

## Bakteriálna asimilačná redukcia železa v úprave nerudných surovín

Iveta Štyriaková<sup>1</sup>, Peter Malachovský<sup>2</sup>, Igor Štyriak<sup>3</sup> a Miroslava Luxová<sup>1</sup>

### *Bacterial assimilation reduction of iron in the treatment of non-metallics*

*Natural non-metallics, including granitoids and quartz sands, often contain iron which decreases the whiteness of these raw materials.*

*Insoluble Fe<sup>3+</sup> in these samples could be reduced to soluble Fe<sup>2+</sup> by bacteria of Bacillus spp. and Saccharomyces spp. The leaching effect, observed by the measurement of Fe<sup>2+</sup> concentration in a solution, showed higher activities of a bacterial kind isolated from the Bajkal lake and also by using of yeast Saccharomyces sp. during bioleaching of quartz sands. However, all kinds of Bacillus spp. isolated from the Slovak deposit and from Bajkal lake were very active in the iron reduction during bioleaching of the feldspar raw material. This metal was efficiently removed from quartz sands as documented by the Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> decrease (from 0,317 % to 0,126 %) and from feldspars raw materials by the Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> decrease (from 0,288 % to 0,115 %) after bioleaching. The whiteness of these non-metallics was increased during a visual comparison of samples before and after bioleaching but samples contain selected magnetic particles.*

*A removal of iron as well as a release of iron minerals from silicate matrix should increase the effect of the magnetic separation and should give a product which is suitable for industrial applications.*

**Key words:** feldspars, quartz sands, bioleaching, Bacillus sp., iron reduction

### Úvod

Železo je štvrtým najrozšírenejším kovom v zemskej kôre a nachádza sa v zemskej kôre v rôznych minerálnych formách. Schopnosť Fe podliehať reverzibilnej oxidácii a redukcii pri zvetrávacích procesoch hrá významnú úlohu v biogeochemii, ako aj pri deferitizácii nerudných surovín.

Zvetrávanie spojené so vznikom ílových minerálov má veľký praktický dosah na jednej strane pre obsah nežiaducich prímies v nerudných surovinách a na druhej strane umožňuje vysvetliť mnohé zvláštnosti procesov zvetrávania hornín, a tým formovania suroviny určitej kvality. V kolobehu železa pri oxidačných a redukčných reakciách významnú úlohu hrajú mikroorganizmy. Železo slúži ako energetický zdroj pre niektoré mikroorganizmy (Barns a Nierzwicki-Bauer, 1997). Mikrobiálna produkcia organických kyselín fermentáciou alebo reduktívna disolúcia Fe – Mn minerálnych fáz môže významne akcelerovať zvetrávanie alumosilikátových minerálov (Welch a Ullman, 1996; Ehrlich, 1996; Bennett et al., 1996). Všetka redukcia železa v prírode je spôsobená biologickou katalýzou (Lovley, 1991).

V mnohých ílových ložiskách červená a žltá pigmentácia je spôsobená hlavne rôznymi formami oxidov, hydroxidov a oxyhydroxidov Fe<sup>3+</sup>, ako sú hematit, maghemit, goethit, lepidokrokrit, ferihydrit. Tieto oxidy a hydroxidy sa vyskytujú buď ako povrchovo viazané na individuálnych zrnách, alebo ako samostatné častice v ílovej mase (Ambikadevi a Lalithambika, 2000). Na zmenu farby ložiska kvantitatívne postačuje obsah nižší ako 0,4 % Fe<sup>3+</sup>. Odstránenie týchto nečistôt zvýši kvalitu suroviny a umožní jej široké využitie vo výrobe napr. rôznych druhov skla z kremenných pieskov, alebo pri výrobe papiera a tiež ako prídavky do farbív a polymérov.

V súčasnosti sa pri skvalitňovaní nerudných surovín využívajú fyzikálne (plavenie a magnetická separácia), fyzikálnochemické (flotácia) a chemické (lúhovanie anorganickými kyselinami) procesy. Žiadny z týchto procesov nebol celkom úspešný pre univerzálnu aplikáciu, nakoľko tieto procesy sú často drahé a hlavne vedú k vzniku nežiaducich komponentov, ktoré sú typicky spracovávané neutralizáciou, precipitáciou a recykláciou vody.

Vysokointenzívna magnetická separácia je štandardná metóda využívaná na odstránenie samostatných minerálnych častíc Fe-Ti minerálov z nerudných surovín. Chemické metódy pozostávajúce z lúhovania surovín anorganickými kyselinami a redukčnými činidlami, ako sú sodium dithionit a aluminium sulfát, oxid siričitý a práškový hliník, alebo oxid siričitý a práškový zinok, sú často vhodné pre získanie vysokého stupňa odstránenia železa, ktoré často obaluje minerálne častice surovín, ale sú veľmi drahé a environmentálne nebezpečné.

<sup>1</sup> Iveta Štyriaková, Miroslava Luxová, Department of Biotechnology, Institute of Geotechnics of the Slovak Academy of Sciences, Watsonova 45, 05343 Košice, Slovakia, [bacil@saske.sk](mailto:bacil@saske.sk), [luxova@saske.sk](mailto:luxova@saske.sk)

<sup>2</sup> Peter Malachovský, Kerko a.s., Tomášiková 35, 043 22 Košice

<sup>3</sup> Igor Štyriak, Department of Microbiology, Institute of Animal Physiology of the Slovak Academy of Sciences, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, [styriak@saske.sk](mailto:styriak@saske.sk)

(Recenzovaná a revidovaná verzia dodaná 9. 9. 2005)

Biotechnologické spracovanie silikátových surovín predstavuje novú alternatívnu cestu účinného skvalitnenia nerudných surovín v kombinácii s elektromagnetickou separáciou. Tento proces by bolo vhodné využiť aj na Slovensku, nakoľko u nás nie je vybudovaná technológia úpravy nerudných surovín, kvalitné nerudné suroviny sú stále len dovážané, čo predražuje cenu výrobkov a preto je nutné hľadať ekonomický a ekologický spôsob úpravy.

Biotechnologické spracovanie je založené na bakteriálnom lúhovaní suroviny a disolúcie Fe. Tieto procesy sú v posledných desaťročiach často pozorované *in situ* pri zvetrávaní silikátových minerálov v pôde. Rýchlosť extrakcie Fe závisí na mnohých faktoroch ako je teplota, rýchlosť cirkulácie vody, kyslosť roztokov, oxidačno-redukčný potenciál, biologická aktivita a prítomnosť organického materiálu.

Mikrobiálna kolonizácia môže dramaticky vplyvať na rýchlosť a mechanizmus zvetrávacích reakcií silikátových minerálov prostredníctvom priamych a nepriamych procesov. Pre porovnanie efektívnosti organicko-minerálnych interakcií, ktoré závisia na kontakte medzi mikróbami a minerálnym povrchom s tými, ktoré zahŕňajú iba rozpustné zmesi, je potrebné vyvinúť primerane zjednodušené experimentálne modely (Banfield et.al., 1999). Priama korelácia medzi produkciou mikrobiálnych organických ligand a zvyšovaním uvoľňovania Si, Al, Fe je známa z experimentov s baktériami, sľudou a živcami (Štyriaková et.al., 2000, 2003; Barker a Banfield, 1998)

Na druhej strane, štúdiom prírodných zvetrávacích procesov, v ktorých organické látky hrajú dôležitú úlohu v hypergénnej migrácii prvkov, umožní využiť tieto procesy pre urýchlenie extrakcie nežiaducich prímiesí z nerudných surovín. Nedávno boli laboratórne overené biologicko-chemické možnosti odstraňovania nežiaducich prímiesí z nerudných surovín nachádzajúcich sa v Lučeneckej kotline. Dosiahnuté výsledky nás nútia pokračovať a overovať účinky na ďalších ložiskových typoch nerudných surovín, nakoľko biologické procesy odlišne vplyvajú na odstránenie rôznych foriem železitých minerálov.

Hlavným cieľom prezentovanej štúdie je výskum schopnosti baktérií *Bacillus* spp. v redukcii Fe<sup>3+</sup> v kremenných pieskoch a granitoide. Experimenty boli sústredené na determinovanie :

- (A) či Fe oxyhydroxidy v kremenných pieskoch a granitoide môžu byť redukované heterotrófnymi baktériami *Bacillus* spp.,
- (B) vplyv minerálneho zloženia na odstránenia Fe,
- (C) či biologické lúhovanie Fe baktériami je vhodné pre zlepšenie kvality kremenných pieskov a živcových surovín.

### Materiál a metodika výskumu

Pre posúdenie bakteriálnej biologickej redukcie Fe<sup>3+</sup> boli vybrané vzorky granitoidu z ložiska Rudník a kremenných pieskov z ložiska Šaštín.

Bakteriálne druhy boli izolované z kaolínového ložiska Horná Prievrana a bajkalského jazera a identifikované BBL identifikačným systémom (Becton-Dickinson, USA). Bakteriálne bunky boli pomnožené v živnom bujóne č. 2 (Imuna, Šarišské Michaľany) a centrifugované pri 4000 otáčkach 15 minút. Následne boli dvakrát premyté fyziologickým roztokom a pridané s koncentráciou 10<sup>10</sup> do 100 ml Bromfieldovho média (Bromfield, 1954). Vzorky rudnického granitoidu (10 g) a šaštínskeho piesku (50 g) boli inkubované 95 až 120 dní pri 28 °C v Erlenmeyerových fľašiach.

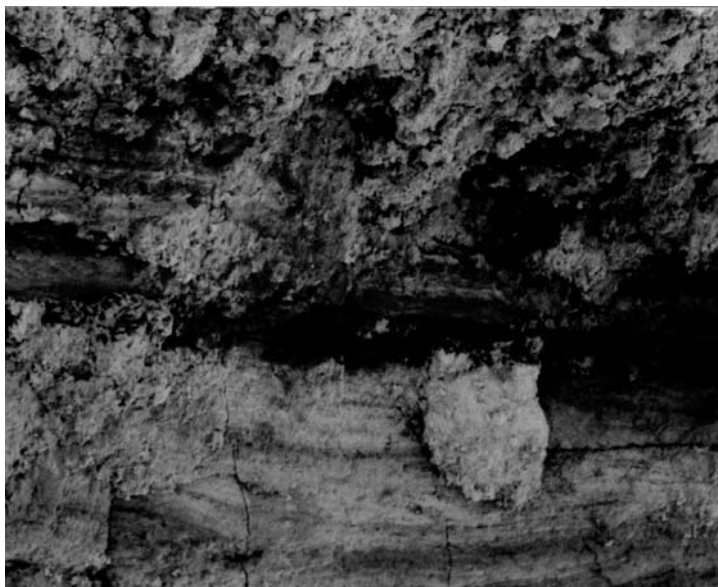
Obsah železa v roztokoch bol stanovený spektrofotometricky s použitím 1,10-fenantrolínu ako reakčného činidla. Ióny Fe<sup>2+</sup> s 1,10-fenantrolínom reagujú v oblasti pH 2 – 9 pričom vzniká oranžovo-červený komplex. Intenzita sfarbenia je úmerná obsahu železa. Metóda popísaná pôvodne Herrerom a kol. (1989) bola rozpracovaná na súčasné stanovenie koncentrácie Fe<sup>2+</sup> a Fe<sup>3+</sup> iónov vo vodných roztokoch. Pozostáva z kvantitatívneho stanovenia vo vzorkách prítomného dvojmocného železa v prvom kroku postupu, kde rušivý vplyv trojmocného železa je eliminovaný ich maskovaním fluoridom sodným (NaF) vo forme komplexu. V druhom kroku postupu po chemickej redukcii Fe<sup>3+</sup> iónov na Fe<sup>2+</sup> ióny s hydroxylamínhydrochloridom (NH<sub>2</sub>OH.HCl), je stanovené celkové železo. Koncentrácia Fe<sup>3+</sup> iónov je daná rozdielom medzi koncentráciou Fe<sup>2+</sup> iónov a celkového železa.

Kvantitatívne zmeny pevných fáz skúmaných vzoriek boli hodnotené analytickými metódami pomocou atómovej absorpčnej spektroskopie na prístroji VARIAN AA-30 (Varian, Austrália). Pre štúdium kvalitatívnych zmien sledovaných minerálnych fáz bola použitá röntgendifrakčná fázová analýza na prístroji Philips XPERT s CuK<sub>α</sub> radiáciou (40kV, 40mA).

### Výsledky a diskusia

Baktérie zohrávajú dôležitú úlohu popri rôznych iných činiteľoch v biogeochemickom zvetrávaní silikátového horninového prostredia. Produkované anorganické a organické zložky presakujú horninotvorným prostredím, čo spôsobuje postupné zvetrávanie a deštrukciu jednotlivých minerálnych fáz

s následným uvoľňovaním Fe do medzivrstevných a medzipuklinových priestorov horninového masívu (obr. 1)



Obr. 1. Zvetralinový plášť granitov s Fe minerálmi

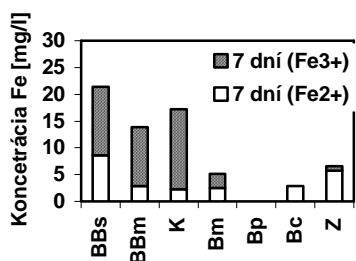
Fig. 1. The earth coat of granite with iron minerals

Bethelin a Belgy (1979) opísali zaujímavú úlohu baktérií v redukcii železa. V tejto reakcii mal by byť zahrnutý enzymatický mechanizmus podobný disimilačnej nitrát redukcii.  $Fe^{3+}$  je mobilné len vo veľmi nízkych hodnotách pH ( $pH < 3$ ). Redukcia umožní formovanie  $Fe^{2+}$ , ktoré je mobilné v normálnom rozsahu pôdneho pH. Preto sú mikroorganizmy a rastliny schopné redukovať  $Fe^{3+}$  a môžu mať výhodu v kompetencii pre prístupnosť železa. V prípade silikátov, zvyšovanie rozpustnosti železa sa uskutočňuje

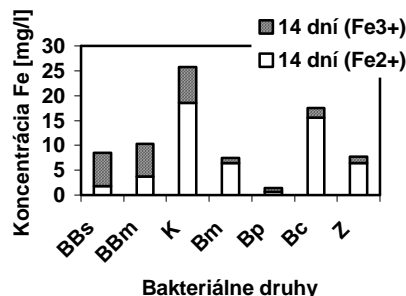
produkciou kyslých a komplexotvorných metabolitov, kde živce a sľudy môžu byť deštruované.

Mikrobiálna kolonizácia môže dramaticky vplývať na rýchlosť a mechanizmus zvetrávacích reakcií silikátových minerálov pomocou priamych a nepriamych procesy. Pre porovnanie efektívnosti organicko-minerálnych interakcií, ktoré závisia na kontakte medzi mikróbami a minerálnym povrchom s tými, ktoré zahŕňajú iba rozpustné zmesi, je potrebné vyvinúť primerane zjednodušené experimentálne modely (Banfield et.al., 1999).

V našich experimentoch bol sledovaný vplyv inokulácie s rôznymi druhmi heterotrófnych baktérii rodu Bacillus a kvasiniek rodu Saccharomyces na redukciiu  $Fe^{3+}$ , ktorý bol porovnávaný v priebehu 2 týždňov diskontinuálneho bakteriálneho lúhovania kremenných pieskov (Obr. 2.) a granitoidov (Obr. 3., 4.) spojeného s výmenou média.



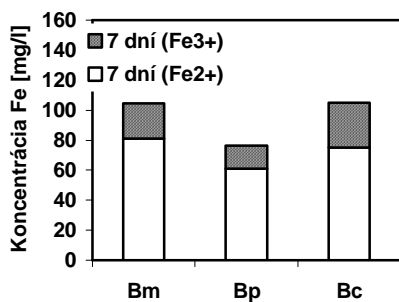
A



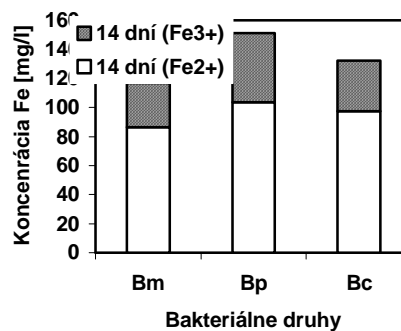
B

Obr. 2. Koncentrácia Fe v roztoku po bakteriálnom lúhovaní kremenných pieskov

Fig. 2. The concentration of iron in the solution after bacterial leaching of quartz sands



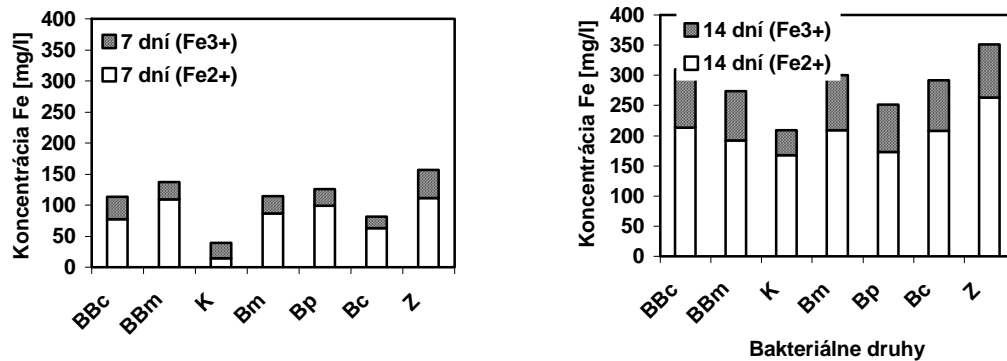
A



B

Obr. 3. Koncentrácia Fe v roztoku po bakteriálnom lúhovaní živcovej suroviny

Fig. 3. The concentration of iron in the solution after bacterial leaching of feldspar raw materials



Obr. 4. Koncentrácia Fe v roztoku po bakteriálnom lúhovaní živcovej suroviny s prídavkom humínových kyselín

Fig. 4. The concentration of iron in the solution after bacterial leaching of feldspar raw materials with the addition of humic acids

V priebehu 7 dní BL (Obr. 2.) došlo k uvoľneniu Fe<sup>3+</sup> iónov do roztoku v oveľa vyššej koncentrácii u bajkalských izolátov ako u slovenských izolátov, pričom kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae* a baktérie druhu *Bacillus sphaericus* sa javili aktívnejšie v redukcii Fe<sup>3+</sup> iónov. Po 14 dňoch BL došlo k nárastu redukovaného Fe<sup>2+</sup> v roztoku aj u druhu *Bacillus cereus* pri lúhovaní kremenných pieskov. Tieto výsledky poukázali na aktívnejšie kmene bajkalských baktérií a kvasiniek v extrakcii Fe do roztoku pri biologickom lúhovaní kremenných pieskov.

Po inokulácii vzorky s obsahom živcov bakteriálnymi druhmi *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus* bola pozorovaná po 7 dňoch BL rovnaká aktivita druhov *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium* v redukcii Fe<sup>3+</sup>. Aj keď v 14 deň BL baktériami druhu *Bacillus pumilus* nastal nárast koncentrácie Fe<sup>2+</sup>, baktérie druhu *Bacillus cereus* preukazujú čiastočne vyššiu extrakciu Fe do roztoku počas 14 dní BL.

Aktivita bajkalských baktérií bola porovnávaná so slovenskými druhmi až pri biologickom lúhovaní živcovej suroviny s prídavkom humínových kyselín, ktoré významne prispievajú k zvýšeniu redukcie Fe<sup>3+</sup> iónov u baktérií rodu *Bacillus*. Bakteriálny druh *Saccharomyces cerevisiae* preukázal nižšiu aktivitu pri tomto type nerudnej suroviny. Baktérie rodu *Bacillus* preukázali približne porovnateľnú redukciu Fe<sup>3+</sup> v živcovej surovine, s náznakom vhodnejšieho využívania zmesnej kultúry baktérií rodu *Bacillus*. Využívanie média s obsahom humínových kyselín umožnilo časovo skrátiť aktivitu baktérií v redukcii Fe<sup>3+</sup> a hlavne dvojnásobne zvýšiť koncentráciu Fe v roztoku pri BL živcovej suroviny.

Po inokulácii baktérii do vzoriek, bola pozorovaná produkcia plynov spôsobená fermentáciou organickej zmesi v priebehu 5 dní inkubácie. Redukcia Fe priebežne rástla s tvorbou plynov a zastavila sa spotrebovaním zdroja uhlíka. V dôsledku produkcie organických kyselín z fermentačných reakcií pH média kleslo z 7 na 4 a mikrobiálnou respiráciou sa vytvorili anaeróbne podmienky s Eh okolo 195 mV.

Nerozpustné Fe<sup>3+</sup> môže byť redukované za anaerobných podmienok na viac rozpustné Fe<sup>2+</sup> železo redukujúcimi baktériami a odstraňované z kaolínov. Za alkalických až neutrálnych podmienok dvojmočné Fe je prirodzene nestabilné v prítomnosti O<sub>2</sub> a je oxidované na Fe<sup>3+</sup> (Atlas a Bartha, 1993).

Štúdaná vzorka rudnickeho granitu obsahuje plagioklasy a kremeň ako hlavné minerálne fázy. Vo vzorke sa ako vedľajšie minerálne fázy na röntgendifrakčnom zázname prejavili smektity a sľudy. Prítomnosť oxidov železa a mangánu je potvrdená EDX analýzou.

Aj napriek tomu, že prítomnosť Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> má v RŽ inú genézu a formu väzby ako vzorka ŠQ, účinnok biologického lúhovania sa prejavil zrovnateľným 60 %-ným znížením obsahu Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> v surovine po 95 dňoch biolúhovania bez využívania humínových kyselín čím sa obsah znížil z 0,288 na 0,115 %.

Šaštínsky kremenný piesok patrí medzi vysoko kvalitné čisté kremenné piesky s povlakmi neodplaviteľných ílových a oxyhydroxidových minerálov železa. Zrinitosť pieskov bola 0,063 do 2,0 mm. Mineralogické zloženie sledované rtg analýzou poukazuje na prítomnosť hlavného minerálu kremeňa a vedľajších minerálov - živcov a smektitov v surovine. V dôsledku BL došlo k zníženiu podielu smektitov a amorfných minerálov sledovaných rtg. analýzou. Biologickým lúhovaním suroviny ŠQ sa odstránilo 60 % Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> čím sa obsah znížil z 0,317 na 0,126, ale proces trval 120 dní bez využívania humínových kyselín v médiu.

Biologické lúhovanie je zamerané predovšetkým na odstránenie ílovo-železitých povlakov z povrchu silikátových zŕn a elektromagnetická separácia by mala odstrániť samostatné magnetické častice a tým skrátiť proces biologickej úpravy nerudných surovín.

### Záver

Nerudné nerastné suroviny Slovenska (piesky, kaolíny, živce) sú charakterizované zvýšenými obsahmi železa čo je dané geologickým vývojom. Preto pre kvalitnejšie použitie (sklárske a keramický priemysel) je potrebné ich upraviť.

Biologickým lúhovaním je možné odstrániť hlavnú nežiaducu prímes – železo, a to prítomné jednak vo forme oxidov a hydrooxidov železa, ale aj sorbované na ílových mineráloch z mnohých druhov nerudných surovín a tým zvýšiť kvalitatívne vlastnosti domácich surovinových zdrojov, ktoré môžu byť po takejto úprave využívané v sklárskom alebo keramickom priemysle.

Železo-redukujúce baktérie izolované z nerudných ložísk a jazier produkujú organické kyseliny a exopolysacharidy v stacionárnych podmienkach biologického lúhovania nerudných surovín, spojeného s disolúciou železa vo forme  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  iónov ako hlavnej nežiadúcej prímеси týchto surovín. Proces biologického lúhovania prebieha v modifikovanom médiu s obsahom základných biogénnych prvkov a uhlíka.

Proces biologického lúhovania je možné využiť buď ako predúpravu suroviny pred elektromagnetickou separáciou na zvýšenie výťažnosti Fe, alebo ako samostatnú 2-3 mesačnú úpravu nerudných surovín v procesoch diskontinuálneho statického lúhovania suroviny v bazéne.

*Podakovanie: Táto práca bola podporovaná projektami na podporu vedy a techniky prostredníctvom finančnej podpory č. APVT-51-006304 a VEGA 2/5033/5.*

### Literatúra - References

- Ambikadevi, V., R., Lalithambika, M.: Effect of organic acids on ferric iron removal from iron-stained kaolinite. *Appl. Clay Science*, 16, 2000, p. 133-145.
- Atlas, R., M. Bartha, R.: The iron cycle. *Microbial Ecology, Fundamentals and Applications*, 3rd edn. *The Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA*, 1993, p. 334-335.
- Banfield, J., F., Barker, W., W., Welch, S., A. Taunton, A.: Biological impact on mineral dissolution: Application of the lichen model to understanding mineral weathering in the rhizosphere. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 96, 1999, p.3404-3411.
- Barker, W., W., Welch, S., A., Chu, S. Banfield, J., F.: Experimental observation of the effects of bacteria on aluminosilicate weathering. *Amer. Mineral.*, 1998, 83, p. 1551 - 1563.
- Barns, S., M. Nierzwicki-Bauer, S., A.: Microbial diversity in ocean, surface and subsurface environments. In: *Banfield, J., F. Nealson, K., H. (Eds) Geomicrobiology: Interactions between microbes and minerals, Reviews in Mineralogy, Vol. 35, Washington, D.C., USA, 1997, p. 35-79.*
- Bennett, P., C., Hiebert, F., K., Choi, W., J.: Microbial colonization and weathering of silicates in a petroleum-contaminated groundwater. *Chemical Geology*, 132, 1996, p. 45-53.
- Berthelin, J., Belgy, G.: Microbial degradation of phyllosilicates during simulated podzolization. *Geoderma* 21, 1979, s. 297-310.
- Bromfield, S., M.: Reduction of ferric compounds by soil bacteria. *Journal of General Microbiology* 11, 1954, p. 1-6.
- Ehrlich, H., L.: How microbes influence mineral growth and dissolution. *Chemical Geology*, 132, 1996, p. 1-3.
- Lovley, D., R.: Novel form of anaerobic respiration of environmental relevance. *Curr. Opinion Microbiol*, 3, 2000, p. 252-256.
- Štyriaková, I., Štyriak, I.: Iron removal from kaolins by bacterial leaching. *Ceramics – Silikáty* 44, 2000, p. 135-141.
- Štyriaková, I., Štyriak, I., Kraus, I., Hradil, D., Grygar, T., Bezdička, P.: Biodestruction and deferritization of quartz sands by *Bacillus* species. *Minerals Engineering*, 16, 2003, p. 709-713.
- Welch, S., A., Ullman, W., J.: Feldspar dissolution in acidic and organic solutions: Compositional and pH dependence of dissolution rate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60, 1996, p. 2939-2948.