techniques using microorganisms. The development of new solutions would be beneficial for the natural environment as it may contribute to reducing the toxicity of fertilizers as well as post-flotation wastes.

MATERIALS & METHODS

Phosphate ore (particle size: 80-160 μm, time 20 min, pH of the medium 3 and 7) were incubated with following strains of microorganisms: *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Rhodococcus erythropolis* CD 130, *Pseudomonas fluorescens*, and *Escherichia coli*. Incubation was also carried out in control samples at pH 3, 7 and 8.78. After centrifugation, the microorganisms were lyophilized, mineralized and then the metal content in the biological mass was determined using the AAS method.



Adhesion of microorganisms onto dolomite and apatite in phosphate ores from Djebel Onk, Algeria

Hakim Rabia^{1*}, Malek Ould Hamou¹, Maria Augustyniak², Katarzyna Kasperkiewicz², Magdalena Pacwa-Płodniczak³, Jagna Karcz³, Jolanta Brożek⁴, Maria Dzwieñka⁵


¹Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, 10 Avenue Hassen Badi BP 182 El Hamach 16200 Alger, Algérie (hakim.rabia@un.edu.dz);
²Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice, Jagiellońska 28, 40-034 Katowice, Poland
³Department of Microbiology, ⁴Laboratory of Scanning Electron Microscopy, ⁵Department of Zoology, ⁶Department of Animal Physiology and Ecotoxicology)

1. ABSTRACT

Phosphate ores are nonrenewable natural resources, necessary in production of fertilizers and phosphorous-based chemicals. In recent years the use of microorganisms as bio-reagents for purifying substrates is suggested more often. This solution would be more beneficial for the environment, as it can contribute to a reduction in toxicity of flotation waste.

This research is a fundamental study, which aims to describe the level of adhesion and colonization of chosen microorganisms on particles of apatite and dolomite, which are a part of phosphate ores from Djebel Onk, Algeria. Adhesion tests were conducted for: *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Rhodococcus erythropolis* CD 130, *Pseudomonas fluorescens*, and *Escherichia coli* at pH of the medium 3 and 7.

After incubation of minerals with microorganisms, minerals were analyzed in a scanning microscope, and Mg and Ca content was assessed in the biological mass (AAS method).



Fraction: <math><0.040\text{ mm}</math>

Calcite:	5.2%
CFA:	63.8%
Chrysotile:	12.3%
Dolomite:	28.0%
Quartz:	0.1%

Mg: 4391 ppm

Fraction: 0.080-0.125 mm

Calcite:	1.1%
CFA:	61.6%
Chrysotile:	2.1%
Dolomite:	26.1%
Quartz:	6.1%

Mg: 3390 ppm

Fraction: 0.315-0.500 mm

Calcite:	0.3%
CFA:	97.3%
Chrysotile:	0.0%
Dolomite:	2.2%
Quartz:	0.2%

Mg: 2669 ppm

Fraction: 1.000-1.600 mm

Calcite:	3.5%
CFA:	66.2%
Chrysotile:	0.3%
Dolomite:	24.8%
Quartz:	1.4%

Mg: 5213 ppm

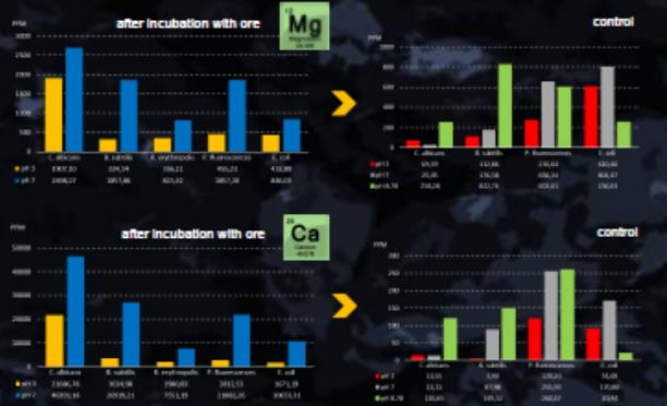
Fraction: >5.000 mm

Calcite:	5.1%
CFA:	63.8%
Chrysotile:	1.8%
Dolomite:	28.0%
Quartz:	0.6%


Mg: 3490 ppm

RESULTS 2.

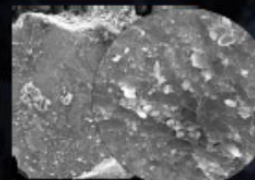
C. albicans colonized dolomite particles more intensively, which can correspond to their high demand for Mg and Ca ions. *B. subtilis* displayed very good colonization of apatite and dolomite particles, but only at pH of 3. In turn however, *R. erythropolis* CD 130 colonized apatite particles to a slightly higher extent. *P. fluorescens* displayed very good colonization of apatite and weak adhesion to dolomite particles in both tested pH values. *E. coli* was also more likely to colonize apatite particles, and displayed almost no adhesion to dolomite particles at pH of 7.



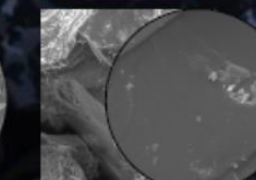
C. albicans on dolomite pH 3



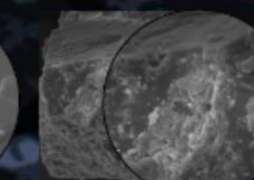
B. subtilis on dolomite pH 3



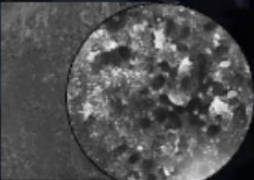
E. coli on dolomite pH 7



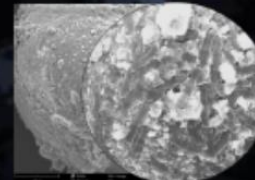
P. fluorescens on dolomite pH 3



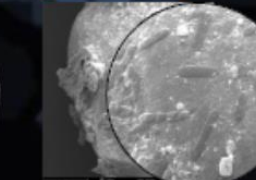
R. erythropolis on apatite pH 3



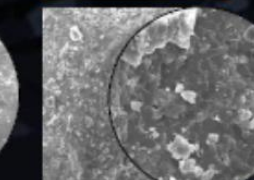
B. subtilis on apatite pH 3



E. coli on apatite pH 7




P. fluorescens on apatite pH 7




ADHESION ONTO MINERALS AND BIOSORPTION OF Mg AND Cd BY *BACILLUS SUBTILIS* AND *CANDIDA ALBICANS*

- FIRST STEP FOR ECO-FRIENDLY BENEFICIATION OF PHOSPHATE ORE



Hakim Rabia¹, Malek Ould Hamou¹, Katarzyna Kasperkiewicz², Maria Augustyniak³

¹Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, Algérie (hakim.rabia@g.enp.edu.dz)
^{2,3}Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice, Poland
²Department of Microbiology, ³Department of Animal Physiology and Ecotoxicology



Introduction

The issue of phosphate ore beneficiation is still an ongoing topic of study in many laboratories around the world. Among many beneficiation methods, flotation is still the most important. However, chemical reagents used in traditional mineral processing can be toxic and hazardous for the environment. Due to the environmental risks posed by conventional methods of ore beneficiation, the use of biotechnological methods is becoming increasingly important. Great hopes are being placed in the use of microorganisms and their metabolic products for bioleaching of metals, but also for biomining and bioremediation. The main aim of this work was an investigation of the interaction of two microorganism species (*Bacillus subtilis* and *Candida albicans*) with minerals included in the natural mixture of phosphate ore from Djebel Onk, Kef Essnoun region, Algeria.

Materials

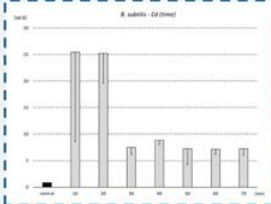
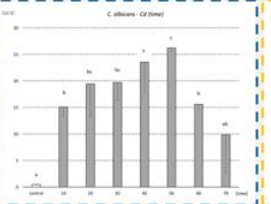
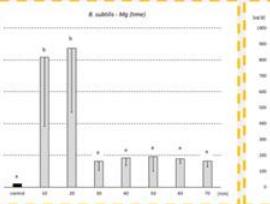

The samples, originated from the Djebel Onk mine, are representative for the entire Kef Essnoun region. Raw material was obtained courtesy of the National Company of Iron and Phosphate FERPHOS. Mechanical preparation of the ore included crushing, grinding and granulometric study. Particles between 80-160 µm in size were used for metal accumulation and adhesion tests. Mineralogical composition of Djebel Onk phosphate ore of 80-160 µm fraction was as follows: fluoroapatite (CFA) 61.6%, dolomite 29.1%, calcite 1.1%, clinoptilolite 2.1%, and quartz 6.1%. Cadmium and magnesium concentration in the sample was 36.8 and 5369.1 mg kg⁻¹.

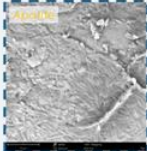
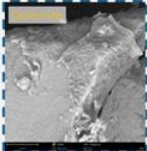
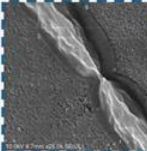
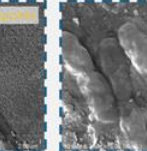
Methods


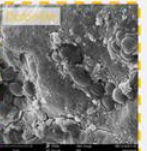
Sterilized samples of 1 g of ore were incubated with *B. subtilis* or *C. albicans* suspended in 50 mL of 0.9% NaCl (28 °C, shaking; 120 rpm, pH 7). Times of incubation were as follows: 10, 20, 30, 40, 50, 60, and 70 minutes. Immediately after incubation the ore were sedimented (5 min), then the microorganism suspension was decanted and centrifuged (at 5000 rpm for 15 min). Biomass was prepared for AAS and ore for SEM analysis. The level of adhesion was also evaluated based on optical density (OD) of suspension in four time-points after incubation (10, 20, 30, 40 min).

Results

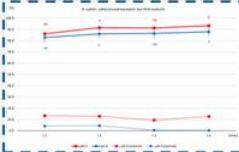
Cd and Mg accumulation in biomass (*B. subtilis* or *C. albicans*) after incubation with phosphate ore up to 70 min

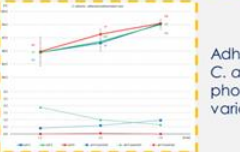





Adhesion/sedimentation [%] of *B. subtilis* onto Djebel Onk phosphate ore after incubation at various pH



Adhesion/sedimentation [%] of *C. albicans* onto Djebel Onk phosphate ore after incubation at various pH



Conclusions

Dolomite particles were colonized by *B. subtilis* at pH 3-4 and *C. albicans* in a wide pH range. Incubation lasting 20 min at pH 4-6 creates the most favorable conditions for biosorption of metals by *B. subtilis* and adhesion of cells. In case of *C. albicans*, biosorption of metals from the solution, as well as adhesion of cells to the mineral surface could be more effective after longer time and in a wider pH range. Further research on these strains in bioprocessing of phosphate ore from Djebel Onk will be continued. Development of new methods of phosphate ore beneficiation would be profitable for the environment, as it may contribute to reducing the toxicity of fertilizers and post-flotation waste.