بررسی امکان استخراج روی از کانی‌های کم عیار اکسیدی با استفاده از باکتری هتروتروف *Pseudomonas aeruginosa* و تطبیق باکتری به غلظت بالای یون روی

محمد مشکینی*+
تهران، جهاد دانشگاهی واحد صنعتی امیرکبیر، گروه محیط زیست معدنی

مهدی ایران‌نژاد، امیر رضا آزادمهر
تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی معدن و متالورژی

عبداله سمیعی بیرق
تهران، جهاد دانشگاهی واحد صنعتی امیرکبیر، گروه محیط زیست معدنی

چکیده: به دلیل رو به پایان بودن منابع پرعیار معدنی و ملاحظه‌های زیست محیطی، امروزه استخراج فلزهای با ارزش از باطله‌های معدنی و کانی‌های کم عیار با استفاده از میکروارگانیسم‌ها مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش، قابلیت باکتری *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) برای استخراج فلز روی از باطله‌های اکسیدی کم عیار معدن سرب و روی انگوران زنجان بررسی شده است. این باکتری در محیط کشت دارای گلوکز، اسید های آلی تولید می‌کند که باعث انحلال فلز روی از کانی آن می‌شود. ماده معدنی دارای ۱۴٪ فلز روی است که به صورت کانی اسمیت زونیت ($ZnCO_3$) می‌باشد. باکتری *Pseudomonas aeruginosa* در محیط کشت دارای گلوکز رشد داده شد و سپس شرایط بهینه آزمایش بیولیچینگ تعیین شد. نسبت جامد به مایع ۱:۱۰۰، گلوکز در محیط کشت ۶٪ و مدت زمان ۵ روز از شرایط بهینه و پارامترهای مؤثر بر بیولیچینگ ماده معدنی بود. ۴۱٪ فلز روی موجود در نمونه ماده معدنی در این شرایط به حالت محلول در آمد. پس از این مرحله با استفاده از روش کشت‌های متوالی، باکتری به غلظت بالای روی موجود در محیط تطبیق داده شد و آزمایش نهایی با استفاده از باکتری تطبیق یافته به یون روی و در شرایط بهینه تعیین شده از مرحله پیش انجام شد و درصد استخراج روی به ۶۲٪ رسید. با اندازه گیری pH محیط و تعیین درصد روی استخراج شده در دوره‌های زمانی برابر، شرایط آزمایش‌ها کنترل شد.

واژه‌های کلیدی: بیولیچینگ، اسمیت زونیت، سدوموناس آئروجینوسا، تطبیق باکتری.

KEY WORDS: *Bioleaching, Smithsonite, Pseudomonas aeruginosa, Bacteria adaptation.*

*عهده دار مکاتبات
+E-mail: meshkini@acecr.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

توسعه پایدار معدن‌کاری در آینده نیازمند برنامه‌ریزی برای کاهش وابستگی به کانسارهای تجدید ناپذیر و افزایش بازیابی و استفاده از منابع ثانویه است.

اهمیت مصرف فلز روی در صنایع گوناگون و از سوی دیگر رو به پایان بودن منابع اولیه معدنی آن، لزوم توجه به یافتن منابع ثانویه و همچنین استفاده از منابعی که تاکنون به عنوان باطله محسوب می‌شده‌اند را اثبات می‌کند. بیولیچینگ از جمله روش‌های نوینی می‌باشد که توانسته است جایگاه خود را در میان سایر روش‌های فراوری مواد معدنی پیدا کند و با توجه به برتری‌هایی که نسبت به سایر روش‌ها دارد انتظار می‌رود که کاربرد آن روز به روز گسترده‌تر و بیشتر از قبل شود [۱].

میکروارگانیسم‌ها هم‌چون باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها، فلزهای نامحلول موجود در کانی‌ها را به اجزای محلول تبدیل می‌کنند. انواع گوناگونی از میکروارگانیسم‌ها در بیولیچینگ روی کاربرد دارند. گونه‌های آوتوتروف[۱] و هتروتروف[۲] به ترتیب در بیولیچینگ منابع سولفیدی و اکسیدی روی به کار می‌روند. به دلیل نیاز میکروارگانیسم‌های هتروتروف به منابع کربن آلی و نبود آن در بیشتر منابع معدنی که تحت عملیات بیولیچینگ قرار می‌گیرند، استفاده از میکروارگانیسم‌های هتروتروف بسیار کمتر از میکروارگانیسم‌های آوتوتروف می‌باشد و کارهای مطالعاتی کمتری روی آن‌ها صورت گرفته است [۲].

در میان باکتری‌های هتروتروف، گونه‌های متعلق به گروه *Bacillus* و *Pseudomonas* در بیولیچینگ کانسارهای غیرسولفیدی کاربرد فراوانی دارند [۳]. همچنین از قارچ‌ها می‌توان به انواع *Penicillium* و *Aspergillus* اشاره کرد [۴]. میکروارگانیسم‌های هتروتروف به کربن آلی به عنوان منبع انرژی نیاز دارند. این میکروارگانیسم‌ها فراورده‌های جانبی متابولیکی از کربن آلی برای خوراک خود تولید می‌کنند که ممکن است با سطح کانی‌ها اندرکنش ایجاد کرده و موجب انحلال آنها شود. همچنین این میکروارگانیسم‌ها اسیدهای آلی مانند استیک، سیتریک، اگزالیک و کتوگلوکونیک تولید می‌کنند که مهم‌ترین عامل انحلال کانی می‌باشد [۵].

بیولیچینگ روی با استفاده از میکروارگانیسم‌های هتروتروف نخستین‌بار توسط *اسکنر* و *برگ استالر* در سال ۱۹۸۹ میلادی گزارش شده است. در این کار امکان استحصال روی از غبار فیلتر کارخانه ذوب مس به وسیله قارچ هتروتروف *P. simplicissimum* بررسی شده است [۶]. *کاسترو* و *همکاران* در سال ۲۰۰۰ میلادی باکتری‌هایی از گونه‌های *Bacillus* و *Pseudomonas* و قارچ‌هایی از گونه‌های *Aspergillus niger* و *Penicillium* را برای بیولیچینگ منابع سیلیکاته روی و نیکل به کار برده‌اند. در این کار عامل اصلی انحلال روی و نیکل، تولید اسیدهای آلی توسط باکتری‌ها و قارچ‌ها معرفی شده است. بالاترین میزان استحصال روی به مقدار ۶۶٪ با *Aspergillus niger* در مدت زمان کمی بیش از ۶ روز (۱۴۸ ساعت) گزارش شده است [۷]. در سال ۲۰۰۷ میلادی قابلیت استخراج فلزها از باطله‌های الکترونیکی با استفاده از هر دو نوع باکتری‌های آوتوتروف و هتروتروف توسط *سادیا الیاس* و *همکاران* بررسی شده است. باطله‌های الکترونیکی بیشتر دارای مس، آهن، روی و مقدار چشمگیری فلزهای گران بها می‌باشند. باکتری آوتوتروف مورد استفاده، گونه *Sulfobacillus sulfidooxidans* و باکتری هتروتروف گونه ناشناخته‌ی جدا شده از خاک همان منطقه بود. بهترین نتیجه با استفاده از ترکیب این باکتری‌ها با هم و اجرای عملیات بیولیچینگ با این ترکیب به دست آمده است [۸]. بیولیچینگ خاکستر به دست آمده از سوزاندن زباله‌های جامد شهری با استفاده از قارچ هتروتروف *Aspergillus niger* توسط *تانگ ژیانگ‌ژو* و *ین پنگ‌تینگ* در سال ۲۰۰۹ میلادی گزارش شده است. در این مطالعه سینتیک فرایند بیولیچینگ در نسبت‌های گوناگون جامد به مایع (۱:۱۰۰ تا ۶:۱۰۰) و با آزمایش در شرایط گوناگون بررسی شده است. در این روش پس از کشت قارچ و تولید سیتریک اسید توسط آن، نمونه خاکستر زباله به ظرف اضافه شده و آزمایش به صورت ناپیوسته[۳] انجام شده است. در این مطالعه با توجه به وجود مواد سمّی برای ادامه حیات میکروارگانیسم‌ها در خاکستر، بیشترین درصد جامد به مایع مجاز در محیط آزمایش نباید به بیش از ۶:۱۰۰ می‌رسید [۹]. در همین سال، استحصال مس، نیکل و روی از شیل‌های[۴] سیاه با عیار پایین به وسیله قارچ *Penicillium notatum* توسط *فوزیه آنجام* و *همکاران* گزارش شده است. بیشترین استحصال مس و نیکل به میزان ۴۹٪ و ۵۳٪ در محیط کشت دارای گلوکز و چغندر قند پس از ۳۳ و ۳۰ روز به دست آمده و بیشترین استحصال روی به میزان ۷۱٪ در محیط کشت اسیدی

(۱) Outotrophs
(۲) Hetrotrophs
(۳) Bach
(۴) Shale

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱ـ ترکیب شیمیایی نمونه مورد مطالعه.

ترکیب	ZnO	Al_2O_3	SiO_2	CaO	Fe_2O_3	بقیه ترکیب‌ها	L.O.I
درصد وزنی	۱۸/۸	۶/۵	۲۱/۵	۲۰/۹	۲/۹۱	۵/۳۷	۲۴/۷۵

دارای انبه پس از ۳۰ روز به دست آمده است [۱۰]. در سال ۲۰۱۰ میلادی *سادیا الیاس* و *همکاران*، قابلیت استخراج فلزها از باطله‌های الکترونیکی را با باکتری‌هایی متفاوت از کار قبلی خود مطالعه کردند. در این مطالعه ترکیبی از باکتری‌های آوتوتروف و هتروتروف تطبیق یافته به محیط استفاده شده است [۱۱].

یون روی به مقدار کم (10^{-7} – 10^{-5} مول) برای حیات باکتری‌ها مورد نیاز است اما افزایش مقدار آن از حد مجاز باعث توقف رشد و حتی مرگ باکتری‌ها می‌شود [۱۲]. اما از ویژگی‌های تمام باکتری‌ها، توانایی تطبیق[۱] یافتن آن‌ها به شرایط محیط می‌باشد به طوری که حتی می‌توانند به مقدارهای بسیار بالای یون روی موجود در محیط عادت کرده و به فعالیت خود ادامه دهند. در حالت کلی روش مدون و مشخصی برای تطبیق باکتری‌ها به یون فلزهای گوناگون وجود ندارد [۱۳]. کارهایی برای تطبیق باکتری *Acidithiobacillus ferrooxidans* به یون روی انجام شده و نتیجه‌های موفق آمیزی نیز به دست آمده است [۱۴، ۱۳]. در مورد تطبیق میکروارگانیسم‌های هتروتروف به غلظت بالای یون‌های فلزی نیز کارهای همانندی انجام شده که در تمام موردها فرایند تطبیق باعث افزایش تعداد و فعالیت میکروارگانیسم شده و درصد استخراج نیز افزایش یافته است [۱۶، ۱۵].

با بررسی منابع مشخص شد که هیچ گونه عملیات بیولیچینگ با استفاده از باکتری *Pseudomonas Aeruginosa* بر روی منابع غیر سولفیدی روی گزارش نشده است. هدف از این پژوهش، تعیین قابلیت انحلال کانی اکسیدی روی با استفاده از این باکتری و همچنین ارایه روشی برای تطبیق باکتری به غلظت بالای یون روی موجود در محیط می‌باشد تا به این وسیله بازیابی این فلز از کانی آن افزایش بیابد.

بخش تجربی

ماده معدنی و باکتری

نمونه مورد مطالعه از باطله‌های اکسیدی معدنی منطقه انگوران زنجان تهیه شده است. پس از آماده سازی نمونه، ترکیب شیمیایی و کانی شناسی آن به وسیله تجزیه‌های XRD و XRF تعیین شد که نتیجه در جدول‌های ۱ و۲ گزارش شده است.

باکتری مورد استفاده در این مطالعه *Pseudomonas Aeruginosa* (ATCC 9027) بود که به صورت سرم خشک از بانک میکروارگانیسم‌های مرکز پژوهش‌های صنعتی ایران تهیه شد. پس از آماده سازی اولیه، باکتری‌ها در محیط کشت جامد آگار در پلیت‌های[۲] بسیاری کشت شده و برای استفاده در یخچال نگهداری می‌شد. هر هفته از پلیت‌های باکتری، ساب کالچرهای[۳] جدید تهیه می‌شد. ترکیب و درصد مواد تشکیل دهنده محیط کشت شامل پپتون، ۲٪؛ یست اکستراکت[۴]، ۰/۲٪؛ KH_2PO_4، ۰/۰۳؛ $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۰۷۵ و گلوکز (درصدهای متفاوت با توجه به شرایط آزمایش) می‌باشد. برای جلوگیری از قهوه‌ای شدن[۵] [۱۷] گلوکز بر اثر گرمای اتوکلاو، محلول گلوکز جداگانه آماده شده و پس از سترون کردن در دمای ۱۱۵ درجه سلسیوس به محیط کشت افزوده شده است.

روش انجام آزمایش

تمامی آزمایش‌ها در ارلن مایرهای ۵۰۰ میلی‌لیتری که دارای ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت بودند انجام شده است. یک روز پس از کشت باکتری و تکثیر آن در ارلن، ماده معدنی سترون شده به داخل ارلن‌ها افزوده شده و ارلن‌ها در گرمخانه قرار داده می‌شد. در فاصله‌های زمانی یک روزه برای تعیین مقدار روی و pH، از ظرف‌های آزمایش نمونه‌گیری می‌شد و همچنین با توجه به هتروتروف بودن میکروارگانیسم‌ها و نیاز آن‌ها به منبع غذا و انرژی، هر روز پس از برداشتن ۱۰ میلی‌لیتر نمونه به همان میزان به ارلن‌ها محیط کشت جدید افزوده شده است.

برای کشت باکتری از استاندارد شماره یک مکفارلند[۶] (۳۰۰ میلیون باکتری در میلی‌لیتر) و نسبت تلقیح ده درصد استفاده شده است [۱۸]. به جز در موارد ذکر شده، در بقیه آزمایش‌ها نسبت جامد به مایع ۱:۱۰۰ (۱ به ۱۰۰) در نظر گرفته شده است. مقدار محیط کشت افزوده شده و همچنین مقدار حجمی که برای انجام تجزیه‌ها از محیط برداشته شده در محاسبه‌ها منظور می‌شد.

(۱) Adaptation
(۲) Plate
(۳) Yeast extyact
(۴) Subculture
(۵) Caramelization
(۶) McFarand

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲ـ تجزیه کانی شناسی نمونه مورد مطالعه.

نام کانی	درصد تقریبی
اسمیت‌زونیت	۲۰-۲۲
همی‌مورفیت	۲-۳
کلسیت	۳۳-۳۵
کوارتز	۱۷-۱۸
کلریت	۴-۵
میکا (موسکویت-ایلیت)	۵-۷
هماتیت	۳-۴
دولومیت	۲> (کمتر از ۲٪)

در مرحله تطبیق باکتری *Pseudomonas aeruginosa* به روی موجود در محیط از روش کشت‌های متوالی باکتری، با افزایش تدریجی غلظت روی محیط استفاده شده است. به این ترتیب که باکتری پس از ۵ روز از ظرف دارای مقدار مشخص روی برداشته شده و در ظرف جدیدی که دارای مقدار بیشتری روی بود کشت شده است. این عملیات تا ۵ بار تکرار شد [۱]. در پایان باکتری مرحله ۵ جدا شده و پس از کشت در محیط کشت جدید، به آن یک گرم ماده معدنی افزوده و پس از ۵ روز انجام عملیات بیولیچینگ، درصد روی استخراجی برآورد شد. غلظت روی موجود در محلول با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. تغییر مورفولوژیکی سطح کانی، قبل و بعد از انجام عملیات بیولیچینگ توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل XL30 Philips بررسی شد.

نتیجه‌ها و بحث

اثر زمان بر بیولیچینگ

برای تعیین مدت زمان بهینه بیولیچینگ نمونه ماده معدنی مورد نظر، سه ارلن دارای محیط کشت با مقدار گلوکز ۲٪ آماده شد. در ارلن شماره ۱ و ۲ باکتری کشت داده شد اما به ارلن شماره ۲ ماده معدنی افزوده نشد. در ارلن شماره ۳ باکتری کشت نشد اما ماده معدنی افزوده شد. ارلن شماره ۲ (دارای باکتری و بدون ماده معدنی) به عنوان شاهد برای بررسی چگونگی روند رشد باکتری در محیط کشت و سنجش مقدار pH و ارلن شماره ۳ (بدون باکتری و حاوی ماده معدنی) به عنوان شاهد برای تعیین مقدار حل شده ماده معدنی در محیط کشت در نظر گرفته شدند. عملیات بیولیچینگ به مدت ۲۰ روز با شرایط یکسان انجام شد. در فواصل زمانی مشخص از ارلن‌ها نمونه گیری شده و درصد روی استخراجی تعیین می‌شد (جدول ۳). همان‌گونه که در جدول ۳ دیده می‌شود درصد استخراج روی در ارلن شماره ۱ بسیار بیشتر از ارلن شماره ۳ (بدون باکتری) می‌باشد. تغییر درصد استخراج روی در ارلن شماره ۳ نسبت به زمان در عمل بسیار ناچیز بوده و نشان‌دهنده این است که خود محیط کشت به تنهایی قدرت انحلال روی موجود در ماده معدنی را ندارد. در فاصله‌های زمانی ۵ روز pH در هر سه ارلن اندازه‌گیری و مقدارهای آن در جدول ۴ داده شده است. روشن است که pH اولیه هر سه ارلن قبل از کشت باکتری با هم برابر می‌باشد. یک روز پس از کشت باکتری در ارلن‌های شماره ۱ و ۲ دوباره pH اندازه‌گیری شده که کاهش چشمگیر مقدار آن به علت تولید اسید توسط باکتری‌ها در محیط کشت می‌باشد. با توجه به اینکه در ارلن شماره ۳ باکتری کشت نشده هیچ تغییری در pH محیط به وجود نیامده است. پس از افزودن ماده معدنی به ارلن‌های شماره ۱ و ۳ بی‌درنگ دوباره مقدار pH آن‌ها اندازه‌گیری شد که با توجه به قلیایی بودن ماده معدنی pH به سرعت بالا رفت. در طول آزمایش، مقدار pH در ارلن‌های شماره ۱ و ۳ تغییر چندانی نکرد و همچنان در حالت قلیایی باقی ماند اما در ارلن شماره ۲ مقدار آن کاهش می‌یافت. دلیل کاهش نیافتن مقدار pH در ارلن شماره ۱ را می‌توان به حضور مقدار زیادی ماده کربناته در محیط نسبت داد که هرگونه تولید اسید را به سرعت خنثی کرده و pH محیط را بالا نگه می‌داشت. در ارلن شماره ۳ نیز به علت نبود باکتری عملاً اسیدی تولید نمی‌شد که باعث کاهش pH شود. با توجه به نتیجه‌های به دست آمده زمان بهینه برای طول مدت بیولیچینگ از لحظه اضافه کردن ماده معدنی به ارلن حاوی باکتری، ۵ روز بوده و افزایش زمان تأثیر چندانی بر افزایش درصد روی استخراجی نداشت.

اثر مقدار گلوکز محیط کشت بر بیولیچینگ

با توجه به اینکه اسیدهای آلی از تخمیر گلوکز به دست می‌آیند در نتیجه می‌توان حجم اسید تولید شده توسط باکتری را به مقدار دسترسی به گلوکز نسبت داد [۵]. برای تعیین مقدار بهینه گلوکز چهار ارلن دارای محیط کشت با ترکیب مواد گفته شده

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳ـ درصد روی استخراج شده در زمان‌های متفاوت.

	درصد استخراج روی						
	۲ روز	۵روز	۸ روز	۱۲روز	۱۵ روز	۱۸ روز	۲۱ روز
ارلن شماره۱	۱۳	۲۰	۲۱	۲۱	۲۱	۲۲	۲۲
ارلن شماره۲	۰						
ارلن شماره۳	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱

جدول ۴ـ مقدار تغییر pH محیط در زمان های متفاوت.

	pH محیط						
	قبل از کشت باکتری	پس از کشت باکتری					
		قبل از افزودن ماده معدنی	پس از افزودن ماده معدنی				
			۰ روز	۵روز	۱۰روز	۱۵روز	۲۰روز
ارلن شماره۱	۷	۴/۴	۸/۳	۸/۳	۸/۳	۸/۳	۸/۳
ارلن شماره۲		۴/۴	۴/۴	۴/۲	۴/۲	۴	۴
ارلن شماره۳		۷	۸/۳	۸/۵	۸/۵	۸/۵	۸/۵

جدول ۵ ـ مقدار گلوکز افزوده شده به محیط کشت و درصد استخراج روی در مدت زمان ۵ روز.

	درصد گلوکز محیط کشت	درصد استخراج روی
ارلن شماره ۱	۲	۲۱
ارلن شماره ۲	۴	۲۵
ارلن شماره ۳	۶	۳۸
ارلن شماره ۴	۸	۳۰

و مقدارهای گلوکز ۲، ۴، ۶ و ۸ درصد تهیه شد. با توجه به نتایج جدول ۵ دیده می‌شود که مقدار بهینه گلوکز در محیط کشت ۶٪ می‌باشد که ۳۸٪ روی با این محیط کشت حل شده است. روند افزایشی درصد استخراج روی و کاهش pH به ترتیب از ارلن شماره ۱ تا ۳ نشان دهنده توانایی باکتری برای مصرف مقدار بیشتری گلوکز می‌باشد. در ارلن شماره ۴ که دارای ۸٪ گلوکز در ترکیب محیط کشت خود بوده شاید به علت زیاد بودن مقدار گلوکز، باکتری نتوانست آن را مصرف کند. در جدول ۶ تغییرهای pH در آزمایشِ تعیین اثر مقدار گلوکز محیط کشت بر بیولیچینگ، داده شده است.

اثر مقدار نسبت جامد به مایع بر بیولیچینگ

سه آزمایش با نسبت‌های جامد به مایع متفاوت برای تعیین حالت بهینه، طراحی و انجام شد. نتیجه‌ها در جدول ۷ نشان می‌دهد که بیشترین درصد استخراج در نسبت جامد به مایع ۱:۲۰۰ به‌دست آمده است اما با توجه به تفاوت اندک با نسبت جامد به مایع ۱:۱۰۰ و همچنین مسائل اقتصادی (با کاهش نسبت جامد به مایع هزینه عملیات‌های صنعتی افزایش می‌یابد) در ادامه از این نسبت به عنوان مقدار بهینه استفاده شد.

انجام بیولیچینگ با مقدارهای بهینه

سرانجام با تنظیم کردن شرایط آزمایش بر مقدارهای بهینه به دست آمده از آزمایش‌های قبلی و انجام چندین آزمایش نهایی، ۴۱٪ از فلز روی موجود در کانسار در محیط کشت حل شد.

تطبیق باکتری به یون روی

مقدار ماده معدنی اضافه شده به محیط در هر مرحله و نتیجه‌های به دست آمده از آزمایش‌های بیولیچینگ در مرحله تطبیق باکتری در جدول ۸ داده شده است.

کاهش درصد استخراج روی در هر مرحله نسبت به مرحله قبلی مربوط به افزایش مقدار نسبت جامد به مایع می‌باشد

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۶ ـ مقدار pH محیط در آزمایش‌های بیولیچینگ برای تعیین مقدار بهینه گلوکز.

	درصد گلوکز محیط کشت	pH محیط				
		قبل از کشت باکتری	پس از کشت باکتری			
			قبل از اضافه کردن ماده معدنی	پس از اضافه کردن ماده معدنی		
				۰روز	۲روز	۵ روز
ارلن شماره ۱	۲	۷	۴٫۴	۸٫۳	۸٫۳	۸٫۲
ارلن شماره ۲	۴	۷	۴	۸٫۳	۸٫۲	۸٫۳
ارلن شماره ۳	۶	۷	۳٫۸	۸٫۲	۸٫۱	۸٫۳
ارلن شماره ۴	۸	۷٫۱	۴	۸٫۳	۸٫۲	۸٫۳

جدول ۷ـ درصد روی استخراج شده در آزمایش‌های بیولیچینگ در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت برای تعیین مقدار بهینه نسبت جامد به مایع.

	مقدار ماده معدنی اضافه شده (g)	درصد استخراج روی
ارلن شماره ۱	۰٫۵	۴۰
ارلن شماره ۲	۱	۳۸
ارلن شماره۳	۲	۲۰

جدول ۸ ـ مقدار ماده معدنی اضافه شده به محیط در هر مرحله از کشت‌های متوالی و درصد استخراج روی.

	مقدار ماده معدنی اضافه شده (g)	درصد استخراج روی
مرحله اول	۱	۳۸
مرحله دوم	۲	۲۵
مرحله سوم	۴	۲۰
مرحله چهارم	۸	۱۵
مرحله پنجم	۱۶	۱۱

که باعث کاهش مقدار نسبت اسید مؤثر به ماده معدنی می‌شود و همچنین اثر سمی بودن روی بر باکتری‌ها نیز باعث کاهش درصد استخراج می‌شود. اما با وجود کاهش درصد استخراج نسبت به مرحله پیشین، افزایش آن نسبت به باکتری تطبیق نیافته در شرایط حضور مقدار ۲ گرم ماده معدنی کاملاً واضح است (با جدول ۷ مقایسه شود).

باکتری مرحله پنجم پس از جدا کردن در محیط جدید کشت داده شد. پس از رشد باکتری یک گرم ماده معدنی به آن افزوده شده و به مدت ۵ روز عملیات بیولیچینگ انجام شد. در طول عملیات در فاصله‌های زمانی مشخص از محیط برای اندازه گیری pH نمونه‌گیری انجام شده و نتیجه‌های آن در جدول ۹ نشان داده شده است.

پس از ۵ روز مشخص شد که درصد استخراج روی ۲۱٪ افزایش یافته و ۶۲٪ از روی موجود در ماده معدنی در محیط کشت حل شده است.

اثر بیولیچنیگ بر مورفولوژی ماده معدنی

در شکل ۱ تصویر SEM از کانی دارای روی قبل و بعد از بیولیچینگ نشان داده شده است. در این تصویر تغییر مورفولوژی به روشنی دیده می‌شود. با توجه به اینکه ماده معدنی مورد مطالعه اکسیدی بود، به راحتی توسط اسید حل شد و شکل ظاهری آن تغییر یافت. از مقایسه دو تصویر دیده می‌شود که سطح کانی پس از عملیات بیولیچینگ به مقدار زیادی خورده شده است که نشان دهنده عملکرد اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری می‌باشد.

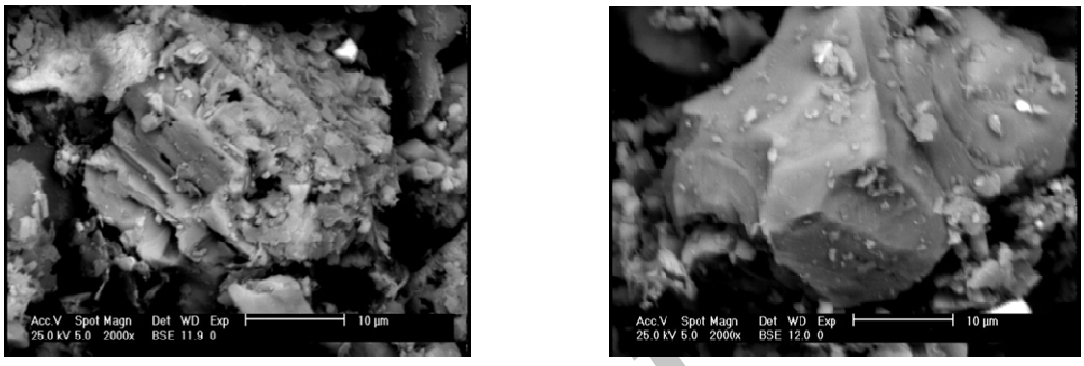
نتیجه‌گیری

در این پژوهش عملکرد باکتری هتروتروف *Pseudomonas aeruginosa* در بازیابی فلز روی از باطله‌های معدنی کم عیار اکسیدی مورد مطالعه قرار گرفت. مهم‌ترین پارامترهای مؤثر در بیولیچینگ کانی اکسیدی کم عیار روی شامل زمان، مقدار گلوکز موجود در محیط کشت و نسبت جامد به مایع می‌باشد. برای تعیین مدت زمان بهینه بیولیچینگ، یک آزمایش به مدت ۲۰ روز طراحی شد و در دوره‌های زمانی ۲ روز به طور مرتب از محیط برای اندازه‌گیری درصد استخراج روی

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۹ـ مقدار pH محیط در ارلن کشت شده توسط باکتری تطبیق یافته به روی.

	pH محیط				
	قبل از کشت باکتری	پس از کشت باکتری			
		قبل از اضافه کردن ماده معدنی	پس از اضافه کردن ماده معدنی		
			۰ روز	۲ روز	۵ روز
ارلن شماره ۱	۷	۳٫۸	۸٫۳	۸٫۳	۸٫۲



شکل ۱ـ تصویرهای SEM از کانی اسمیت زونیت در نمونه مورد مطالعه، الف: قبل از انجام عملیات، ب: پس از انجام عملیات بیولیچینگ با باکتری تطبیق یافته به یون روی.

نمونه گیری شد و سرانجام با توجه به نتیجه‌ها، مدت زمان ۵ روز به عنوان مقدار بهینه انتخاب شد.

از آنجا که از ویژگی‌های بارز باکتری‌های هتروتروف، تولید اسیدهای آلی در محیط کشت دارای گلوکز کافی می‌باشد، ۴ آزمایش با استفاده از مقدارهای متفاوت گلوکز در محیط کشت برای به دست آوردن مقدار بهینه گلوکز طراحی شد که سرانجام محیط کشت دارای ۶٪ گلوکز بیشترین مقدار استخراج روی را موجب شد.

اثر نسبت جامد به مایع بر روی بیولیچینگ با طراحی سه آزمایش با نسبت‌های گوناگون بررسی شد، سرانجام نسبت جامد به مایع ۱:۱۰۰ به عنوان مقدار بهینه انتخاب شد.

پس از بهینه کردن عوامل مؤثر بر عملیات بیولیچینگ و با استفاده از باکتری تطبیق نیافته ۴۱٪ از روی موجود در نمونه اولیه استخراج شد. پس از این مرحله به منظور افزایش درصد استخراج روی از کانی آن از روش کشت‌های متوالی برای تطبیق باکتری استفاده شد که با استفاده از این روش در نهایت ۶۲٪ از روی موجود در نمونه به داخل محلول وارد شد. بررسی تغییر مورفولوژی سطح نمونه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی قبل و بعد از انجام بیولیچینگ نیز به‌خوبی نشان دهنده عمل اسید تولید شده توسط باکتری بر روی آن می‌باشد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱/۲۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۱۶

مراجع

[1] Rossi G., "Biohydrometallutgy", McGraw-hill (1990).

[2]Nalini J., Sharma D.K., Biohydrometallurgy for Nonsulfidic Minerals-A Review, *Geomicrobiology*, **21**, p. 135 (2004).

Archive of SID
www.SID.ir

[3] Karavaiko G., Rossi G., Agate A., Groudev S., Avakyan Z., "Biogeotechnology of Metals-A Manua", Centre for International Projects, Moscow (1988).

[4] Ehrlich HL, Rossi G., "Other bioleaching Processes Microbial Mineral Recovery", McGraw-Hill (1990).

[5] Pratibha V., Arvind G., Organic Acid production in Vitro and Plant Growth Promotion in Maize under Controlled Environment by Phosphate-Solubilizing Fluorescent Pseudomonas, *BMC Microbiology*, **9**, p. 174 (2009).

[6] Schinner F., Burgstaller W., Extraction of Zinc from Industrial Waste by Penicillium sp, *Appl Environ Microbiol*, **55**(5), p. 1153 (1989).

[7] Castro I.M., Fietto J.L.R., Vieira R.X., Tropia M.J.M., Campos L.M.M., Paniago E.B., Brandao R.L., Bioleaching of Zinc and Nickel from Silicates Using Aspergillus Niger Cultures, *Hydrometallurgy*, **57**, p. 39 (1989).

[8] Ilyas S., Munir A.A., Shahida B.N., Afzal G.M., Bioleaching of Metals from Electronic Scrap by Moderately Thermophilic Acidophilic Bacteria, *Hydrometallurgy*, **88**, p. 180 (2007).

[9] Tong-Jiang X., Yen-Peng T., Fungal Bioleaching of Incineration Fly Ash: Metal Extraction and Modeling Growth kinetics, *Enzyme and Microbial Technology*, **44**, p. 323 (2009).

[10] Anjum F., Bhatti H.N., Ghauri M.A., Bhatti I.A., Asgher M., Asi M.R., Bioleaching of Copper, Cobalt and Zinc from Black Shale by Penicillium Notatum, *African Journal of Biotechnology,* **8**(19), p. 5038 (2009).

[11] Ilyas S., Ruan Ch., Bhatti H.N., Ghauri M.A., Anwar M.A., Column Bioleaching of Metals from Electronic Scrap, *Hydrometallurgy*, **101**, p. 135 (2010).

[12] Atmaca S., Gul K., Çicek R., The Effect of Zinc on Microbial Growth, *Tr. J. of Medical Sciences,* **28**, p. 595 (1998).

[13] Haghshenas D.F., Keshavarz A.E., Amouei T.M., Bonakdarpour B., Nasernejad B., Adaptation of Acidithiobacillus Ferrooxidans to High Grade Sphalerite Concentrate, *Minerals Engineering*, **22**, p. 1299 (2009).

[14] Astudillo C., Acevedo F., "Adaptation of Sulfolobus Metallicus to High Pulp Densities in the Biooxidation of a Flotation Gold Concentrate", *Hydrometallurgy*, **92**, p. 11 (2008).

[15] Mehta K.D., Das C., Pandey B.D., Leaching of Copper, Nickel and Cobalt from Indian Ocean Manganese Nodules by Aspergillus Niger, *Hydrometallurgy*, **105**, p. 89 (2010).

[16] Valix M., Tang J.Y., Malik R., Heavy Metal Tolerance of Fungi, *Minerals Engineering*, **14**(5), p. 499 (2001).

[۱۷] راشدی، حمید؛ جمشیدی، اسماعیل، بررسی تولید رامونولیپید توسط میکروارگانیسم سودوموناس آئروجینوزا جدا شده از مخازن نفتی، *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، (۱)**۲۵**، (۱۳۸۵).

[18] Benson, "Microbiological Applications Lab Manual", 8th ed, McGraw-hill (2001).

Archive of SID

www.SID.ir