

Władysław KUNICKI-GOLDFINGER
Marek OSTROWSKI
Aleksandra LEJCZAK

Instytut Mikrobiologii Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa

MIKROBIOLOGICZNE ŁUGOWANIE MIEDZI W ŚRODOWISKU ALKALICZNYM Z KOWELINU I ODPADÓW POFLOTACYJNYCH

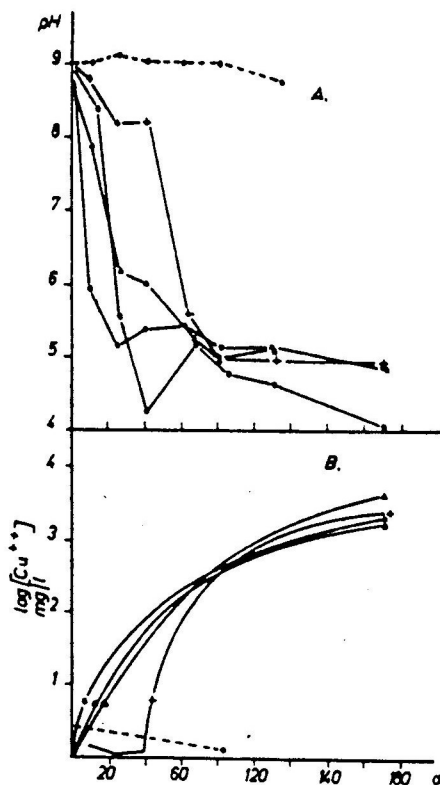
W celu zbadania możliwości ługowania miedzi z kowelinu i odpadów poflotacyjnych przy wyjściowym pH około 9 podjęto próby użycia do tego celu mikroorganizmów. Izolacji bakterii dokonano ze stawu osadowego odpadów poflotacyjnych Gilów. Do izolacji używano podłoża mineralnego Beijerincka z tiosiarczanem. Wyizolowano 58 szczepów bakterii, które wstępnie zaliczono do rodzaju *Thiobacillus*. Z uwagi na to, że *Thiobacillus* rośnie przede wszystkim w stanie adhezji do cząstek nie, oznaczano liczby bakterii w próbkach poddanych ługowaniu.

Ługowanie miedzi z kowelinu

Próby biologicznego ługowania miedzi z kowelinu prowadzono z użyciem płynnego podłoża Beijerincka, w którym tiosiarczan sodowy został zastąpiony 5 g syntetycznego kowelinu. Hodowle bakterii prowadzone były w kolbach Erlenmayer'a o objętości 3 l, w temperaturze pokojowej z intensywnym napowietrzaniem i mieszaniem. Wyjściowe pH roztworu wynosiło 9,2. Ubytki podłoża powstające na skutek parowania uzupełniane były świeżym sterylnym podłożem z kowelinem do stałej objętości 1500 ml. Kontrolę stanowiło sterylne podłoże z kowelinem, bez środków bakterio-bójczych i bakteriostatycznych [1,2]. Pierwsza seria doświadczeń wykazała, że aktywność poszczególnych szczepów jest stosunkowo niska i niezadawalająca. Następnie badano aktywności mieszanin różnych szczepów. Założono cztery hodowle oznaczone numerami 2,3,4,5. Badania prowadzone były przez 170 dni. W trakcie doświadczenia pH obniżało się. Kontrola pozostała sterylna jedynie przez 100 dni, a wartości pH nie ulegały zmianie. Podobnie nie ulegało zmianie stężenie Cu^{2+} w roztworze będące wy-

nikiem żugowania chemicznego. W ciągu 170 dni w hodowlach 2,3,5, przeszło do roztworu około 2 g miedzi w przeliczeniu na liter roztworu, a w hodowli nr. 4 prawie 5 g Cu/l (rys. 1). Procent wyługowania w zależności od hodowli obliczany w stosunku do sumarycznej ilości wprowadzonego

substratu wynosił 30-90 %. W hodowlach 2 i 3, w których procent wyługowania był najniższy, pH podłoża utrzymywane było między 4,0 a 5,3 przy pomocy nasyconego roztworu Na_2CO_3 . W hodowlach nr 4 i 5 utrzymywały się podobne wartości pH. Czas trwania fazy początkowej procesu żugowania (lag-fazy) zależał od użytych szczepów i wahał się od kilku do 40 dni. Maksymalna szybkość żugowania wynosiła 3-4 mg Cu/l/godz. i była znacznie niższa niż przy kwaśnym żugowaniu w obecności *Th. ferrooxidans* i siarczanu żelazawego (45 mg Cu/l godz.) w pracy Sakaguchi i Torma [3].



Rys. 1. A - zmiany pH w czasie hodowli, B - zmiany stężenia jonów Cu^{2+} w czasie hodowli

----- Kontrola ———— hodowle nr 2,3,4 i 5.

Żugowanie miedzi z odpadów poflotacyjnych z pomocą Na_2EDTA [2]

W następnych doświadczeniach badano możliwości utleniania przez wyizolowane szczepy siarczków miedzi zawartych w odpadach poflotacyjnych. Odpady zawierały około 0,18 % miedzi. Ponieważ odpady poflotacyjne mają charakter alkaliczny (obecność węglanów, pH roztworu około 9,2) co uniemożliwia szybkie zakwaszenie środowiska przez mikroorganizmy, a tym samym przechodzenie miedzi do roztworu, dodawano 0,1 % Na_2EDTA jako środka kompleksującego. Doświadczenia przeprowadzane były według schematu przedstawionego na rys. 2. Kontrolę stanowiło pełne sterylne podłoże z dodatkiem 25 % alkoholu etylowego oraz sterylne podłoże z dodatkiem 0,1 % Na_2EDTA i alkoholu etylowego. W warunkach sterylnych bez Na_2EDTA do roztworu przeszło 0,2 mg Cu/l, a z dodatkiem Na_2EDTA 29 mg na-

Władysław KUNICKI-GOLDFINGER

Marek OSTROWSKI

Aleksandra LEJCZAK

Instytut Mikrobiologii Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa

MIKROBIOLOGICZNE ŁUGOWANIE MIEDZI W ŚRODOWISKU ALKALICZNYM Z KOWELINU I ODPADÓW POFLOTACYJNYCH

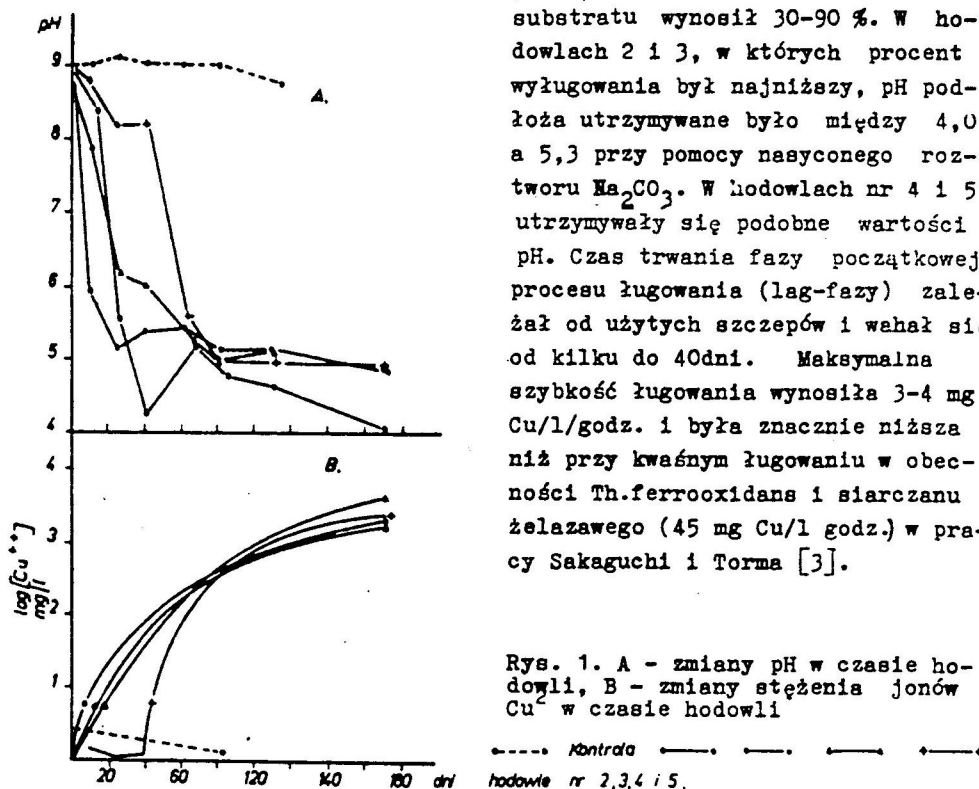
W celu zbadania możliwości ługowania miedzi z kowelinu i odpadów poflotacyjnych przy wyjściowym pH około 9 podjęto próby użycia do tego celu mikroorganizmów. Izolacji bakterii dokonano ze stawu osadowego odpadów poflotacyjnych Gilów. Do izolacji używano podłoża mineralnego Beijerincka z tiosiarczanem. Wyizolowano 58 szczepów bakterii, które wstępnie zaliczono do rodzaju *Thiobacillus*. Z uwagi na to, że *Thiobacillus* rośnie przede wszystkim w stanie adhezji do cząstek nie, oznaczano liczby bakterii w próbkach poddanych ługowaniu.

Ługowanie miedzi z kowelinu

Próby biologicznego ługowania miedzi z kowelinu prowadzono z użyciem płynnego podłoża Beijerincka, w którym tiosiarczany sodowy został zastąpiony 5 g syntetycznego kowelinu. Hodowle bakterii prowadzone były w kolbach Erlenmayer'a o objętości 3 l, w temperaturze pokojowej z intensywnym napowietrzaniem i mieszaniem. Wyjściowe pH roztworu wynosiło 9,2. Ubytki podłoża powstające na skutek parowania uzupełniane były świeżym sterylnym podłożem z kowelinem do stałej objętości 1500 ml. Kontrolę stanowiło sterylne podłoże z kowelinem, bez środków bakterio-bójczych i bakteriostatycznych [1,2]. Pierwsza seria doświadczeń wykazała, że aktywność poszczególnych szczepów jest stosunkowo niska i niezadawalająca. Następnie badano aktywności mieszanin różnych szczepów. Założono cztery hodowle oznaczone numerami 2,3,4,5. Badania prowadzone były przez 170 dni. W trakcie doświadczenia pH obniżało się. Kontrola pozostała sterylna jedynie przez 100 dni, a wartości pH nie ulegały zmianie. Podobnie nie ulegało zmianie stężenie Cu^{2+} w roztworze będące wy-

nikiem żugowania chemicznego. W ciągu 170 dni w hodowlach 2,3,5, przeszło do roztworu około 2 g miedzi w przeliczeniu na litr roztworu, a w hodowli nr. 4 prawie 5 g Cu/l (rys. 1). Procent wyługowania w zależności od hodowli obliczany w stosunku do sumarycznej ilości wprowadzonego

substratu wynosił 30-90 %. W hodowlach 2 i 3, w których procent wyługowania był najniższy, pH podłoża utrzymywane było między 4,0 a 5,3 przy pomocy nasyconego roztworu Na_2CO_3 . W hodowlach nr 4 i 5 utrzymywały się podobne wartości pH. Czas trwania fazy początkowej procesu żugowania (lag-fazy) zależał od użytych szczepów i wahał się od kilku do 40 dni. Maksymalna szybkość żugowania wynosiła 3-4 mg Cu/l/godz. i była znacznie niższa niż przy kwaśnym żugowaniu w obecności *Th. ferrooxidans* i siarczuanu żelazowego (45 mg Cu/l godz.) w pracy Sakaguchi i Torma [3].

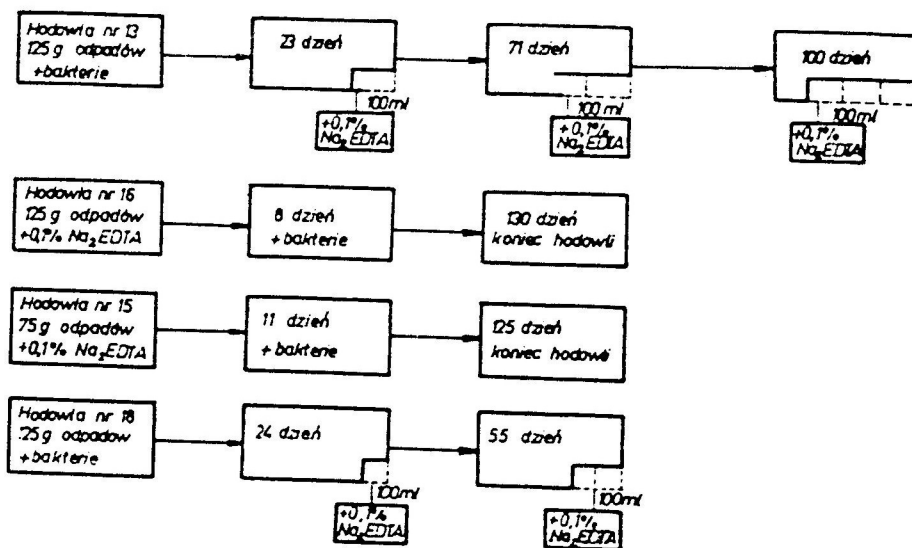


Rys. 1. A - zmiany pH w czasie hodowli, B - zmiany stężenia jonów Cu^{2+} w czasie hodowli

Ługowanie miedzi z odpadów poflotacyjnych z pomocą Na_2EDTA [2]

W następnych doświadczeniach badano możliwości utleniania przez wyizolowane szczepy siarczków miedzi zawartych w odpadach poflotacyjnych. Odpady zawierały około 0,18 % miedzi. Ponieważ odpady poflotacyjne mają charakter alkaliczny (obecność węglanów, pH roztworu około 9,2) co uniemożliwia szybkie zakwaszenie środowiska przez mikroorganizmy, a tym samym przechodzenie miedzi do roztworu, dodawano 0,1 % Na_2EDTA jako środka kompleksującego. Doświadczenia przeprowadzane były według schematu przedstawionego na rys. 2. Kontrolę stanowiło pełne sterylne podłoże z dodatkiem 25 % alkoholu etylowego oraz sterylne podłoże z dodatkiem 0,1 % Na_2EDTA i alkoholu etylowego. W warunkach sterylnych bez Na_2EDTA do roztworu przeszło 0,2 mg Cu/l, a z dodatkiem Na_2EDTA 29 mg na-

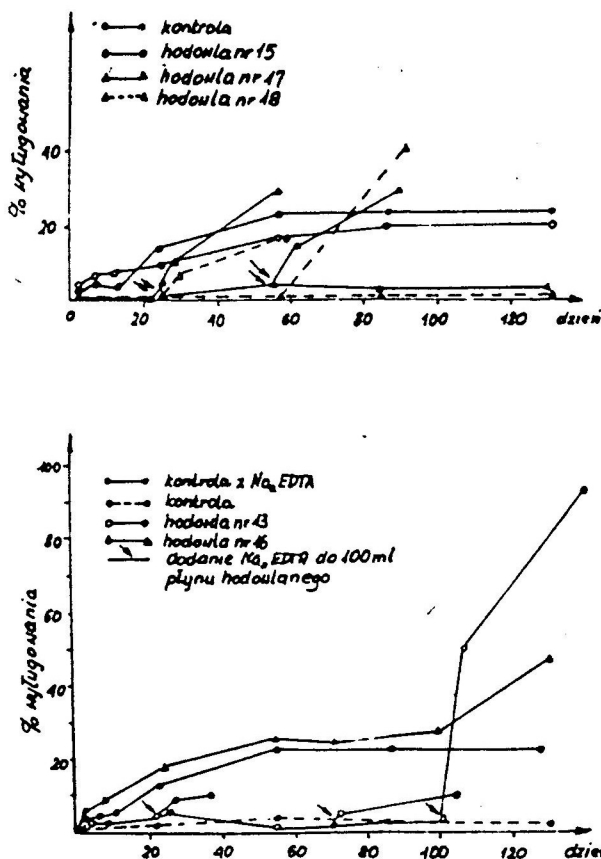
Cu/l, co stanowi odpowiednio 0,14 i 21,4 % wyługowania. W hodowlach nr 15 i 16, w których odpady były najpierw traktowane Na_2EDTA , a później poddane działaniu bakterii, do roztworu przeszło 28 mg Cu/l i 120 mg Cu/l (rys. 3). W hodowlach nr 17 i 18, w których odpady poddane były



Rys. 2. Schemat doświadczenia nad żugowaniem odpadów poflotacyjnych z użyciem Na_2EDTA

najpierw działaniu bakterii, a dopiero później wspólnemu działaniu bakterii i Na_2EDTA po 80 dniach osiągnięto stężenie miedzi 40 mg Cu/l i 55 mg/l, co stanowi odpowiednio 31 i 41 % wyługowania. Najlepsze wyniki otrzymano w wypadku hodowli nr 13, która trwała 136 dni. Procent wyługowania wynosił 93,3, a stężenie miedzi osiągnęło 200 mg/l. W przypadku hodowli prowadzonych na odpadach poflotacyjnych poddawanych pierwotnie działaniu Na_2EDTA należy zwrócić uwagę na ujemny wpływ Na_2EDTA na aktywność bakterii.

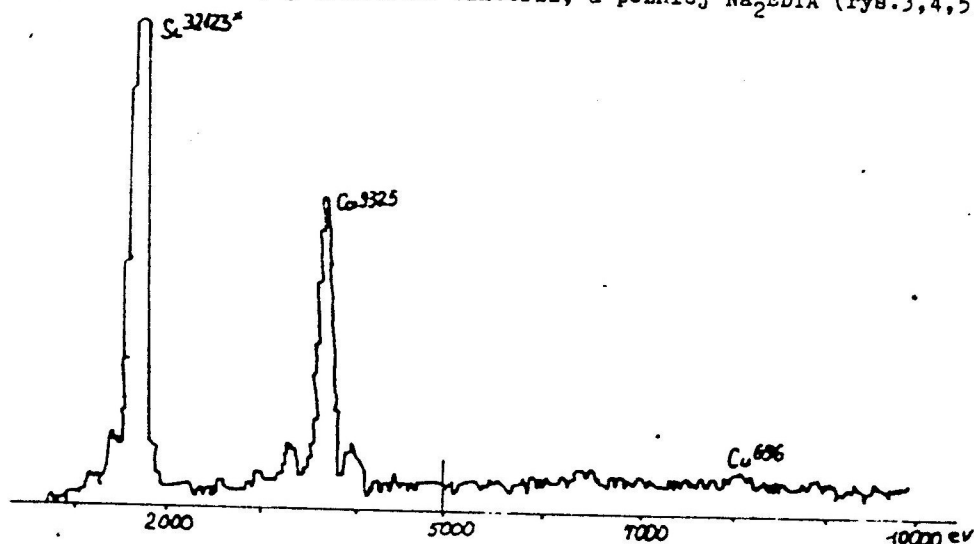
Do badań nad mikrobiologicznym żugowaniem miedzi z odpadów poflotacyjnych używano również mikroskopu elektronowego Jeol JEM 100c z mikrosondą elektronową typu Link, która umożliwia jakościową i ilościową analizę preparatów. Preparaty przygotowywane były w sposób następujący: odpady poflotacyjne, zarówno poddane działaniu bakterii, jak i te, które traktowano jedynie 0,1 % Na_2EDTA oraz odpady kontrolne odwirowywano i utrwalało w glutaraldehydzie przez 20 min. Próbkę umieszczano na mikroskopowym szkiełku przykrywkowym pokrytym 2 % żelatyną, odwadniano alkoholem etylowym o wzrastających stężeniach, a następnie po odwadnieniu



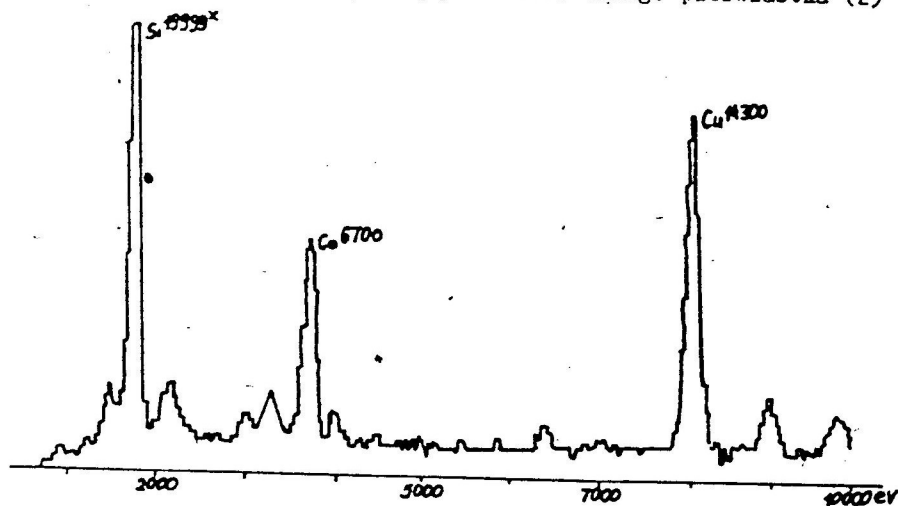
Rys. 3. Ługowanie miedzi z odpadów poflotacyjnych z użyciem Na₂EDTA i bakterii

pylano węglem oraz platyną lub złotem. Wyniki rejestrowano przy powiększeniach od 100 do 100 000 x. Małe powiększenia sprzyjały uśrednianiu ilości impulsów zebranych z dużego obszaru. W preparatach z odpadów poflotacyjnych poddanych długotrwałemu działaniu bakterii stwierdzono obecność śluzowatych form nie zawierających miedzi. Ponadto analiza preparatów zawierających odpady poflotacyjne nie poddane żadnemu działaniu wykazała, że ilość siarczku miedzi będąca w bezpośrednim kontakcie ze środowiskiem jest znikoma. Ponieważ odpady poflotacyjne zawierają około 0,18% miedzi (co stwierdzono chemicznie) jest ona ukryta najprawdopodobniej wewnątrz skały płonnej. Natomiast w preparatach z odpadów poflotacyjnych poddanych działaniu bakterii występowały wyraźne skupienia miedzi w niektórych miejscach. Sugerujemy, że aktywność drobnoustrojów związana jest:

nie tylko z zakwaszaniem środowiska poprzez utlenianie siarczków, ale także z udostępnianiem "ukrytej miedzi", która żugowana jest w końcowej fazie procesu. Jest to również potwierdzeniem wyników otrzymanych na drodze analizy chemicznej w doświadczeniu, w którym odpady po flotacji poddawane były działaniu bakterii, a później Na_2EDTA (rys.3,4,5).



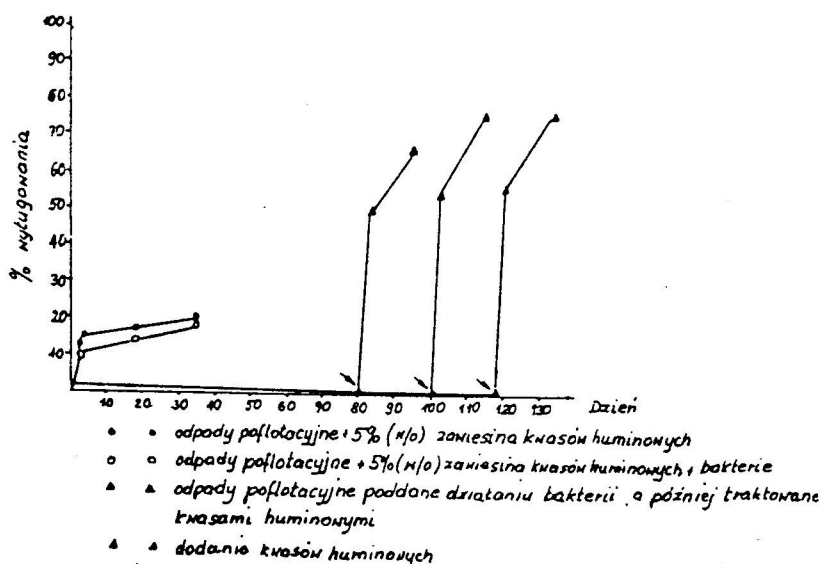
Rys. 4. Zawartość Si, Ca, Cu w odpadach po flotacyjnych oznaczona przy pomocy mikroskopy elektronowej systemu Link. Odpady nie były poddane działaniu bakterii ani Na_2EDTA
x - jednostki umowne wyrażające ilość danego pierwiastka (2)



Rys. 5. Zawartość Si, Ca, Cu w odpadach po flotacyjnych oznaczana przy pomocy mikroskopy elektronowej systemu Link. Odpady poddane były działaniu bakterii
x - jednostki umowne wyrażające zawartość danego pierwiastka (2)

Ługowanie miedzi z odpadów poflotacyjnych z użyciem
kwasów huminowych otrzymanych z węgla brunatnego

Kwasy huminowe zostały wyprodukowane wg metody Kreulen'a w Instytucie Technologii Nafty i Węgla Politechniki Wrocławskiej. Doświadczenia przeprowadzane były w warunkach analogicznych do poprzednio opisanych. Zarówno węgiel brunatny, jak i kwasy huminowe, przy pH ok. 9 tworzą mniej więcej jednorodną zawiesinę. W pierwszej serii doświadczeń 100 g odpadów traktowano 5 % zawiesiną kwasów huminowych o objętości 1500 ml. Po 35 dniach wyługowano 20 % miedzi. W drugiej serii doświadczeń odpady zawieszono w roztworze soli mineralnych jak w podłożu Beijerincka, szczepiono bakteriami i dodawano 5 % kwasów huminowych. W tym przypadku po 35 dniach wyługowano 18 % miedzi. W kolejnej serii doświadczeń, podobnie jak w przypadku eksperymentów z Na_2EDTA , odpady poflotacyjne poddawano działaniu bakterii przez 80, 100 i 118 dni, a później dodawano 5 % kwasów huminowych. Procent wyługowania oznaczony był przed dodaniem kwasów huminowych, dwa i czternaście dni po ich dodaniu. We wszystkich przypadkach procent wyługowania przed dodaniem kwasów huminowych wynosił zero. W hodowlach 80 dniowych po dwóch dniach działania kwasów wyługowano 50 % miedzi, a po czternastu dniach 65 % (rys. 6). W hodowlach prowadzonych przez 100 dni procent wyługowania po dwóch dniach działania kwasów huminowych wahał się między 45 a 54 %, a po czternastu dniach między 65 a 75 % (rys. 6). W trzecim przypadku (po 118 dniach hodowli)



Rys. 6. Ługowanie miedzi z odpadów poflotacyjnych z użyciem kwasów huminowych

procent wyługowania wahał się między 55 a 58 % po dwóch dniach działania kwasów huminowych i między 75 a 77 % po czternastu dniach. Najlepsze wyniki, podobnie jak w eksperymentach z Na_2EDTA , otrzymano w tym przypadku, gdy odpady popłotacyjne poddawano przez długi okres czasu działaniu bakterii, a dopiero później dodawano kwasów huminowych.

Dalsze badania powinny zmierzać do rozwiązania następujących dwóch problemów;

- poznaniu mechanizmu odszalniania siarczków miedzi z okluzji i mechanizmu utleniania siarczków,
- znalezienia tańszych środków kompleksujących, które wiązałyby miedź z naruszonych przez bakterie struktur odpadów popłotacyjnych w środowisku alkalicznym.

Pierwszy problem mógłby zostać rozwiązany przy pomocy analiz wykonywanych przy pomocy mikroskopu elektronowego systemu *Stem* w połączeniu z mapowaniem przy pomocy mikroskopy elektronowej.

Tańszym środkiem kompleksującym mógłby być zakalizowany węgiel brunatny. We wstępnych eksperymentach prowadzonych z użyciem węgla brunatnego otrzymano po 7 dniach 35 do 41% wyługowania. Używano zawiesiny węgla brunatnego o stężeniu od 0,5 do 10%. Stężenie zawiesiny 1-2% okazało się wystarczające. Dalsze zwiększanie stężenia nie wpływało na podwyższenie wydajności procesu.

Otrzymane przez nas wyniki są znacznie gorsze od rezultatów otrzymywanych przy metodzie kwaśnego ługowania ubogich rud miedzi. Jednak metoda ługowania w środowisku kwaśnym jest opłacalna tylko w przypadku rud niealkalicznych. Bosecker, Neuschütz i Scheffler [4] prowadzili badania nad ługowaniem węglanowych rud miedzi i cynku. Używali do tego celu mieszaniny hodowli *Th. ferrooxidans* i *Th. thiooxidans*, a pH środowiska obniżali rozcieńczonym H_2SO_4 do 4,0. Po 380 dniach doświadczenia otrzymali 31% wyługowania. Wynik ten jest znacznie mniej korzystny od otrzymanych przez nas, zarówno jeżeli chodzi o czas jak i ilość wyługowanej miedzi.

LITERATURA

- [1] Lejczak A., Kunicki-Goldfinger L., Ostrowski M., *Acta Microbiol. Polon.* 1980, v. 29, No. 1, 69-74.
- [2] Lejczak A., Ostrowski M., Kunicki-Goldfinger W., "Cuprum" 1980, Nr 2, 27-30.
- [3] Sakazuchi H., Torra A.E., Silver M., *Appl. Environ. Microbiol.* 31, 1976, 135.
- [4] Bosecker K., Neuschütz D., Scheffler V., *Microbiological Leaching of Carbonate Rich German Copper Shale., Metallurgical Applications*

of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena. Academic Press, New York, 1978. .

LEACHING OF COPPER FROM COVELLITE AND POST-FLOTATION WASTES IN ALKALINE ENVIRONMENT

Copper sulphide was leached by bacteria. Beginning with an initial pH of 9.1, the bacteria acidified the environment and at the same time leached up to 5 g copper per liter. It is characteristic that the pH values was sometimes stabilize at 4.0 - 5.0 and do not fall below this value. In other experiments the post-flotation wastes containing about 0.18 % copper were used as a substrate and Na_2EDTA was used as complexing agent. In this case the maximal percentage of copper leaching reached 93.3 %. In further experiments humic acids from brown coal and alkalized brown coal were used as complexing agents. In the case of humic acids maximal 75 % leaching was obtained and when alkalized brown coal was used 35 to 41 %. Parallel electron microscope observations and analysis on the preparations with electron microprobe showed that the number of copper sulphide crystals in the wastes being in immediate contact with the environment is very small.