

## Význam spôsobu biolúhovania pri disolúcii železa a skvalitňovaní vlastností nerudných surovín

Iveta Štyriaková<sup>1</sup> and Igor Štyriak<sup>2</sup>

### Significance of bioleaching method in dissolution of iron and in the quality improvement of non-metallics

Simple laboratory bioleaching experiments for the iron removal with heterotrophic bacteria on natural raw materials were conducted to explore a simple cyclic operation for a potential use at the industrial scale.

Heterotrophic bacteria of *Bacillus* spp. growing in the presence of feldspar raw materials are able to dissolve iron. Anaerobic conditions quickly formed by bacteria enable a simple manipulation with the sample solution. Insoluble Fe(III) in the feldspars sample could be enzymatically dissolved as Fe<sup>3+</sup> and also reduced to soluble Fe<sup>2+</sup> by silicate bacteria of *Bacillus* spp. This metal was efficiently removed from the feldspars sample as documented by a Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> decrease (from 0.29 % to 0.12 %) after bioleaching in the conical flask and by a Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> decrease (from 0.29 % to 0.19 %) after bioleaching in the percolate column. Bioleaching of Fe was more effective in the conical flask.

Iron-bearing minerals can be easily removed by magnetic separation, but ultra fine iron particles are difficult to treat by conventional mineral processing methods. Thus bioleaching is an attractive alternative for effective removal of iron minerals. The removal of iron with the whiteness increase should give a product, which is fit for industrial ceramic applications.

**Key words:** non-metallics, bioleaching, *Bacillus* sp., heterotrophic bacteria, iron

### Úvod

Silikátové suroviny na Slovensku predstavujú významnú surovinovú základňu pre výrobnú sféru. V súlade so surovinovou politikou štátu, v čo najväčšej miere využívať domáce surovinové zdroje, je nevyhnutné nielen poskytovať prehľady výskytu nerastných surovín, ale aj zaoberať sa ich ekologickou úpravou pri rešpektovaní ekonomických kritérií.

Mikrobiálna deštrukcia silikátových a alumosilikátových minerálov sa študuje za účelom úpravy nízko kvalitných minerálnych surovín (bauxitu, kaolínu), alebo pre extrakciu a získanie vzácnych a drahých kovov z nerudného matrixu hornín a odpadov. Mechanizmus mikrobiálnej deštrukcie silikátov a alumosilikátov baktériami rodu *Bacillus* nie je doposiaľ stechiometricky popísaný a úplne objasnený, ale je známe, že v jeho dôsledku dochádza napríklad k zníženiu obsahu Si v menej kvalitných bauxitoch (Groudeva a Groudev, 1984), k extrakcii Al, Ti, U, Au a iných prvkov zo silikátov a alumosilikátov (Groudev, 1990). Významná môže byť aj aplikácia silikátových baktérií pri úprave kaolínu, kde v dôsledku aktívnej činnosti baktérií dochádza k zlepšeniu jeho fyzikálno - mechanických vlastností, ako sú belosť, plasticita, pevnosť a zníženie teploty výpalu (Groudev a Groudeva, 1988).

Železo a vápnik predstavujú hlavné nečistoty v bauxite, ktorých vysoké obsahy znemožňujú jeho komerčné využitie vo výrobe žiaruvzdorných materiálov a keramiky. Boli však zaznamenané postupy na zvýšenie kvality bauxitu. Možnosť kvalitatívnej zmeny bola skúmaná počas 7 dňovej periódy biologicko - chemického lúhovania za prítomnosti baktérií *Bacillus polymyxa* v prostredí 2 % sacharózy a Bromfieldovho média. Ako ukázali výsledky, došlo k úplnému odstráneniu vápnika a viac ako 45 % železa z lúhovanej suroviny (Anand et al., 1996).

Odstránenie vápnika a železa súvisí s maximálnou produkciou extracelulárnych polysacharidov uvedenými mikroorganizmami. Odstránenie Ca a Fe bolo pozorované vždy v prítomnosti bakteriálnych metabolitov ako polysacharidov, organických kyselín a slizu. Odstránenie Ca v neprítomnosti mikroorganizmov (len v prítomnosti metabolitov) bolo o 50 % nižšie ako v ich prítomnosti, čo potvrdzuje účasť dvoch hlavných mechanizmov v biolúhovacom procese - bakteriálnej adhézie na povrchu častíc suroviny a biologicko - chemické lúhovanie metabolitmi baktérií (Anand et al., 1996).

Podobné lúhovacie experimenty uskutočnili Deo et al. (1999), keď lúhovaním bauxitu metabolitmi baktérií druhu *Bacillus polymyxa* dosiahli 100 % odstránenie kalcitu a 100 % odstránenie železa z tejto suroviny už po piatich výmenách živného média v 5 dňovom lúhovacom cykle.

V prácach autorov Groudev a Groudeva (1988) sa uvádza, že obohatené kaolíny a kaolín obsahujúce horniny môžu byť tiež zdrojom hliníka, ktorý možno získať biologickým lúhovaním. Kaolíny sú však

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

<sup>2</sup> Igor Štyriak, Department of Microbiology, Institute of Animal Physiology of the Slovak Academy of Sciences, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovakia

(Recenzovaná a revidovaná verzia dodaná 13. 12. 2006)

surovinou využívanou najmä v keramickom priemysle, preto sú hlavne uvádzané možnosti mikrobiálnej predúpravy a jej vplyv na kvalitu jemnej keramiky. Z ložísk kaolínov môžu byť izolované rozličné druhy mikroorganizmov, z ktorých mnohé sú schopné degradovať ílové minerály. Najlepšie schopnosti degradácie ílových minerálov boli pozorované u „silikátových“ baktérií. Po relatívne krátkom čase kontaminácie (24 - 42 hod.) niektorých kaolínov druhmi *Bacillus circulans* a *Bacillus mucilaginosus* bolo zistené zvýšenie pevnosti z 5,9 - 13,1 na 8,4 - 18,5 kgcm<sup>-3</sup> a ich plasticity z 30,7 - 34,1 na 33,4 - 38,7 %. Pôsobenie uvedených baktérií na silikáty a alumosilikáty vysvetľujú autori spojitou s formovaním slizovitých puzdier obsahujúcich exopolysacharidy ako aj s produkciou rozličných metabolitov, najmä organických kyselín.

Po mikrobiálnej úprave vzoriek keramického kaolínu z ložiska Jimlíkov (Česká republika) sa znížil okrem obsahu kaolinitu aj obsah všetkých dioktaedrických slúd a zároveň došlo k zmene zrnitostného zloženia, čo sa prejavilo obohatením najjemnejšej zrnitostnej frakcie. Tieto zmeny sa prejavili zlepšením niektorých technologických parametrov (vážnosť, plasticita, nasiakavosť) až na úroveň najkvalitnejšej suroviny, vhodnej pre výrobu porcelánu typu „Extra“ (Borovec, 1990).

Poloprevádzkovo bola mikrobiálna úprava pomocou silikátových baktérií overená na surovine kremeliny z ložiska Borovany (Česká republika). Cieľom bolo získať úpravou ťaženej kremeliny surovinu vhodnú pre filtráciu piva po odstránení ílových minerálov, lebo táto sa musí pre potreby sladovníckeho priemyslu dovážať z Francúzska a USA. Biologickou úpravou 10 ton kremeliny bola získaná surovina kvalitatívne porovnateľná s dovážanou kremelinou, s výnimkou nižšej čírosti (Borovec, 1990).

Borovec (1990) prezentoval aj stručné údaje o tom, že biologickou úpravou je možné pri nižšej vlhkosti suroviny zvýšiť vážnosť západočeských bentonitov na takú mieru, aby vyhovovala požiadavkám na zlievarenské bentonity prvej akosti.

Groudev et al. (1983) sledovali rôzne druhy mikroorganizmov schopných redukovat' alebo rozpúšťať železo, vyskytujúce sa v pieskoch, kaolínach a íloch vo forme hematitu, goethitu a limonitu. Extrakcia železa bola rýchlejšia v anaeróbných podmienkach rastu baktérií rodu *Bacillus*, ale bola nižšia ako v aeróbných podmienkach v prítomnosti mikroskopických húb *Aspergillus niger* a *Penicillium sp.* (Groudev et al., 1983).

Borovec (1990) popísal, že proces biologicko - chemickej degradácie ílov „silikátovými“ baktériami na haldách prebieha rýchlejšie ako pri účasti mikroskopických húb. Lúhovacie médium obsahuje rôzne metabolické produkty baktérií, medzi nimi však nikdy neprevažuje kyselina citrónová, ako je to u mikroskopických húb. Detekované boli hlavne rôzne aminokyseliny, ktorých zloženie a obsah závisí od konkrétnych podmienok a mení sa aj počas lúhovania. Pritom však nebol doposiaľ zistený vzťah medzi druhom a množstvom kyselín produkovaných baktériami a rýchlosťou lúhovania.

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

## Materiál a metodika

Vzorka granitu z ložiska Rudník-Poproč bola vybraná pre posúdenie vhodnosti spôsobu biologického lúhovania. Z mineralogického hľadiska vzorka obsahuje kremeň, živce, plagioklasy, biotit, smektity, goethit a ferrihydrity. Chemické zloženie vzorky pred bakteriálnym lúhovaním je preukázané v tabuľke 1.

Tab. 1. Chemické zloženie (%) živcovej suroviny Rudník-Poproč.

Tab. 1. Chemical composition (%) of feldspar raw material Rudník-Poproč.

SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	TiO <sub>2</sub>	CaO	MgO	Na <sub>2</sub> O	K <sub>2</sub> O	MnO
77.8	13.1	0.29	0.09	0.35	0.20	6.57	0.84	0.03

Aktívne kmene *Bacillus cereus* a *Bacillus pumilus* boli izolované z kaolínového ložiska Horná Prievrana a identifikované BBL identifikačným systémom (Becton-Dickinson, USA). Bakteriálne bunky boli pomnožené v Živnom bujone č. 2 (Imuna, Šarišské Michaľany) a centrifugované pri 4000 otáčkach 15 minút. Následne boli dvakrát premyté fyziologickým roztokom a 1 ml inokula s koncentráciou 10<sup>9</sup> bol pridaný do 500 ml Bromfieldového média (Bromfield, 1954). Vzorka (50 g) bola inkubovaná 95 dní pri 28 °C v Erlenmeyerových fľašiach a perkolačných kolónach s prídavkom melasy.

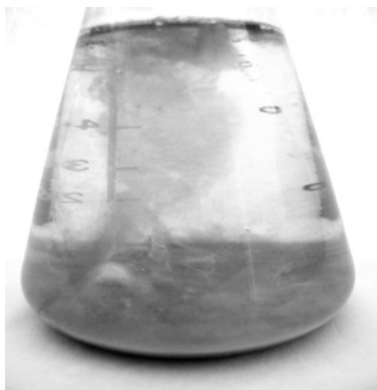
Počas biolúhovania suroviny vo fľašiach extrahované Fe bolo analyzované počas výmeny média (300 ml) a údaje koncentrácie Fe majú kumulatívny charakter vzťahovaný na vzorku. Množstvo média pumpovaného na vzorku v kolóne (1800 ml, aplikovaného 6-krát o objeme 300 ml) bolo ekvivalentné k použitému objemu média vo fľašiach.

Koncentrácie extrahovaného Fe<sup>2+</sup> a Fe<sup>3+</sup> boli merané spektrofotometricky použitím phenantrolinovej metódy (Herrera et al, 1989; Stucky and Anderson, 1981). Kvantitatívne zmeny skúmaných vzoriek boli hodnotené analytickými metódami pomocou atómovej absorpčnej spektroskopie prístrojom VARIAN AA-30

(Varian, Austrália). Pre štúdium kvalitatívnych zmien sledovaných minerálnych fáz bola použitá röntgendifrakčná fázová analýza na prístroji Philips XPERT s  $\text{CuK}_\alpha$  radiáciou (40kV, 40mA).

### Výsledky a diskusia

Bakteriálny rast a extrakcia Fe zo živcovej suroviny boli výsledkom biochemických interakcií, ktoré prebiehali v dvoch odlišných systémoch v uzatvorenej (stacionárnej Erlenmayerovej fľaši, obr. 1) a otvorenej reakčnej nádobe (perkolujúcej kolóne, obr. 2), kde sa imitovali podmienky lúhovania surovín v bazéne a na halde.

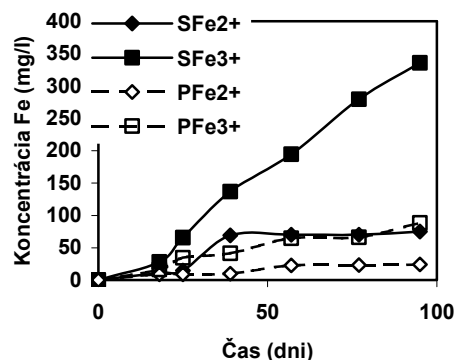


Obr. 1. Biolúhovanie vzorky v E. fľaši.  
Fig. 1. Bioreaching of the sample in E. flasks.



Obr. 2. Biolúhovanie vzoriek v perkoláčnych kolónach.  
Fig. 2. Bioreaching of the samples in percolated columns.

Počas bakteriálneho lúhovania bola monitorovaná extrakcia  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ . V dôsledku fermentácie organickej prímеси sa formovali organické kyseliny po krátkej adaptačnej fáze, ktorá mala za následok zmenu pH 7 na pH 4 a disolúciu železa (Obr. 3).



Obr. 3. Koncentrácia  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  v roztoku počas bakteriálneho lúhovania živcovej suroviny (S – v E. fľaši, P – v perkoláčnej kolóne).  
Fig. 3. Concentration of  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{3+}$  in the solution during bacterial leaching of feldspar raw materials (S – in E. flask, P – in percolate column).

Koncentrácia Fe v médiu je v dvoch odlišných systémoch rozdielna a závisí na dĺžke prístupnosti nutričných látok v médiu a schopnosti fermentácie organickej prímеси (melasy) počas diskontinuálneho stacionárneho a perkolujúceho biolúhovacieho procesu. Bakteriálna aktivita vyjadrená v kumulatívnom množstve extrahovaného železa v kolónach bola približne o 50-60 % nižšia, čo je spôsobené perkoláciou média s melasou cez vzorku a nepostačujúcou bakteriálnou spotrebou organickeho zdroja. Taktiež v uzatvorenej nádobe bol pozitívny oxidačno-redukčný potenciál v dôsledku mikrobiálnej respirácie znížený z hodnoty – 110 mV v roztoku na – 380 mV v pevnej fáze počas bakteriálneho lúhovania suroviny, pričom sa vytvorili anaeróbne podmienky v pevnej fáze lúhovanej živcovej suroviny, kde redukčné a disolučné reakcie prvkov  $\text{Fe}^{3+}$  prebiehajú intenzívnejšie. Anaeróbne podmienky v kolónach sa vytvárali s oveľa nižšou rýchlosťou a dosahovali maximálne hodnoty – 95 mV v dôsledku perkolácie média. Abiotické kontroly preukazovali len veľmi nízke hodnoty extrakcie prvkov, preto nie sú naznačené v obrázku. Tento fakt umožňuje potvrdiť, že rýchlosť extrakcie Fe závisí na spôsobe biolúhovania surovín a je ovplyvnená maximálnou spotrebou organickeho zdroja a produkciou metabolitov (organických kyselín).

Biologické lúhovanie na pevných fázach sa prejavilo 60 % znížením obsahu Fe po lúhovaní suroviny v E.fľašiach a 35 % znížením obsahu Fe po lúhovaní suroviny v perkoláčnych kolónach. Organochemickým dolúhovaním suroviny sa ešte odstránili 4 % Fe v prvom systéme a 11 % v druhom systéme biolúhovanej suroviny. Následnou elektromagnetickou separáciou použitou na vzorke živca po najefektívnejšom odstránení Fe pri imitovaní biologicko-chemického lúhovania suroviny v bazéne sa dosiahlo 79 %-né zníženie obsahu Fe a 15 %-né zníženie obsahu Ti, čím sa získala surovina s obsahom 0,061 %  $\text{Fe}_2\text{O}_3$

a 0,076 % TiO<sub>2</sub> a taktiež výtavky bielej farby, ktoré svedčia o vysokej kvalite suroviny pri využití konvenčných a nekonvenčných spôsobov úpravy (Štyriaková a kol., 2006).

### Záver

Jednoduchý porovnávací laboratórny biolúhovací experiment pre zníženie Fe zo živcovej suroviny heterotrónnymi baktériami bol uskutočnený pre naznačenie spôsobu potenciálneho použitia v priemyselných merítkach. Heterotrónne baktérie rástli v prítomnosti živcovej suroviny a boli schopné extrahovať Fe. Množstvo rozpusteného a odstráneného Fe záviselo od spôsobu biolúhovania, pričom pozitívny priamy kontakt minerálnej fázy, baktérií a nutričných látok v médiu je zabezpečený pri lúhovaní surovín v E. bankách. Pri perkolácii média cez surovinu nie je zabezpečený dostatočný prístup k organickému zdroju, ktorý je potrebný pre rast heterotrónnych baktérií. Rýchle formovanie anaeróbných podmienok v uzatvorenom systéme umožňuje jednoduchú manipuláciu s lúhovacím roztokom. V závislosti na dosiahnutých výsledkoch zníženia Fe v pevných fázach je možné odporučiť realizáciu biolúhovania živcov v bazéne.

Mnohé silikátové suroviny, ktoré sa tradične priemyselne využívajú, sú nevhodné pre prípravu špeciálnych produktov v určitých oblastiach výrobnjej sféry, obsahujú mnohé nežiaduce prímеси, ktoré znižujú ich kvalitatívne vlastnosti. Využitie biotechnológií pri úprave silikátových surovín predstavuje novú alternatívnu cestu efektívneho spracovania niektorých nerastných zdrojov.

Pod'akovanie: Práca bola podporovaná Agentúrou na podporu vedy a techniky na základe Zmluvy č. APVT-51-006304 a VEGA č. 2/5033/5.

### Literatúra - References

- Anand, P., Modak, J. M., Natarajan K. A.: Biobeneficiation of bauxite using Bacillus polymyxa: calcium and iron removal. *Int. J. Miner. Process.* 48, 1996, 51 – 60.
- Borovec, Z., Doležal, J., Fediuk, F., Kratochvíl, P.: Úvod do Biotechnologie nerastných hmot. *Fakulta Přírodovědecká Universita Karlova v Praze*, 1990, 67 -77.
- Deo, N., Vasani, S. S., Jayant, M. M., Natarajan, K. A.: Selective biodissolution of calcium and iron from bauxite in the presence of Bacillus polymyxa. *Process Metallurgy 9A, R. Amils, A. Ballester (eds)*, 1999, 463 – 472.
- Groudev, S. N.: Workshop on the aluminosilicate minerals biodegradation. *The 5<sup>th</sup> European Congress on biotechnology, Copenhagen, Denmark*, 1990.
- Groudev, S. N., Genchev, F. N., Groudeva, V. I., Petrov, E. C. Mochev, D. J.: Removal of iron from sands by means of microorganisms. *In: Recent Progress in Biohydrometallurgy, Cagliari*, 1983.
- Groudev, S. N., Groudeva, V. I.: Improvement of the quality of kaolins by means of microbial treatment. *In: Internationale Seminar zur Erkundungsforschung „Biostrategien für das Bauen“*, Dessau, 1988.
- Groudeva, V. I., Groudev, S. N.: Bauxite dressing by means of Bacillus circulans. *Travaux ICSoba*, 13, 1983, 257-263.
- Groudeva, V. I., Groudev, S. N.: Bauxite dressing by means of Bacillus circulans. *In: Travaux ICSOBA Congress, Vol.13, No.18, Zagreb*, 1984, 257-263.
- Herrera, L., Ruiz, P., Aguilón, J.C., Fehrman, A.: A new spectrometric method for the determination of ferrous iron in the presence of ferric iron. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 89, 1989, 171-181.
- Stucky, J. W., Anderson, W. L.: The quantitative assay of minerals for Fe<sup>2+</sup> and Fe<sup>3+</sup> using 1, 10-phenanthroline: I. Sources of variability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45, 1981, 633-637.
- Štyriaková, I., Štyriak, I., Malachovský, P., Lovás, M.: Biological, chemical and electromagnetic treatment of three types of feldspar raw materials. *Miner. Eng.* 19, 2006, 348-354.