

# فروشویی زیستی ناپیوسته شبکه معدنی پیریت کانسنگ مقاوم حاوی طلا معادن موته اصفهان با استفاده از مخلوط باکتری‌های لیتوتروف شیمیایی مزوفیل

اعظم نیک نژادی  
کارشناسی ارشد  
دانشگاه آزاد اسلامی تهران - واحد شمال

فرزانه وهاب زاده  
دانشیار  
دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر

حسین غفورپور  
محقق  
مرکز تحقیقات هسته ای سازمان انرژی اتمی ایران

بابک بنکدارپور  
استادیار  
دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر

## چکیده

در استخراج فلزات با ارزش نظیر طلا از کانسنگ‌ها، وجود طبیعتی ویژه از شبکه‌های معدنی سولفیدی استفاده از روش‌های معمول و متداول از قبیل سیانیداسیون را با مسائل و مشکلات متعددی روبرو ساخته است. با توجه به گستره کاربرد فن آوری‌های زیستی و شناخت گروه‌های خاصی از باکتری‌ها در استفاده از مواد معدنی (کسب انرژی لازم برای زیست و حیات) فروشویی زیستی به عنوان بخش پیش عملیاتی در بهبود روند سیانیداسیون مورد ملاحظه قرار گرفته است. در این تحقیق از مخلوط باکتری‌های لیتوتروف شیمیایی مزوفیل: تایوباسیلوس - فرواکسیدانز، تایوباسیلوس - تایواکسیدانز، و لیبیتوسپیرلیوم - فرواکسیدانز در فروشویی زیستی ناپیوسته شبکه معدنی سولفیدی پیریت معادن طلا موته اصفهان استفاده شده است. با توجه به عملکرد باکتری‌های نامبرده بر جزء سولفور و نیز آهن این شبکه معدنی تغییرات غلظت آهن کل محلول و نیز غلظت‌های آهن (II) و (III) به صورت تابعی از زمان اندازه‌گیری شده و ضمن مشخص نمودن مقدار آهن استخراجی به ازاء میزان آهن موجود در نمونه پیریت مورد استفاده و با توجه به دانسیته مواد جامد در محلول، شدت و سرعت این تغییرات محاسبه و میزان حل شدن آهن در محلول فروشویی تعیین گردیده است. نقش این باکتری‌ها در رابطه با مکانیزم اکسیداسیون باکتریایی - شیمیایی پیشنهادی موجود در متون علمی مورد بحث قرار گرفته و نتایج موجود به عملکرد و نقش مثبت و مؤثر مخلوط باکتری‌ها در فروشویی زیستی ناپیوسته دلالت دارند.

## کلمات کلیدی

اکسیداسیون باکتریایی، کانسنگ‌های مقاوم، فروشویی زیستی پیریت سولفیدی، تایوباسیلای، لیتوسپریلای

## Batch Bioleaching of a Gold - Bearing Pyrite of Motah Mine - Isphahan by the mixed Chemolithotrophic Bacterial Cultures

F. Vahabzadeh  
Associate Professor  
Chemical Engineering Department,  
Amirk University of Technology

A. Niknezhadi  
M. Sc Student  
Azad University

B. Bonakdarpoor  
Assistant Professor  
Chemical Engineering Department,  
Amirkabir University of Technology

H. Ghafourian  
Research Assistant  
Nuclear Energy Center of Tran

## Abstract

*In the extraction of number of metal with high unit price such as gold of certain types of sulfidic minerals in the ore makes some difficulties in the way of using common processes such as cyanidation. With reference to the diversity of biotechnology area, many researches have been conducted using microorganisms for treating the refractory ores. Certain groups of bacteria have capacity to use inorganic materials such as minerals to obtain energy for their metabolic activities and living. Considering oxidation and/or solubilization of the sulfidic minerals these reactions could cause the loss of integration of the sulfidic network and result is the liberation of gold from its encapsulating matrix. Microbial solubilization and/or oxidation are the basis for using bioleaching process as a pretreatment of refractory gold-bearing sulfide ores prior to the cyanidation. In this research a mixed cultures of mesophilic chemolithoautotrophic bacteria (*Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*) have been used to conduct batch bioleaching of sulfidic pyrite of Motah mine, - Isphahan. With reference to biological function (s) of each of these three individual bacterial species on iron and sulfur fractions of the pyrite sample the amount of iron extracted was measured and by obtaining the time courses of iron dissolution by the mixed cultures - rate of the bioleaching was determined. Comparing these results with that from using only *T. ferrooxidans*, one could see some improvements. The roles of each of these bacteria in reference to the suggested mechanism and with regards to the results obtained in this research have been discussed. All of these show the positive functions of mixed - bacterial cultures relative to mono - bacterial culture in bioleaching of sulfidic pyrite. Similar findings have been reported by a number of researchers, the results of this work thus could be emphasized in this way.*

## Keywords

*Bacterial Oxidation, refractory ores, bioleaching of Sulfidic pyrite, Thiobacilli, Leptospirilli.*

## مقدمه

استفاده از گروه‌های خاصی از باکتری‌های اسیددوست و اکسیدکننده سولفور و نیز آهن در این ارتباط از استقبال علمی و عملی خوبی برخوردار شده است. از بین رفتن انسجام و یکپارچگی شبکه معدنی کانسنگ مقاوم خود به عنوان شاخصی در آزادسازی فلز با ارزش (طلا برای مثال) در طی فرایند بعدی استخراج (سیانیداسیون) شناسایی شده است (۸). باکتری‌های تایوباسیلوس - فرواکسیدانز، تایوباسیلوس - تایواکسیدانز و لپتوسپیریلیوم - فرواکسیدانز<sup>۴</sup> در این ارتباط از گستره تحقیقات و کاربرد بیشتری برخوردار هستند (۹ و ۸). شبکه معدنی کانسنگ طی مکانیزمی تحت عنوان مستقیم (تماس مستقیم باکتری‌ها بر سطح ماده معدنی) و یا به واسطه آهن (III) موجود در محلول فروشویی و لذا مکانیزم غیر مستقیم (آهن III) خود حاصل کاتالیز اکسیداتیو باکتریایی بر ماده معدنی است) تحت واکنش‌های اکسیداتیو قرار می‌گیرند (۱۰). چند سیستم انرژی در رابطه با واکنش‌های کاتالیتیکی اکسیداسیون سولفور و نیز آهن در باکتری‌های نامبرده شده در فوق شناسایی شده‌اند (۱۴) و ۱۳ و ۱۲ و ۱۱). در مقالات علمی اخیر به استفاده از

کانسنگ‌های مقاوم طلا عبارت اطلاق شده به کانسنگ‌های طلا است که استخراج این فلز از آن با استفاده از روش معمول و متعارف سیانیداسیون<sup>۱</sup> در حد کمتری از هشتاد درصد باشد - به منظور بازیافت اقتصادی طلا، به سطح استخراجی بیش از این حد نیاز است (۱ و ۲). شبکه معدنی کانسنگ مقاوم به تفصیل بررسی شده و عوامل متعددی در ایجاد این شبکه ویژه مورد شناسایی قرار گرفته‌اند (۳ و ۴). در اغلب موارد در این زمینه شبکه سولفیدی آهن (پایریت و یا ارسنوپایریت<sup>۲</sup>) شبکه دربرگیرنده فلز با ارزش است (۵ و ۶). از این رو با به کار گرفتن پیش عملیات اکسیداتیو و شکست شبکه سولفیدی نهایتاً روند سیانیداسیون بر فلز طلا با کارایی بهتر و بیشتری همراه خواهد بود (۷ و ۲). پایرومتالوژی و هایدرومتالوژی<sup>۳</sup> دو گروه اصلی پیش عملیات‌های اکسیداتیو هستند که در گروه اخیر به اهمیت فروشویی زیستی اشاره می‌شود و نکاتی از قبیل به کار گرفتن شرایط اعتدالی و صرفه انرژی و پایین بودن مسائل زیست محیطی از جمله نکات مثبت در استفاده از فن‌آوری‌های زیستی در این زمینه بشمار می‌آیند (۱).

مخلوط باکتری‌های ت. فرواکسیدانز، ت. تایواکسیدانز در فروشویی زیستی شبکه معدنی سولفیدی کانسنگ‌های مقاوم حاوی طلا اشاره شده است (۱۸ و ۱۷ و ۶). با توجه به نقش (ها) تکمیلی باکتری‌های فوق‌الذکر انتظار بر اینست که استفاده از مخلوط این باکتری‌ها به بهبود و افزایش کارایی فروشویی زیستی کانسنگ مقاوم بیانجامد. هدف از اجرای این تحقیق بررسی عملکرد مخلوط باکتری‌های ت. فرواکسیدانز، ت. تایواکسیدانز، ول. فرواکسیدانز در فروشویی زیستی ناپیوسته شبکه سولفیدی پائیریت حاوی طلا موهه اصفهان است.

## مواد و روش‌ها میکروارگانیزم‌ها

کشت‌های خالص باکتری‌ها تهیه شده از مجموعه میکروبی DSM<sup>5</sup> عبارت‌بو دند از: تایو باسیلوس - فرواکسیدانز ۵۸۳، تایو باسیلوس - تایواکسیدانز ۵۰۴ و لپتوسپیرلیوم - فرواکسیدانز ۲۷۰۵. آماده نمودن محیط کشت و نحوه انتقال باکتری‌ها به آن، گرمخانه‌گذاری<sup>۶</sup> و بررسی رشد هر یک از باکتری‌ها مطابق با دستور کار ارسالی از DSM انجام گرفت (۱۹)\*. شمارش تعداد باکتری‌ها (باکتری‌های آزاد در محلول) با به کار گرفتن لام توما<sup>۷</sup> مخصوص شمارش تعداد سلول‌های باکتری و با استفاده از میکروسکوپ نوری (بزرگنمایی  $\times 400$ ) انجام گرفت (۲۰ و ۱۹). در متون علمی به این نکته اشاره شده است که سطح باکتری در ابتدا و در تلقیح در حدی بیش از تعداد  $1 \times 10^6$  سلول به ازاء هر میلیلیتر محلول، بر شدت و سرعت فروشویی زیستی بدون تأثیر می‌باشد (۲۱). با توجه به شمارش سلولی برای هر یک از سه باکتری مورد استفاده در این تحقیق حجم مورد نیاز جهت تهیه مخلوط باکتری‌ها از کشت باکتری (ها) برداشت و نسبت‌های باکتریایی مورد نظر به صورت زیر برای انجام فروشویی ناپیوسته آماده گردید. در تهیه، حجم مخلوط باکتریایی در محدوده ۱۲ ml - ۸/۷۵ به ازاء ۱۰۰ ml محلول فروشویی زیستی بوده است. هر یک از حجم‌های به کار گرفته شده تعداد مناسبی از سلول باکتری را جهت فروشویی زیستی تأمین نمود. نسبت مخلوط باکتری‌ها ت. فرواکسیدانز: ت. تایواکسیدانز: ول. فرواکسیدانز به ترتیب عبارتند از:

$$1:3/2:1/2(\text{tr}^8.1) \quad 1:1:1/2(\text{tr}^3) \quad 1:1:2/1/2(\text{tr}^6) \\ 1:3/2:1/4(\text{tr}^2) \quad 1:1:1/4(\text{tr}^4) \quad 1:1:1(\text{tr}^5)$$

## نمونه کانسنگ

نمونه کانسنگ مورد آزمون در این تحقیق از معادن طلا موهه اصفهان تهیه شده است. شبکه معدنی سولفیدی طی عملیات شناور سازی به شکل تغلیظ یافته درآمده است، میزان پائیریت آن ۶۶/۳٪ گزارش شده است. به منظور تعیین دانه بندی این اجزاء تغلیظ یافته مقدار ۲۰۰ g از این مواد را از الک با اندازه منافذ  $53 \mu\text{m}$  عبور داده شده است، حدود ۲۲/۵٪ بر سطح الک باقی مانده که با توجه به وزن اولیه ماده تغلیظ یافته (۲۰۰ g) حدود ۱۱/۲۵٪ از این مواد بر سطح الک حفظ می‌شود و در نتیجه حدود ۸۸/۷۵٪ از الک مزبور عبور یافته است - به عبارت دیگر دانه بندی نمونه (تغلیظ یافته) پائیریت به نحوی است که ۸۸/۷۵٪ این مواد اندازه‌ای در حد زیر  $53 \mu\text{m}$  داشته اند (۱۹).

## روش فروشویی ناپیوسته

تهیه محلول فروشویی، تهیه مخلوط باکتریایی با داشتن نسبت‌های ویژه از باکتری‌ها و گرمخانه‌گذاری: محلول فروشویی برای کشت مخلوط باکتری‌های ت. فرواکسیدانز، ت. تایواکسیدانز، ول. فرواکسیدانز متشکل از مواد زیر بوده است (۲۲ و ۱۹) (با توجه به دستور کار ارسالی DSM برای کشت و رشد هر یک از باکتری‌ها، برخی از عناصر ضروری برای زیست و رشد این میکروارگانیزم‌ها در بیش از یک شکل شیمیایی به محلول فروشویی اضافه گردیده‌اند):  
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \text{ } ^\circ/4\text{g}$  ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \text{ } ^\circ/4\text{g}$  ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \text{ } ^\circ/4\text{g}$  ;  
 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \text{ } ^\circ/14\text{g}$  ;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \text{ } ^\circ/1\text{g}$  ;  $\text{NH}_4\text{Cl} \text{ } ^\circ/1\text{g}$   
 و ۱ میلیلیتر از محلول عناصر اندک مقدار<sup>۹</sup>. مواد ذکر شده را در یک لیتر آب مقطر حل کرده و pH این محلول را استفاده از محلول ۱N اسیدسولفوریک بر ۸/۱ pH تنظیم شد. سپس به هر یک از هشت ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۳g پائیریت، حجمی از محلول فوق مساوی ۹۰ ml را منتقل نموده و محلول حاصل سپس سترون شد (ده دقیقه در دما  $110^\circ\text{C}$ ). با توجه به درصد پائیریت موجود در نمونه مورد آزمون، مقدار یک گرم نمونه ظاهراً حدود ۰/۳۱g آهن در یکصد میلیلیتر محلول را تأمین می‌نماید (۱۹). با در نظر گرفتن محدودیت‌های موجود در رابطه با گرمخانه همزن دار در دست و ضرورت به کار گرفتن ارلن مایرهایی با حجم نسبی پایین و نیز نتایج بدست آمده از آزمایش مقدماتی بر باکتری ت. فرواکسیدانز، نهایتاً سطح غلظتی کانسنگ در تحقیق در دست در حد ۳٪ انتخاب گردید. سپس محلول باکتری‌ها را با توجه به نسبت‌های باکتریایی در نظر گرفته شده به شرح مورد اشاره در فوق، به محلول فروشویی اضافه نموده و ارلن مایره‌های حاوی این مجموعه توضیح داده شده را به گرمخانه همزن دار منتقل نموده و با تنظیم دما و دور چرخش

همزن به ترتیب °C ۳۰ و rpm ۱۰۰، بررسی روند فروشویی زیستی ناپیوسته آغاز گردید. آنگاه در فواصل زمانی معین و با استفاده از ارتوفونوترولین و با به کارگرفتن روش طیفسنجی نوری ( $\lambda = 515\text{nm}$ ) مقادیر جذب نور ترکیبات مجتمع رنگی قرائت و مقدار آهن (II) و آهن کل محلول (برحسب آهن (II)) اندازه‌گیری و تعیین شد. تغییرات غلظت آهن (II) در منحنی معیار استاندارد در محدوده ۱۰-۲۰ ppm قرار دارد (۲۳ و ۱۹).

## نتایج و تفسیر

در طی انجام یک آزمایش مقدماتی نقش کاتالیتیک اکسیداتیو باکتری ت. فراواکسیدانز بر نمونه پائیریت در سه سطح غلظتی کانسنگ (۱، ۳، ۵٪) مورد بررسی قرار گرفت. در سطح غلظتی ۳٪ که نهایتاً در ادامه کار و برای دیگر آزمایش‌های فروشویی زیستی نیز این سطح در نظر گرفته شد، مقدار آهن کل محلول و نیز مقدار آهن (II) (mg/L) به عنوان تابعی از زمان (روز) محاسبه و نتیجه (مقدار آهن کل محلول) در شکل (۱) ارائه شده است. تغییرات زمانی غلظت آهن کل در محلول به واقع نشانگر شدت و سرعت حل شدن آهن موجود در شبکه پائیریت بوده که با در نظر گرفتن وضعیت آهن کل محلول، شدت و سرعت فروشویی زیستی نمونه پائیریت قابل اندازه‌گیری بوده، محاسبه می‌شود. با توجه به تغییرات زمانی مقدار آهن کل محلول به ازاء سه سطح غلظتی (کانسنگ<sup>۱۰</sup>) مورد استفاده در این آزمایش، سطح غلظتی ۳٪ ازسیر تغییراتی بهتری برخوردار بوده و در فاصله ۱۴ تا ۱۸ روز فروشویی زیستی سیر صعودی خوبی را دارد (شکل ۱). سطوح غلظتی کانسنگ در حد ۵٪ و ۱ هر یک، نوسانات تغییراتی نسبتاً قابل ملاحظه‌ای داشته و مقدار آهن کل محلول در ۱۸ روز نیز در حد نسبتاً کمتری از مقدار آهن کل از برای فروشویی زیستی در سطح غلظتی ۳٪ می‌باشد (به شکل ۱ توجه شود). نقش کاتالیتیک باکتری‌ها بر کانسنگ‌های سولفیدی آهن درگیر هر دو نوع مکانیزم مستقیم و غیر مستقیم است (۳). در سطح غلظتی پایین کانسنگ نظیر ۱٪ می‌توان به مقدار و کمیت کمتر اتصال یافتگی باکتری‌ها به کانسنگ اشاره نمود. ضمن آنکه با افزایش سطح غلظتی کانسنگ از شدت و سرعت اکسیداسیون زیستی کانسنگ‌ها نیز کاسته می‌شود (۹). برای مثال با استفاده از راکتور همزن دار (ظرفیت دولیتری) بهترین سطح غلظتی کانسنگ پائیریت در اکسیداسیون توسط ت. فراواکسیدانز در حد ۵٪ تعیین شد (۹). با توجه به محدودیت‌های ذاتی موجود در فروشویی زیستی در فلاسک‌های ارلن مایر، در این تحقیق در دست سطح غلظتی

کانسنگ در حد ۳٪ انتخاب شد.

در بسیاری از تحقیقات انجام شده بر فروشویی زیستی پائیریت با استفاده از ت. فراواکسیدانز کاهش تدریجی آهن (II) متناسب به اکسیداسیون آهن توسط باکتری بوده و ضمن افزایش مقدار آهن (III) تغییری در مقدار آهن کل حاصل نمی‌گردد (۲۵). در واقع اظهار بر اینست که تغییرات مقدار آهن کل شاخص مناسبی جهت پیگیری روند فروشویی زیستی (ت. فراواکسیدانز) نمی‌باشد (۲۵ و ۲۴). در حالیکه در مواردی دیگر به ویژه در استفاده از کشت‌های باکتریایی مخلوط تغییرات زمانی مقدار آهن کل در فروشویی زیستی جهت پیگیری کار مورد ملاحظه قرار گرفته است (۵). در تحقیق در دست از روند تغییرات آهن کل حل شده در محلول استفاده شد و با بکار گرفتن ت. فراواکسیدانز حتی در سطح غلظتی کانسنگ ۳٪ زمان مکث و توقف نسبتاً قابل ملاحظه‌ای در به محلول درآمدن آهن پائیریت مشاهده می‌شود (به شکل ۱ توجه شود). با استفاده از کشت مخلوط باکتری‌ها زمان توقف و ایستایی در روند فروشویی به حداقل رسیده و در مواردی نیز حذف شده است. نتایج حاصل از تغییرات شدت و سرعت به محلول در آمدن آهن برای شش تیمار فروشویی زیستی مورد بررسی در این تحقیق در شکل ۲ ارائه شده است. حد متوسط این شدت و سرعت فروشویی زیستی در سطح ۲۲۲ wt% / ۰ به ازاء ۲۴ ساعت می‌باشد. در تحقیقی دیگر میانگین شدت و سرعت فروشویی زیستی پائیریت با استفاده از مخلوط ویژه‌ای از ت. فراواکسیدانز جداسازی شده از شبکه معدنی سولفیدی طبیعی در حد ۸۷ wt% / ۰ به ازاء ساعت گزارش شده است که با تطبیق و سازگاری این مخلوط ویژه باکتریایی به کانسنگ سولفیدی به مدت زمان چهار - دوازده هفته شدت و سرعت فروشویی زیستی به حد تقریبی نه برابر افزایش یافته است (۸). سیر زمانی تغییرات مقدار آهن کل در محلول برای شش تیمار فروشویی زیستی در شکل ۳ نشان داده شده است. روند تغییرات برای دو تیمار در مقایسه با سایر تیمارها از موقعیت بهتری برخوردار است. درصد آهن استخراجی (آهن به محلول در آمده به آهن موجود در ۳ گرم نمونه پائیریت  $\times 100$ ) برای دو تیمار مزبور در محدوده ۵/۳-۵/۵ (جدول ۱). در تیمار ۶ در مقایسه با تیمار ۲ کاستن از بار اولیه میکروبی ت. تایواکسیدانز و رساندن آن به سطح پایه‌ای جمعیت باکتریایی ت. فراواکسیدانز و در همراهی با سطح پایینتر ل. فراواکسیدانز به عملکرد بهتر مخلوط باکتریایی در اکسیداسیون زیستی شبکه سولفیدی انجامیده است و مرحله تأخیر و مکث زمانی (تطبیق و سازگاری یافتن زیستی) در این تیمار حذف شده است (شکل‌های ۴ و ۳). سیر زمانی

تغییرات غلظتی آهن (III) در تیمار ۶ در مقایسه با این تغییرات در تیمار ۲ در حد کمتری بوده و نسبت  $\frac{Fe(III)}{Fe(II)}$  در این تیمار بیش از این نسبت در تیمار ۲ می باشد (۱۹). محتمل است که در تیمار ۶ جمعیت مخلوط باکتری ها به نقشی مشابه با نقش ت. تایواکسیدانز نزدیکتر عمل نموده در حالیکه در تیمار ۲ جمعیت مخلوط میکروبی در وضعیتی اکسیداتیو در شباهت با نقش ت. فرواکسیدانز عمل می نماید. در فروشویی زیستی شبکه معدنی کانسنگ سولفیدی توسط مخلوط باکتری های ت. فرواکسیدانز و ت. تایواکسیدانز، نقش این مخلوط میکروبی در محیطی با فسفات کمتر به نقش ت. تایواکسیدانز شباهت بیشتری داشته و در استخراج مس و روی نیز این مخلوط در شرایط تعریف شده آزمایشگاهی مؤثرتر عمل نموده است (۱۷ و ۱۶). در حالیکه در محیطی با مقدار بالا فسفات نقش مخلوط باکتریایی به ت. فرواکسیدانز شباهت داده شده است که با حد کمتر استخراج فلزات مزبور نیز همراه بوده است (۱۷). لپتوسپیرلیوم - فرواکسیدانز در سطح سلولی بکار گرفته شده در تیمار ۲ از نقشی بهبوده دهنده بر عملکرد مخلوط باکتریایی کمتر بهره برده است و سازگاری یافتن زیستی این مخلوط در فاصله زمانی ۱۳-۷ روز و در مقایسه با این روند از برای تیمار ۶ با مکث بیشتری همراه است (به شکل های ۴ و ۳ توجه شود). البته اضافه نمودن بار سلولی اولیه ل. فرواکسیدانز در رساندن آن به سطحی برابر با جمعیت سلولی دو باکتری دیگر (تیمار ۶) به ایفای نقش مؤثرتری برای ل. فرواکسیدانز در همراه با دو باکتری دیگر منجر شده است. حداکثر ظرفیت کاتالیتیک اکسیدکنندگی آهن (II) توسط ل. فرواکسیدانز در حدود ۴۰٪ این ظرفیت اکسیداتیو در ت. فرواکسیدانز می باشد (۲۷) و (۲۶). از این رو افزایش سطح سلولی اولیه امکاناً در کمیّت ابران فعالیت ل. فرواکسیدانز مؤثر می باشد.

ابراز نقش تکمیلی زیستی میکروارگانیزم ها نسبت به یکدیگر دارای ویژگی مهمی است. در جهت کسب انرژی از مواد معدنی مکانیزم ابران نقش و عمل ت. تایواکسیدانز و ت. فرواکسیدانز به کانسنگ سولفیدی اساساً با یکدیگر متفاوت است (۱۷). ت. تایواکسیدانز در تماس مستقیم با شبکه پایریت انجام اکسیداسیون انزیمی (سولفور دی اکسیژنیز<sup>۱۱</sup>) جزء سولفیدی را بدون داشتن ترجیحی نسبت به فلز به دام افتاده در این شبکه به عهده دارد (۱۷ و ۱۳). با تولید اسیدسولفوریک و نیز با از بین رفتن انسجام و یکپارچگی شبکه سولفیدی، آهن (III) شبکه به محلول فروشویی رها می شود. آهن (II) حاصله در شرایط اسیدی از پایداری قابل ملاحظه ای در محلول برخوردار است (۲۸ و ۱۰ و ۳). اهمیت نقش کاتالیتیک ت. فرواکسیدانز و نیز ل. فرواکسیدانز در

اکسیداسیون انزیمی آهن (II) است (۱۰ و ۴). آهن (III) حاصله در شرایط اسیدی موجود، در محلول باقی مانده و در نقشی کاتالیتیک فروشویی (شیمیایی) غیر مستقیم پایریت را بعهده می گیرد (۱۰). با تولید آهن (II) و سولفور عنصری در این مرحله و اکسیداسیون این دو جزء در مرحله بعدی توسط ت. فرواکسیدانز و نیز ت. تایواکسیدانز چرخه کاتالیتیک انزیمی باکتریایی تکمیل می شود. در حضور آهن (II) و نیز سولفور عنصری ترجیح ت. فرواکسیدانز بر اکسیداسیون جزء آهن است ضمن آنکه کاتالیز اکسیداسیون سولفور در ت. فرواکسیدانز به عهده انزیم سولفور-یون فریک اکسیدوریداکتیز<sup>۱۲</sup> بوده و جهت انجام این واکنش کاتالیتیک تماس این انزیم با سولفور ضروری نمی باشد (۱۱).

باکتری های مورد استفاده در این تحقیق در دست از مجموعه کشت میکروبی خالص (DSM) تهیه شده و هیچگونه سازگاری زیستی نیز بر آن صورت نگرفت. از این رو میزان آهن استخراجی و نیز میانگین شدت و سرعت فروشویی برای تیمارهای مختلف که در آنها از مخلوط باکتری ها به نسبت های متفاوت استفاده شده است را می توان نتایجی نزدیک به واقعیت موجود دانست. مسأله تطبیق یافتگی زیستی و نیز شناسایی و جداسازی گونه های بومی باکتری های مورد اشاره مسلماً بهبود عملکرد میکروارگانیزم ها را در فروشویی به دنبال خواهد داشت.

### نتیجه گیری

فروشویی زیستی شبکه معدنی پایریت با روش ناپیوسته و با استفاده از کشت باکتریایی خالص، تهیه شده از مجموعه میکروبی DSM انجام گردید. باکتری های ت. فرواکسیدانز، ت. تایواکسیدانز، ول. فرواکسیدانز را با توجه به تعداد و جمعیت سلولی با نسبت های ویژه ای با یکدیگر مخلوط نموده و با توجه به نقشی اصلی که به صورتی عام در فروشویی های زیستی به باکتری ت. فرواکسیدانز نسبت داده می شود در مخلوط باکتری ها حد پایه ای برای این باکتری در نظر گرفته شد. تایوباسیلوس - تایواکسیدانز در نسبت های برابر با و یا بیشتر از حد ت. فرواکسیدانز و باکتری ل. فرواکسیدانز در نسبت های کمتر از بخش پایه ای ت. فرواکسیدانز اجزاء تشکیل دهنده مخلوط باکتری ها بوده اند. با توجه به میزان آهن در محلول و نیز شدت و سرعت محاسبه شده برای فروشویی، همراهی باکتری ها با یکدیگر در نسبت ل. فرواکسیدانز ۱/۴ : ت. تایواکسیدانز ۳/۲ : ت. فرواکسیدانز ۱ در مقایسه با مقادیر مربوطه از برای سایر نسبت های باکتریایی به صورت مؤثرتری در فروشویی

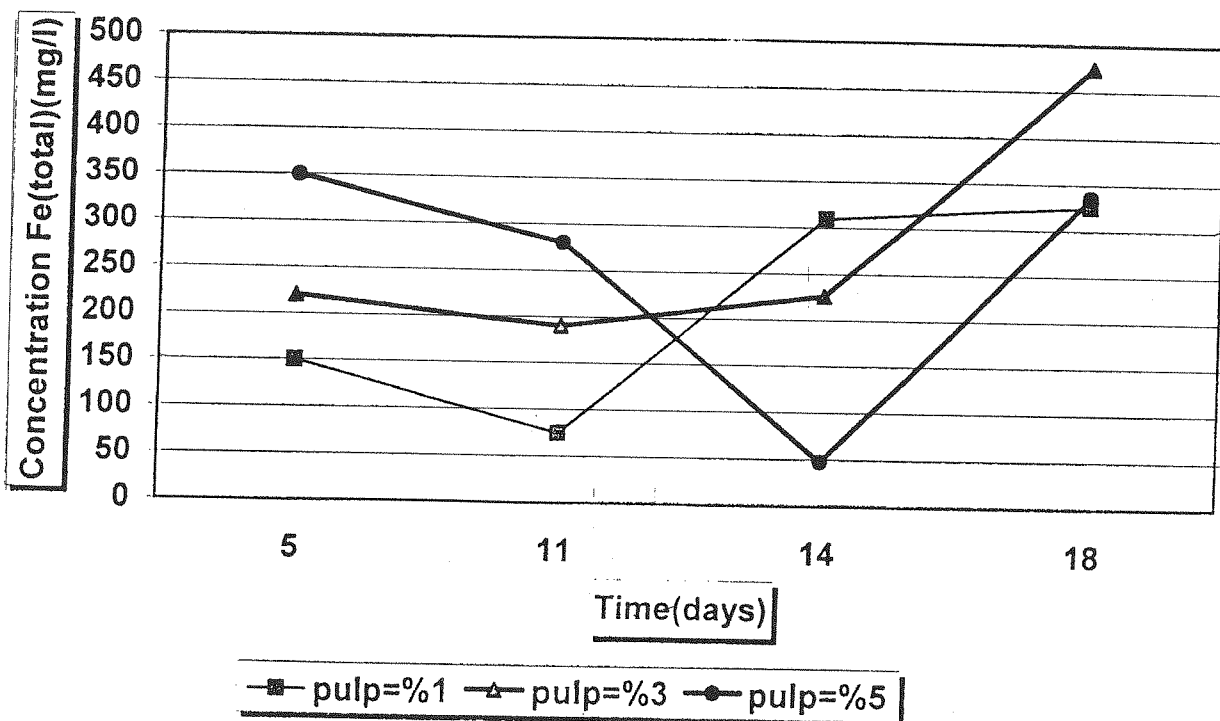
نیز در مواردی شناسایی گونه باکتری‌های مورد استفاده در فواصل زمانی و انجام شمارش سلولی (امکاناً به تفکیک گونه) در این زمان‌ها همگی در تحلیل نتایج کسب شده و ارائه ترسیمی به واقعیت نزدیک از مکانیزم کاتالیتیک (آنزیمی و شیمیایی) عواملی مهم و تعیین کننده بوده و در داشتن نگرشی از کل به جزء در روند فروشویی زیستی بسیار مؤثر خواهند بود.

### تشکر و قدردانی

از نظرات و مشاوره علمی بسیار گرانقدر جناب آقای دکتر علی عظیمی همکارگرمی و ارجمندمان در شرکت مس ایران که در مسیر فروشویی زیستی فلزات با ارزش تحقیقات گسترده و خوبی را به انجام رسانده‌اند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

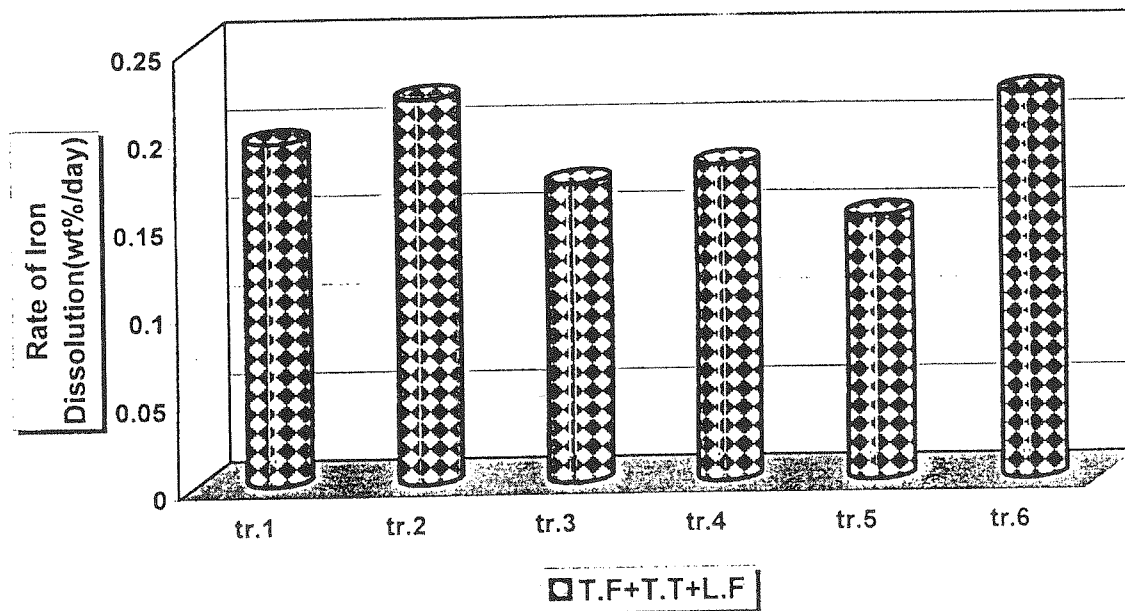
زیستی نقش داشته است. نقش بهبود دهنده مخلوط باکتری‌ها بر فروشویی زیستی شبکه معدنی سولفیدی در مقالات علمی مورد تأیید قرار گرفته است. مکانیزم اکسیداسیون باکتریایی می‌تواند مجموعه‌ای پیچیده از واکنش‌های کاتالیتیک آنزیمی و شیمیایی باشد که هر یک از باکتری‌ها به ترتیبی تکمیلی نسبت به دیگری و از طریق مستقیم و با در تماس قرار گرفتن با شبکه معدنی و یا به صورتی غیر مستقیم و با حضور داشتن در محلول، می‌توانند در همجواری زیستی با یکدیگر این مهم را به انجام رسانند. با توجه به نقش تعیین کننده متغیر زمان در کارایی فروشویی زیستی نبود تأخیر و مکث زمانی در سیر تغییرات به محلول در آمدن آهن توسط مخلوطی خاص از باکتری‌ها به بهبود کارایی فروشویی زیستی کانسنگ سولفیدی آهن کمکی مؤثر بشمار می‌آید. ضمن آنکه پیگیری روند کار با ثبت سیر زمانی تغییرات پتانسیل اکسیداسیون - احیاء محلول فروشویی و

T.F



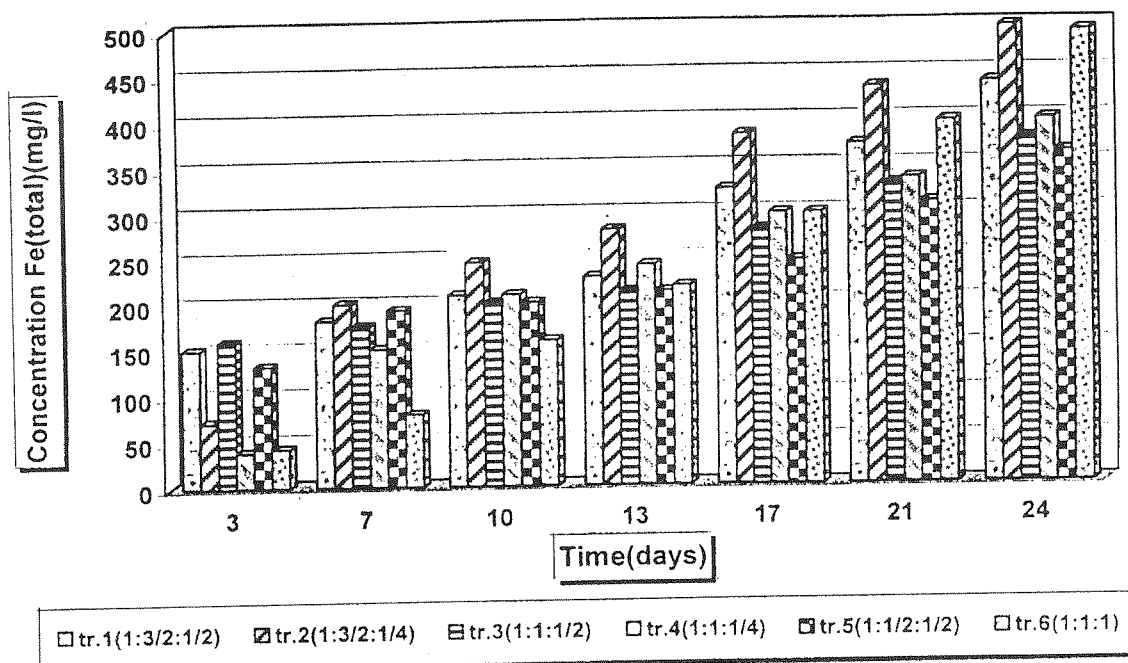
شکل (۱) سیر تغییرات زمانی آهن کل محلول در طی فروشویی زیستی ناپیوسته پایریت با استفاده از محلول باکتریایی ت. فرواکسیدانز - دانسیته مواد جامد در محلول در سه سطح ۵ و ۳ و ۱ درصد در نظر گرفته شده است.

## IRON DISSOLUTION (wt%/day)



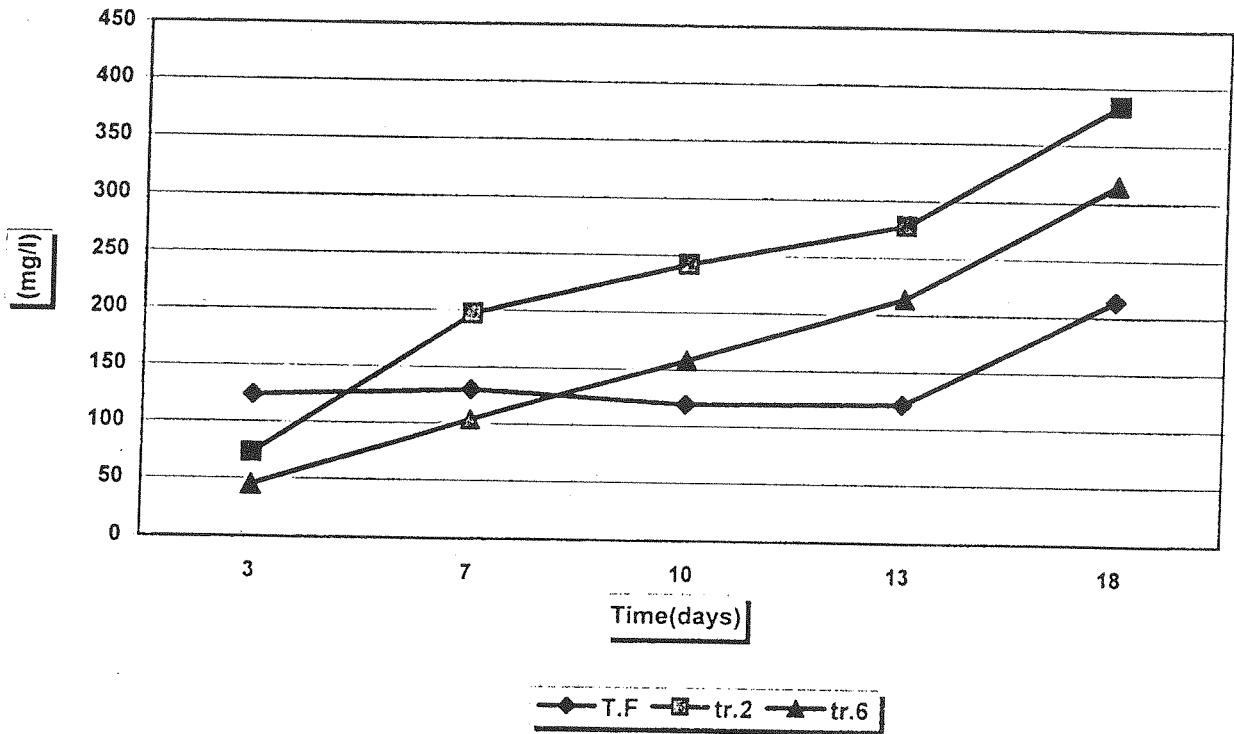
شکل (۲) شدت و سرعت به محلول در آمدن آهن در طی فروشویی زیستی نایبوسنه پائیریت با استفاده از مخلوط های باکتریایی مختلف (درصد وزنی به ازاء روز) (برای توضیحات به متن مراجعه شود).

## T.F+T.T+L.F



شکل (۳) غلظت آهن کل محلول در طی فروشویی زیستی نایبوسنه پائیریت به عنوان تابعی از زمان: مقایسه مخلوط های باکتریایی مختلف در طی شش تیمار.

### Concentration Fe(total)



شکل (۴) فروشویی زیستی ناپیوسته پابریت: مقایسه دو مخلوط باکتریایی (۱ (T.F.): ۱ (T.T.): ۱ (L.F.) (tr.۶) و ۱ (T.F.): ۳/۲ (T.T.): ۱/۲ (L.F.) (tr.۲) با تیمار حاوی تک باکتری ت. فرواکسیدانز. فرواکسیدانز.

جدول (۱) فروشویی زیستی ناپیوسته پابریت توسط مخلوط باکتری های ت. فرواکسیدانز: ت. تایواکسیدانز: ل. فرواکسیدانز با نسبت های مختلف.

درصد آهن استخراجی (میلیگرم / ۳g نمونه پابریت)

روز	۲۴	۲۱	۱۷	۱۳	۱۰	۷	نسبت (سلولی) باکتریها در مخلوط*
۴/۶۸	۳/۹۵	۳/۴۳	۲/۴۱	۲/۱۸	۱/۹۱	۱/۶۲	۱:۳/۲:۱/۲
۵/۳۳	۴/۶	۳/۹۷	۲/۹۷	۲/۶	۲/۱	۰/۷۶	۱:۳/۲:۱/۴
۳/۹۸	۳/۴۷	۲/۹۸	۲/۲۵	۲/۱۱	۱/۸۷	۱/۶	۱:۱:۱/۲
۴/۲۷	۳/۵۶	۳/۱۵	۲/۵۲	۲/۱۸	۱/۶۲	۱/۴۵	۱:۱:۱/۴
۳/۸۳	۳/۲۹	۲/۷۷	۲/۲۵	۲/۱۵	۲/۰۴	۱/۳۸	۱:۱/۲:۱/۲
۵/۳۰	۴/۲۲	۳/۱۸	۲/۲۹	۱/۶	۰/۸۲	۰/۴۱	۱:۱:۱

\* ت. فرواکسیدانز: ت. تایواکسیدانز: ل. فرواکسیدانز



- 1- cyanidation
- 2-pyrite, arsenopyrite
- 3-pyrometallurgical and hydrometallurgical treatments
- 4-Thiobacillus ferrooxidans (T.F) Thiobacillus thiooxidans (T.T) Leptospirillum ferrooxidans (L.F.)
- 5- Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen (DSM)
- 6- intubator
- 7- Thoma counting chamber (counting chamber - haemocytometer)
- 8- tr (or treatment)

۹- محلول عناصر اندک مقدار متشکل از مواد زیر می باشد (به ازاء حجم ۱ لیتر):

$H_3BO_3$  ۳۱mg;  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  ۱۲mg;  $CuCl_2 \cdot H_2O$  ۸۵mg;  
 $ZnCl_2$  ۷۰mg;  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  ۱۰۰mg;  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  ۱۲۰mg;  
 10- pulp density

11- sulfur dioxygenase

12- sulfur - ferric ion oxidoreductase

\* نشانه ها و علائم ظاهری رشد: ت. ت. یو اکسیدانز: ایجاد کدورت، ته نشین گردیدن گوگرد - اندازه گیری pH اسیدی تر شدن محیط کشت را نشانگر بوده است. ت. فرو اکسیدانز: ایجاد کدورت، پدیدار شدن رنگ قرمز آجری و افزایش میزان رنگ. ل. فرو اکسیدانز: در برقراری رشد به زمان بیشتری نیاز بود، ایجاد کدورت، پدیدار گشتن رنگ قرمز آجری و افزایش رنگ.

## مراجع

- [1] Iglesias, N. and Carranza, F. 1994. Refractory gold - bearing ores: a review of treatment methods and recent advances in biotechnological techniques, Hydrometallurgy, 34:383.
- [2] Porro, S.; Ramirez, S.; Reche, C; Curutchet, G.; Romanwsk; S.; and Donati, E. 1997. Bacterial attachment: its role in bioleaching processes, Process Biochemistry, 32 (7): 573.
- [3] Barrett, J. Hughes, M., Karavaiko, G. and Spencer, P. 1993. Metal Extraction by Bacterial Oxidation of Minerals, Ellis Horwood limited.
- [4] Battalia, F.; Hugues, P.; Cabral, T.; Cezac, P.; Garcia, J., and Morin, D. 1998. The mutual effect of mixed thiobacillii Thiobaulli, and leptospirilli populations on pyrite bioleaching, Minerals Engineering, 11 (2): 195.
- [5] Currelis L.; Loi, G.; Peretti, R.; Rossi, G.; Trois, P., and Zucca, A. 1997. Gold recovery enhancement from complex sulfide ores through combined bioleaching and cyanidation, Minerals Eng. 10 (6): 567.
- [6] Hansford, G. and Chapman, J. 1992. Batch and continuous biooxidation kinetics of a refractory gold-bearing pyrite concentrate, Minerals Engineering, 5 (6): 597.
- [7] Hansford, G. and Miller, D. 1993. Biooxidation of a gold - bearing pyrite-arsenopyrite concentrate, FEMS Microbiology Reviews, 11:175.
- [8] Attia, Y. and Elzaky, M. 1991. Effect of bacterial adaptation and solution replacement on bioleaching of sulfidic gold ores, Minerals and Metallurgical Processing, August Issue: 122.
- [9] Kominitas, C. and Pooly, F. 1990. Bacterial oxidation of an arsenical gold sulfide concentrate from Olympias, Greece, Minerals Engineering, 3 (3/4): 295.
- [10] Jorgensen, B. 1983. The microbial sulfur cycle. In Microbial Geochemistry (ed). W. Krumbein, Blackwell Scientific Publications.
- [11] Sugio, T.; Mizumashi, W.; Inagaki, K., and Tano, T. 1987. Purification and some properties of sulfur: ferric ion oxidoreductase from Thiobacillus ferrooxidans, J. Bacteriol. 169: 4616.
- [12] Sugio, T.; Katagiri, T.; Inagaki, K., and Tano, T. 1989. Actual substrate for elemental sulfur oxidation by sulfur: ferric ion oxidoreductase purified from Thiobacillus ferrooxidans, Biochimica et Biophysica Acta, 973:250.
- [13] Suzuki, I. 1965. Oxidation of elemental sulfur by an enzyme system of Thiobacillus thiooxidans, Biochimica et Biophysica Acta, 104:359.
- [14] Suzuki, I. 1990. Ferrous iron and sulfur oxidation and ferric iron reduction activities of Thiobacillus ferrooxidans are affected by growth on ferrous iron, sulfur, or a sulfide ore, Appl. Environ. Microbiol. 56:1620.
- [15] Suzuki, I.; Lizama, H., and Tackaberry, P. 1989. Competitive inhibition of ferrous iron oxidation by Thiobacillus ferrooxidans by increasing concentrations of cells. Appl. Environ. Microbiol. 55:1117.
- [16] Lizama, H. and Suzuki, I. 1989. Rate equation and kinetic parameters of the reactions involved in pyrite oxidation by Thiobacillus ferrooxidans,

- Appl. Environ microbiol. 55:2918.
- [17] Lizama, H. and Suzuki, I. 1988. Bacterial leaching of sulfide ore by *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*: I. shake flask studies, *Biotechnol. and Bioeng.* 32:110.
- [18] Sand, W.; Rohde, K.; Sobotke, B., and Zeneck, C. 1992. Evaluation of *leptospirillum ferrooxidans* for leaching *Appl. Environ Microbiol.* 58:85.
- [۱۹] نیک نژادی - منیراعظم، ۱۳۷۸، اکسیداسیون زیستی شبکه سولفیدی پایریت معان طلا موته توسط کشت مخلوط باکتری ها - پایان نامه کارشناسی ارشد - دانشگاه آزاد اسلامی - تهران.
- [20] Singleton, P. and D. Sainsburg, 1994. *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*, P. 231-233. John Wiley and Sons.
- [21] Olson, G. 1991. Rate of pyrite bioleaching by *Thiobacillus ferrooxidans*: results of inter-laboratory comparison, *Appl. Environ. Microbiol.* 57:642.
- [22] Silverman, M. and lundgern, D. 1959. Studies on the chemoautrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*. I. an improved medium and harvesting procedure for securing high cell Y, *J. Bacteriol.* 77:642.
- [23] Skoog, D.A. and D. West, 1976. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 3rd ed., P. 330-332, Holt Rinehart and Winston Publisher.
- [24] Norris, P. and Owen, J. 1993. Mineral sulfide oxidation by enrichment cultures of novel thermoacidophilic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 11:51.
- [25] Modka, J.; Natarajan, K., and Mukhopadhyay, S. 1996. Development of temperature tolerant strains of *Thiobacillus ferrooxidans* to improve bioleaching kinetics, *Hydrometallurgy* 42:51.
- [26] Espejo, R.; Escobar, B.; Jedlicki, E.; Uribe, P., and Ohlbaum, R. 1988. Oxidation of ferrous iron and elemental sulfur by *Thiobacillus ferrooxidans*, *Appl Environ Microbiol.* 54:1694.
- [27] Scherpenzeel, D.; Boon, M.; Ras, C.; Hansford, G., and Heijnen, J. 1998. Kinetics of ferrous iron oxidation by *leptospirillum* bacteria in continuous cultures, *Biotechnol. Prog.* 14:425.