

Klaudia WESOŁOWSKA
Agnieszka FIJAŁKOWSKA
Instytut Metali Nieżelaznych w Gliwicach
Krzysztof ULFIG
Politechnika Szczecińska

PRÓBY WYKORZYSTANIA MIKROFLORY GRZYBOWEJ W PROCESIE BIOŁUGOWANIA MIEDZI

W pracy przedstawiono możliwości bioługowania miedzi z wybranych niskojakościowych surowców metalonośnych. W badaniach wykorzystano grzyby mikroskopijne, które pozyskano z terenów przemysłu metali nieżelaznych. Stwierdzono, że mikroflorę autochtoniczną wyizolowaną z materiałów poflotacyjnych stanowią głównie grzyby. Identyfikacja pozyskanych szczepów wskazuje na obecność: *Penicillium spp.*, *Penicillium nidulans*, *Emmericella nidulans*, *Paecilomyces varioti*. Na podstawie wykonanych badań wykazano możliwość prowadzenia procesów grzybowego ługowania metali w środowisku alkalicznym. Zastosowanie mikroflory grzybowej oraz właściwy dobór bioreaktora i warunków procesowych mogą stać się korzystną alternatywą odzysku metali z koncentratów i odpadów poflotacyjnych, w porównaniu z dobrze poznanym bioługowaniem z udziałem bakterii kwasolubnych.

1. Wprowadzenie

Znaczącą ilość wytwarzanych w Polsce odpadów związanych z eksploatacją złóż surowców mineralnych stanowią, powstające w przemyśle miedziowym, odpady poflotacyjne (ponad 25 mln Mg/rok). Składowanie ich jest uciążliwe i często stanowi źródło zagrożenia środowiska naturalnego, wpływając na wszystkie jego komponenty: glebę, szatę roślinną, wodę i powietrze atmosferyczne [9]. Skutecznym rozwiązaniem trudności związanych z zagospodarowaniem odpadów poflotacyjnych może być praktyczne wykorzystanie technik biometalurgicznych.

Dane literaturowe [1-3, 5, 6, 8, 12, 16-19] wskazują na możliwości zastosowania różnych szczepów mikroorganizmów do odzysku metali użytecznych (takich jak np. miedź, nikiel, cynk, złoto), zawartych w minerałach siarczko-
wych i tlenkowych.

Obecnie wykorzystywane na świecie aplikacje przemysłowe dotyczą głównie procesów bioługowania acidofilnego. Są one prowadzone z udziałem kwasolubnych bakterii rodzaju: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Acidithiobacillus caldus*, *Leptospirillum spp.* [1, 2, 12, 16]. Dobór optymalnych warunków procesowych pozwala na właściwe sterowanie metabolizmem zastosowanej w badaniach mikroflory.

Charakter odpadów poflotacyjnej technologii wzbogacania węglanowych rud miedzi skłania do poszukiwania biologicznych metod odzysku metali, z ograniczeniem lub pominięciem wstępnego ich zakwaszania na drodze chemicznej. Takie rozwiązanie daje bioługowanie z udziałem mikroflory grzybowej. Mechanizm ługowania grzybowego jest odmienny od bakteryjnego, a polega na wydzielaniu metabolitów zdolnych do wiązania metali [1, 2, 17].

Gatunki grzybów zdolne do produkcji dużych ilości kwasów organicznych, znajdujące zastosowanie w przemyśle, to np.: *Penicillium spp.*, *Aspergillus niger* (produkujące wiele kwasów organicznych), *Yarrowia lipolytica* (kwas cytrynowy), *Mucor spp.* (kwas fumarowy i glukonowy), *Schizophyllum commune* i *Paecilomyces varioti* (kwas maleinowy) [1-3, 8].

Zasadniczym celem pracy było sprawdzenie możliwości bioługowania miedzi z wybranych niskojakościowych surowców metalonośnych, przy wykorzystaniu autochtonicznych grzybów mikroskopijnych izolowanych z terenów przemysłowych. Zakres pracy obejmował: izolację mikroflory autochtonicznej z odpadów poflotacyjnych, identyfikację gatunkową pozyskanych szczepów, przygotowanie biopreparatów oraz laboratoryjne testy bioługowania miedzi.

2. Materiały i metodyka badań

Materiał do badań stanowiły koncentraty i odpady po chemiczno-flotacyjnej technologii wzbogacania węglanowych rud miedzi. Charakterystyka tych materiałów przedstawia się następująco: pH – ok. 6 i 7, uziarnienie – <0,04 mm dla ok. 90% próbki, zawartość miedzi w osadach – ok. 10 i 4% Cu (w zależności od miejsca poboru próbki). Uziarnienie poddawanych badaniom prób oznaczono metodą sitową.

Izolację szczepów i bioługowanie miedzi przeprowadzono w bioreaktorach dynamicznych, z wykorzystaniem płynnych podłoży mineralnych. Zawartość materiałów poflotacyjnych w stosunku do roztworu ługującego wynosiła 1, 2 i 10% wag./obj. Próbki poddawane procesom bioługowania zaszczepiano mikroflorą autochtoniczną. W pracy przyjęto następujące parametry procesowe: czas procesu – 4 tygodnie, temperatura – 30°C, płyny ługujące w postaci pożywek: Czapek–Doxa (pH = 6,7) oraz Sabourauda (pH = 5,6). Podłoża charakteryzowały się następującym składem mineralnym (na 1 dm³ wody dejonizowanej):

- K₂HPO₄ – 1 g, NaNO₃ – 3 g, MgSO₄ · 7H₂O – 0,5 g, KCl – 0,5 g, FeSO₄ · 6 H₂O – 0,01 g, sacharoza – 30 g, ekstrakt drożdżowy – 1 g,
- Sabourauda: glukoza – 40 g, pepton – 10 g.

Podstawowa kontrola analityczna obejmowała oznaczenia: stężenia miedzi jako głównego wskaźnika efektywności bioługowania (metodą spektrofotometryczną), odczynu pH (za pomocą pH-metru firmy Elmetron) oraz liczebności mikroflory zawartej w bioreaktorach (metodą posiewu powierzchniowego na zestalonych podłożach agarowych). Dodatkowo wykonano identyfikację wyizolowanych mikroorganizmów. Pozyskanie czystych szczepów grzybowych odbywało się metodą pasażowania na pożywcę agarowej (MEA – *Malt extract agar*), zawierającej chloramfenikol w stężeniu 0,1 g/l, lub metodą rozcieńczeń w soli fizjologicznej. Identyfikacja mikroflory pod względem gatunkowym była możliwa poprzez analizę ich cech makro- i mikromorfologicznych. W tym celu wykorzystano wybrane pozycje piśmiennictwa taksonomicznego [4, 7, 13-15].

3. Omówienie wyników badań

3.1. Izolacja i identyfikacja szczepów

Na podstawie laboratoryjnych testów prowadzonych w zakresie izolacji zaobserwowano, że mikroflorę autochtoniczną wyizolowaną z materiałów poflotacyjnych stanowią głównie grzyby mikroskopowe. Wyniki identyfikacji pozyskanych szczepów wskazują na obecność: *Penicillium spp.*, *Penicillium nidulans*, *Emmericella nidulans*, *Paecilomyces varioti*. Większość wyizolowanych mikroorganizmów należała do gatunku *Paecilomyces varioti*. Jest to grzyb termotolerancyjny, mający optymalną temperaturę wzrostu 25-35°C, ale wykazujący jeszcze wzrost nawet w 60°C. Głównym siedliskiem tego grzyba jest gleba, chociaż izolowany pojawiał się często w wielu innych miejscach. Charakteryzuje się on bardzo dużą zdolnością wytwarzania kwasów organicznych, zakwaszających środowisko. Pozostałe wyizolowane grzyby również są gatunkami wszędobylskimi, występującymi w glebie i innych siedliskach. Organizmy te mają zdolność do rozkładu wielu substratów oraz produkcji kwasów organicznych przyspieszających korozję metali (biokorozję).

3.2. Bioługowanie miedzi

Wybrane wyniki kontroli analitycznej prowadzonych procesów uśredniono i zestawiono w tab. 1.

Wykazano, że biologiczne ługowanie miedzi z udziałem autochtonicznej mikroflory grzybowej daje możliwość prowadzenia procesu odzysku metali bez wstępnego zakwaszania materiałów po chemiczno-flotacyjnej technologii wzbogacania węglanowych rud miedzi. Takie rozwiązanie stanowi alternatywę dla bioługowania kwaśnego z wykorzystaniem bakterii acidofilnych.

Tabela 1. Wyniki oznaczeń analitycznych (dla wybranych wskaźników) w zależności od parametrów procesowych (cykl 4-tygodniowy, temp. 30°C)

Wskaźnik	Serie badawcze i rodzaj pożywki ługującej					
	1	2	3	4	5	6
	Cz-D**	S***	Cz-D	S	Cz-D	S
Stężenie materiału poflotacyjnego w bioreaktorze [%]	1	1	2	2	10	10
Liczebność mikroflory na początku procesu MF ₀ [j.t.k./ml]	10 ⁸	10 ¹⁰	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸
Liczebność mikroflory po procesie MF _k [j.t.k./ml]	10 ⁴	10 ⁷	10 ¹⁰	10 ¹²	10 ⁶	10 ⁵
Odczyn na początku procesu pH ₀	7	5,6	7	5,6	7	5,6
Odczyn na końcu procesu pH _k	9	8	8	8	8	8,6
Stężenie wylugowanego metalu Cu [mg/l]	30	113	40	300	154	300

* j.t.k. – jednostek tworzących kolonie

** Cz-D – pożywka Czapek–Doxa,

*** S – pożywka Sabourauda

Stężenie autochtonicznej mikroflory grzybowej wprowadzonej do bioreaktorów utrzymywało się na wysokim poziomie. Liczba mikroorganizmów po 4-tygodniowym procesie bioługowania kształtowała się na poziomie 10⁴-10¹² j.t.k./ml.

Najistotniejszym elementem oceny efektywności procesu jest określenie ilości odzyskanych metali z koncentratów i odpadów do roztworu ługującego. Analiza zawartości metali w roztworach po procesie bioługowania wskazuje na zróżnicowaną efektywność, zależną od rodzaju materiału poddanego procesowi. Dodatkowy wpływ na skuteczność procesu wykazały takie czynniki, jak: czas bioługowania, warunki środowiskowe (temperatura, natlenienie), a także rodzaj zastosowanego szczepu mikroorganizmów.

Najlepsze wyniki grzybowego bioługowania miedzi uzyskano dla próbek koncentratów poflotacyjnych o najwyższej zawartości miedzi. Istotny wpływ na skuteczność procesu miało zastosowanie pożywki Sabourauda. Wykazano, że stężenie miedzi w roztworze ługującym Sabourauda po 4-tygodniowym czasie badań kształtuje się na poziomie od ponad 100 do ok. 300 mg/l, w zależności od stężenia materiału poflotacyjnego (1, 2 i 10%). W układach porównawczych z zastosowaniem roztworu ługującego Czapek–Doxa uzysk miedzi był znacznie

niższy i wynosił od 30 do ponad 150 mg/l. Korzystnym rozwiązaniem okazało się wydłużenie czasu procesu. Najwyższy odzysk miedzi (na poziomie 580 mg/l) zanotowano po 6 tygodniach procesu prowadzonego w bioreaktorach zawierających materiał poflotacyjny w pożywce ługującej Sabourauda.

Badania kontrolne wykonane w próbkach bez mikroflory wskazują jedynie na nieznaczny efekt ługowalności miedzi (do ok. 1,5 mg/l), spowodowany zapewne ługowaniem chemicznym. Badania te potwierdzają, że obserwowane procesy ługowania zachodzą na drodze biologicznej.

Biorąc pod uwagę wyniki bioługowania miedzi otrzymane w badaniach innych naukowców, efektywność odzysku tego metalu z polskich odpadów poflotacyjnych przy użyciu autochtonicznych szczepów grzybów mikroskopijnych nie jest w pełni zadowalająca. Mulligan i jej współpracownicy przeprowadzili procesy bioługowania miedzi z udziałem *Aspergillus niger*. Na podstawie otrzymanych wyników badań stwierdzili możliwość odzysku miedzi na poziomie 68% [10, 11].

Korzystny wpływ na skuteczność prowadzonych testów bioługowania ma zazwyczaj drobne uziarnienie poddawanych badaniom prób, co umożliwia mikroorganizmom łatwy dostęp do metali i lepsze ich uwalnianie z matrycy. Zastosowane w niniejszej pracy materiały poflotacyjne charakteryzowało drobne uziarnienie, kształtujące się na poziomie poniżej 0,04 mm dla 90% próbki przeznaczonej do badań.

Wadą bioługowania okazał się znaczny przyrost biomasy, która utrudniała rozdział faz (pomiędzy materiał poflotacyjny, pożywkę ługującą i mikroflorę). Rozwiązaniem tego mogło być zastosowanie, jako płynów ługujących, roztworów pochodowlanych zawierających metabolity mikroorganizmów (grzybów). Należałoby również rozważyć możliwość wykorzystania czystych kwasów organicznych pozyskiwanych z hodowli autochtonicznych grzybów mikroskopijnych.

Reasumując, na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono możliwość izolacji mikroflory zdolnej do bioługowania miedzi z niskojakościowych surowców metalonośnych, takich jak odpady poflotacyjne powstające w przemyśle metali nieżelaznych.

4. Wnioski

1. Wykazano możliwość pozyskania ze środowiska metali nieżelaznych mikroflory grzybowej zdolnej do bioługowania miedzi.
2. Zastosowanie grzybów mikroskopijnych do odzysku miedzi z odpadów poflotacyjnych może stać się korzystną alternatywą wobec bakteryjnego bioługowania acidofilnego.
3. Przemysłowa aplikacja tych procesów wymaga jednak szczegółowej analizy optymalizacji warunków procesowych i dopracowań technologicznych.

Literatura

1. Antoniuk A. (red.): Perspektywy zastosowania technologii bioługowania do przerobu rud miedzi zawierających łupki. Mat. konf. BIOPROCOP'06, KGHM Cuprum sp. z o.o., Wrocław 2006.
2. Charewicz W.: Biometalurgia metali nieżelaznych podstawy i zastosowanie. CBPM „Cuprum”, Wrocław 2002.
3. Chmiel A.: Biotechnologia, podstawy mikrobiologiczne i biotechnologiczne. PWN, Warszawa 1994.
4. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H.: Compendium of soil fungi. Academic Press, London-San Francisco 1980.
5. Kisielowska E., Kasińska-Pilut E.: Copper bioleaching from after-flotation waste using microfungi. Acta Montanistica Slovaca, 2005, 10(1), 156-160.
6. Kisielowska E., Kasińska-Pilut E., Jaśkiewicz J.: Badania nad wpływem wybranych czynników fizykochemicznych na efektywność procesu bioługowania odpadów poflotacyjnych przy wykorzystaniu grzybów pleśniowych z gatunku *Aspergillus niger*. Górnictwo i Geoinżynieria, 2007, 31(3/1), 247-255.
7. Klich M.A.: Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht 2002.
8. Klimiuk E., Łebkowska M.: Biotechnologia w ochronie środowiska. PWN, Warszawa 2005.
9. Monografia KGHM. Polska Miedź SA, Lubin 1996.
10. Mulligan C.N., Kamali M.: Bioleaching of copper and other metals from low-grade oxidized mining ores by *Aspergillus niger*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2003, 78, 5, 497-503.
11. Mulligan C.N., Kamali M., Gibbs B.F.: Bioleaching of heavy metals from a low-grade mining ore using *Aspergillus niger*. Journal of Hazardous Materials, 2004, 110(1-3), 77-84.
12. Pacholewska M., Cabała J., Cwalina B., Sozańska M.: Środowiskowe uwarunkowania procesów (bio)ługowania metali z odpadów poflotacyjnych rud cynkowo-ołowowych. Rudy Metale, 2007, 52(6), 337-342.
13. Piontek M.: Grzyby pleśniowe, Atlas. WPZ, Zielona Góra 1999.
14. Pitt J.I.: The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, London 1979.
15. Raper K.B., Fennel K.D.: The genus *Aspergillus*. Krieger Publishing Company, Huntington-New York 1977.
16. Rawlings D.E., Johnson D.B.(ed): Biomining. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg 2007.
17. Skłodowska A.: Biologiczne metody ługowania metali ciężkich – biohydrometalurgia. Postępy Mikrobiologii, 2000, 39, 73-89.
18. Słaba M., Długoński J.: Mikrobiologiczne usuwanie i odzyskiwanie metali ciężkich. Postępy Mikrobiologii, 2002, 41, 2, 167-183.
19. Słaba M., Długoński J.: Wiązanie metali ciężkich przez grzyby mikroskopowe. Biotechnologia, 2003, 4(63), 101-109.

Niniejszą publikację zrealizowano z wykorzystaniem wyników prac statutowych IMN nr 6335/06 i 6468/07.

TESTS FOR APPLICATION OF FUNGAL MICROFLORA IN COPPER BIOLEACHING PROCESS

A b s t r a c t

The paper presents possibilities of copper bioleaching from selected low-quality metal-bearing materials using autochthonous, microscopic fungi from industrial areas.

Microbiological experiments for isolation and adaptation of microflora which inhabits area of non-ferrous industry were conducted. It was found out that autochthonous microflora isolated from flotation tailings is mainly composed of microscopic fungi. The identification of the collected strains shows presence of: *Penicillium spp.*, *Penicillium nidulans*, *Emericella nidulans*, *Paecilomyces varioti*. Collected from the environment microscopic fungi were used, in a form of biopreparations, in laboratory tests for copper bioleaching.

In the result of the conducted experiments possibility for running processes of metals leaching with fungi in alkaline environment was demonstrated. The highest efficiency in copper leachability was at the level of about 30%. Application of microscopic fungi and proper selection of bioreactor and process conditions can present an advantageous alternative for metals recovery from concentrates and flotation tailings.

Wpłynęło do Oficyny Wydawniczej w marcu 2009 r.