

# Mikrobiološka oksidacija minerala metalnih sulfida

---

**Tunjko, Natalija**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:172160>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-07**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijski odsjek

Natalija Tunjko

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

# **MIKROBIOLOŠKA OKSIDACIJA MINERALA METALNIH SULFIDA**

## **Završni rad**

Rad je izrađen u Zavodu za fizikalnu kemiju

Mentor rada: prof. dr. sc. Tajana Begović

Zagreb, 2021. godina.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

15. srpnja 2021.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

24. rujna 2021.

Mentor rada: prof. dr. sc. Tajana Begović

Potpis:



## Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VI
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME .....	2
2.1. Mikrobiološka oksidacija minerala sulfida .....	2
2.2. Kemijska reaktivnost i otapanje minerala sulfida .....	4
2.3. Mikrobiološka oksidacija pirita.....	5
2.4. Izravna i neizravna oksidacija minerala sulfida .....	8
2.5. Brzina oksidacije minerala sulfida .....	12
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XIII



## § Sažetak

U ovom radu opisana je mikrobiološka oksidacija minerala metalnih sulfida. Mikrobiološka oksidacija je proces u kojem mikroorganizmi potiču egzotermne reakcije oksidacije uz oslobađanje energije koju mikroorganizmi koriste za vlastiti metabolizam. Fotoautotrofi iz anorganskih tvari primljenih iz okoliša mogu sintetizirati organske spojeve koristeći se svjetlosnom energijom, dok kemoautotrofi potrebe za energijom podmiruju oksidacijom različitih anorganskih tvari koje primaju iz okoliša u stanicu. U kemoautotrofne organizme spadaju nitrifikacijske, željezne i sumporne bakterije. Opisan je utjecaj trošenja kiselih stijena na oksidaciju minerala sulfida i utjecaj raznih mikroorganizama na oksidaciju kao što su *A. ferrooxidans*. Uz to, prikazan je utjecaj kemijskih svojstava na oksidaciju minerala sulfida. Jedno od kemijskih svojstava je elektronska konfiguracija koja predstavlja raspodjelu elektrona u ljuskama i orbitalama atoma. Raspodjela elektrona u različitim metalnim sulfidima ima značajan utjecaj na njihovu reaktivnost. Najzastupljenija vrsta minerala bogata sumporom je pirit koji je ujedno i najbolje istražen. Pirit kristalizira po tipu kubične slagaline i pentagonskog dodekaedra. Oksidacija pirita u prirodi je složen proces, iako nije čisto kemijski niti mikrobiološki proces, no može se promatrati kao elektrokemijski točnije redoks proces. Opisana je oksidacija minerala sulfida kroz izravan model koji obuhvaća oksidaciju minerala tako da se direktno vežu mikroorganizmi na površinu minerala. Neizravan model opisuje oksidaciju minerala posredno preko oksidacije iona  $\text{Fe}^{2+}$ . Oksidacija  $\text{Fe}^{2+}$  oslobađa dovoljno energije za spontanu reakciju oksidacije minerala sulfida. Objasnjena je kinetika reakcije oksidacije na površinama metala sulfida.





## § 1. UVOD

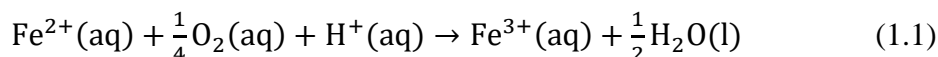
Minerali sulfida se nalaze u magnetskim, sedimentnim stijenama kao i u hidrotermalnim naslagama. Ekonomski se iskorištavaju kao sirovine za dobivanje sumporne kiseline i metala, kao što su Co, Cu, Au, Ni i Zn. Postoje kao sulfidi raznih metala (npr. CuS, Cu<sub>2</sub>S, NiS, ZnS) ili kao koprecipitati različitih vrsta željezovog sulfida FeS<sub>2</sub> (npr. halkopirit, CuFeS<sub>2</sub>). Međutim, minerali sulfida često zaostaju kao neiskoristive tvari nakon rudarskih i metalurških procesa. Izloženost minerala sulfida atmosferskom kisiku tijekom iskapanja i obrade uzrokuje razgradnju stijena što predstavlja veliki ekološki problem. Razgradnjom i otapanjem stijena u kontaktu s oborinama dolazi do zakiseljavanja okolišnih voda što ima loš utjecaj na vodene ekosustave. Dodatno, oksidacija metalnih sulfida egzoterman je proces što uzrokuje povećanje temperature okolišnih voda. Dominantna vrsta minerala bogata sumporom je pirit (FeS<sub>2</sub>). Uz pirit se često nalaze i naslage bogate metalima poput Au, Ag, Cu, Zn i Pb ili drugim mineralima poput halkopirita (CuFeS<sub>2</sub>), sfalerita (ZnS) i galenita (PbS). Iskapanjem ruda povećava se površina sumpornih ruda izloženih zraku i vodi te doprinosi povećanju kiselosti okolišnih voda i tla. U područjima u kojima stijene imaju niski puferski kapacitet trošenjem stijena dolazi do nastanka kiselih toksičnih otopina. Objavljena su brojna istraživanja<sup>1</sup> mehanizama i oksidacije minerala sulfida u svrhu (i) razumijevanja i predviđanja rizika za okoliš povezan s trošenjem kiselih stijena; (ii) razumijevanja kruženja sumpora i metala povezanog s vremenskim utjecajima i (iii) optimiziranje komercijalnog dobivanja metala iz ruda i otpada niske kvalitete.

Mikroorganizmi imaju ključnu ulogu u oksidaciji minerala sulfida, te utječu na procese koji se događaju prilikom kontakta okolišnih voda i stijena. U ovom završnom radu daje se pregled kemijskih reakcija i opisuju se svojstva minerala metalnih sulfida, objašnjava se uloga mikroorganizama u procesu oksidacije minerala sulfida te kinetika geokemijskih reakcija na površinama minerala.

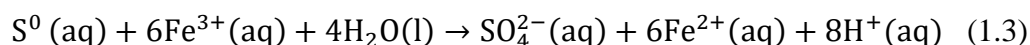
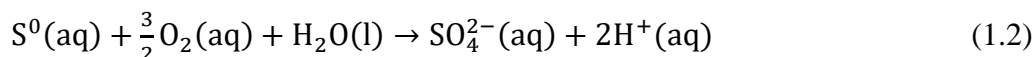
## § 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

### 2.1. Mikrobiološka oksidacija minerala sulfida

Mikrobiološka oksidacija je proces u kojem mikroorganizmi potiču egzotermne reakcije oksidacije uz oslobađanje energije. Tu oslobođenu energiju mikroorganizmi koriste za vlastiti metabolizam. Oksidaciju anorganskih spojeva primarno koriste kemolitotrofni mikroorganizmi, a to su mikroorganizmi koji koriste elektron donore u njihovom okruženju, za dobivanje energije kako bi izgradili svoje strukturne komponente, preživjeli, rasli i razmnožavali se. Mikroorganizmi na više načina sudjeluju u oksidaciji metalnih sulfida. Mikroorganizmi oksidiraju ione  $\text{Fe}^{2+}$  oslobođene tijekom otapanja minerala, pri čemu nastaju  $\text{Fe}^{3+}$  ioni



koji mogu katalizirati oksidativno otapanje minerala. Nadalje, mikroorganizmi sudjeluju u oksidaciji spojeva koji sadrže elementarni sumpor pri čemu dolazi do redukcije kisika ili  $\text{Fe}^{3+}$  iona:



Ove procese kataliziraju različiti acidofilni autotrofni i heterotrofni mikroorganizmi. Acidofilne vrste su mikroorganizmi (prokarioti ili eukarioti) koji se razmnožavaju i obitavaju u sredinama čija je pH vrijednost manja od tri. Termin acidofilus potječe iz grčkog jezika i znači "ljubitelj kiseline". Takve kisele sredine mogu nastati vulkanskim aktivnostima pri kojima dolazi do oslobađanja plinova koji sadrže sumpor ili kao posljedica iskapanja minerala metalnih oksida. Autotrofni organizmi stvaraju sami sebi „hranu“ npr. fotosintezom iz  $\text{CO}_2$  stvaraju ugljikohidrate pri čemu kao izvor energije potrebne za sintezu tih spojeva koriste sunčevu svjetlost (fotoautotrofi) ili kemijske reakcije (kemoautotrofi). Za razliku od autotrofnih, heterotrofni organizmi uzimaju neophodne ugljikohidrate iz organskih tvari. Poznati acidofilni mikroorganizam *Acidithiobacillus ferrooxidans* (prije poznat kao *Thiobacillus ferrooxidans*); primjer je litoautotrofnog organizma koji je sposoban katalizirati sve tri gore navedene reakcije.

*A. ferrooxidans* katalizira te reakcije svojom enzimskom aktivnošću. Što je najvažnije, brzina oksidacije  $\text{Fe}^{2+}$  kisikom vrlo je spora pri pH vrijednostima ispod 4, dok je brzina mikrobiološki katalizirane oksidacije puno veća. Enzimska kataliza oksidacije  $\text{Fe}^{2+}$  je presudan korak u prijenosu elektrona i protona tijekom oksidacije sulfida.

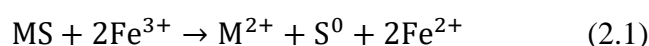
Rezultati istraživanja<sup>2</sup> ukazuju da je mikrobiološka kataliza odgovorna za oko 75% ukupnog trošenja kiselih stijena iz rudnika. Uz presudnu ulogu mikroorganizma u oksidaciji  $\text{Fe}^{2+}$  pri niskom pH, mikrobiološka oksidacija reduciranih spojeva bogatih sumporom doprinosi zakiseljavanju tla, što pomaže u održavanju stabilnosti metalnih sulfida. Oksidacija  $\text{Fe}^{2+}$  zahtjeva kisele uvjete. Mikrobiološka oksidacija  $\text{S}^0$  nastalog na površinama  $\text{FeS}_2$  u konačnici je korak koji ograničava brzinu zakiseljavanja tijekom oksidacije  $\text{FeS}_2$ . Analogno tome trošenje kiselih stijena bi moglo biti smanjeno ako bi se usporila oksidacija  $\text{S}^0$ . Nakupljanjem  $\text{S}^0$  na površinama metalnih sulfida mijenjaju se elektrokemijska svojstva i reaktivnost površine. Nekoliko studija ukazuje<sup>3</sup> da bi stvaranje sloja  $\text{S}^0$  moglo usporiti daljnju oksidaciju blokirajući pristup oksidansa površini minerala. Međutim, oksidacija sulfidnih minerala ovisi o različitim količinama taloženja  $\text{S}^0$ . Također ovisi odvija li se oksidacija kisikom ili mikroorganizmima koji sadrže sumpor. Predloženo je dva moguća objašnjenja utjecaja  $\text{S}^0$  na oksidaciju sulfidnih minerala<sup>4</sup> (i)  $\text{S}^0$  se može nakupljati odvojeno, a ne kao kontinuirani sloj. Takve odvojene nakupine se ne moraju nužno stvarati na rubovima koji se najbrže otapaju ili (ii) sloj  $\text{S}^0$  se može širiti manje ili više jednoliko po površini minerala, ali tako da ostaje dovoljno porozan kako bi reaktanti i produkti mogli proći difuzijom kroz taj sloj minerala.

Gore razmatrani procesi su neizravni mehanizmi kojima mikroorganizmi sudjeluju u oksidaciji metalnih sulfida uglavnom obnavljanjem  $\text{Fe}^{3+}$  i stvaranjem kiselih uvjeta. Postoji mogućnost da mikroorganizmi izravnije sudjeluju u oksidaciji sulfidnih minerala, npr. prijenosom elektrona iz minerala sulfida na površinu ili proizvodnjom izvanstaničnog spoja npr. cistein koji destabilizira površinu minerala. Izravnije sudjelovanje mikroorganizama je uočeno prilikom otapanja  $\text{FeS}_2$ . Te je puno brže u prisutnosti acidofilnih organizama kao što je *A. ferrooxidans* u usporedbi sa samooksidacijom. Ovi mikroorganizmi imaju sklonost vezanja za površine metalnih sulfida. Pitanje je li organizmi poput *A. ferrooxidans* izravno sudjeluju u oksidaciji metalnih sulfida dugogodišnja je kontroverza i još uvijek je predmet rasprave. Do danas postoje samo posredni dokazi u prilog izravnom mehanizmu oksidacije. Međutim prihvaćeni model neizravne oksidacije predstavljen u nastavku ovog rada uključuje sudjelovanje mikroorganizama koji provode kemolitotrofni metabolizam u neposrednoj blizini

površine minerala. Mikrobiološka oksidacija sumpora važna je u biokemijskom ciklusu sumpora u okruženjima koja obiluju smanjenim vrstama bogatih sumporom i niskim koncentracijama kisika, poput morskih okruženja, sedimentnih i hidrotermalnih sustava.

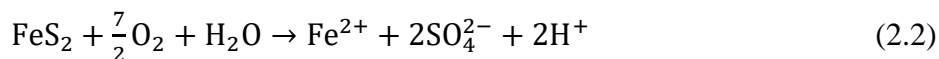
## 2.2. Kemijska reaktivnost i otapanje minerala sulfida

Većina minerala sulfida su obojeni i imaju veliku gustoću<sup>5</sup>. Elektronska konfiguracija utječe na kemijska svojstva monosulfida i disulfida. Elektronska konfiguracija je raspored elektrona po ljuskama, podljuskama i orbitalama. Razlike u elektronskoj konfiguraciji različitih faza metalnih sulfida imaju temeljni utjecaj na reaktivnost takvih faza. Monosulfidi poput CuS sadrže anion  $S^{2-}$ , dok disulfidi poput  $FeS_2$  sadrže dianion  $S_2^{2-}$ , točnije dva aniona  $S^-$ . Monosulfidi prijelaznih metala imaju strukturu u kojoj je svaki metalni ion oktaedarski okružen sa šest sulfidnih iona. Monosulfidi (npr. CdS, CoS, CuS, FeS, NiS, PbS, ZnS) općenito su topivi u kiselinama (tj. podložni su protonskom otapanju). Krajnji produkt kiselinskog otapanja ovih minerala su divalentni metalni ion ( $M^{2+}$ ) i  $H_2S$ . U prisutnosti  $O_2$  i  $Fe^{3+}$ ,  $H_2S$  se brzo pretvara u elementarni sumpor ( $S^0$ ) uz nastajanje polisulfidnih međuprodukata. U usporedbi s protonom,  $Fe^{3+}$  ioni učinkovitije djeluju na kidanje veze između metala (M) i sumpora u metalnim sulfidima, te otapanjem sulfida u kiselini nastaje elementarni sumpor što se može prikazati ukupnom jednadžbom kemijske reakcije:



$Fe^{2+}$  i  $S^0$  nastali ovom reakcijom su izvori energije koju koriste litotrofni acidofilni mikroorganizmi. Čak i u nedostatku elementarnog željeza, organizmi koji oksidiraju sumpor, poput *A. ferrooxidans*, mogu oksidirati u kiselom mediju topljive sulfide metala. Oksidaciju topljivih sulfida metala, *A. ferrooxidans* može vršiti zahvaljujući svojoj sposobnosti stvaranja protona tijekom oksidacije  $S^0$ .

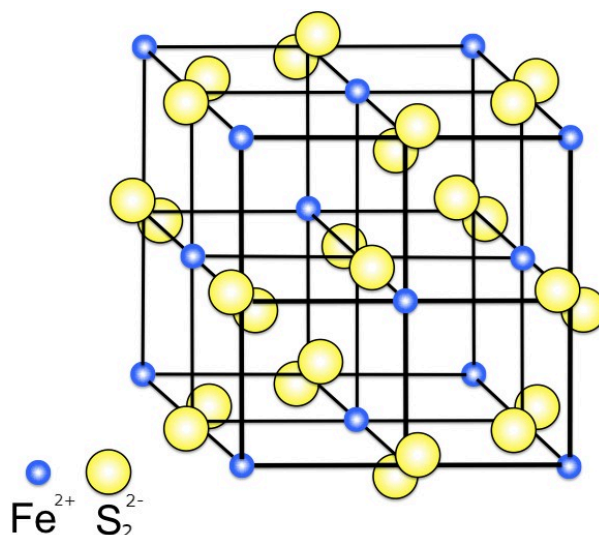
Za razliku od gore spomenutih minerala monosulfida, disulfidi npr.  $FeS_2$ ,  $MoS_2$  i  $WS_2$ , sadrže anion  $S_2^{2-}$ , u kojem je duljina veze S-S jednaka kao i u elementarnom sumporu<sup>5</sup>. Kao rezultat, ovi metalni disulfidi nisu topivi u kiselinama, stabilniji su, stoga se otapaju samo oksidacijom, uz  $O_2$  ili  $Fe^{3+}$ . Kemijska reakcija oksidacije pirit kisikom:



Mikrobiološka oksidacija pirita bit će opisana u sljedećem poglavlju.

### 2.3. Mikrobiološka oksidacija pirita

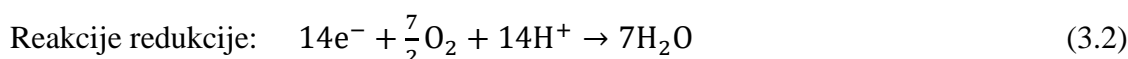
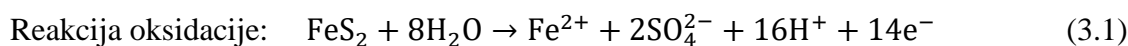
Pirit je mineral željezova sulfida s metalnim sjajem. Ima mjedenu boju koja je slična zlatu, zbog te je sličnosti poznata i pod imenom *Fools of Gold* ili lažno zlato.<sup>6</sup> Ovaj disulfid također se koristio u kineskoj medicini i ima industrijsku primjenu u području katalize (ukapljivanje ugljena), fotokatalize, proizvodnje materijala koje izgrađuju litijeve baterije i solarne ćelije. Pirit se obično pronalazi u rudnicima tijekom vađenja ugljena ili različitih metala. To nažalost uzrokuje ekološke probleme tijekom procesa odvodnje stijena gdje otopljeni pirit sudjeluje u zakiseljavanju okolišnih voda. Pirit kristalizira po tipu kubične slagaline i rjeđe po tipu pentagonskog dodekaedra. Kemijska reaktivnost pirita ovisi o uvjetima medija, kao što su temperatura i kiselost otopine. Pirit pripada kubičnom sustavu sa jediničnom ćelijom, koja sadrži 4 FeS<sub>2</sub> jedinice. Atomi željeza zauzimaju vrhove i središte u jediničnoj ćeliji. Atomi željeza i S<sub>2</sub><sup>2-</sup> dimeri tvore strukturu sličnu NaCl (Slika 1.)



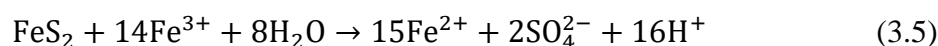
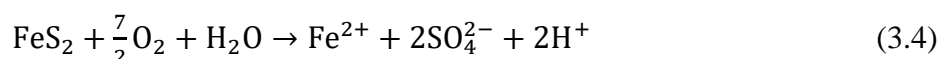
Slika 1. Kristalna struktura pirita, ioni Fe<sup>2+</sup> i S<sub>2</sub><sup>2-</sup> tvore strukturu sličnu NaCl. Slika je preuzeta iz literaturnog navoda 5.

Oksidacija pirita u prirodi nije čisto kemijski niti čisto mikrobiološki proces. Umjesto toga, rezultat je složene interakcije procesa koji ovise o vrsti stijena, kemijskoj strukturi, mikrobiološkoj zajednici i temperaturi. Unatoč važnosti otapanja sulfida pri različitim uvjetima u okolišu, literaturom većinom dominiraju istraživanja koja uključuju samo nekoliko vrsta mikroorganizama uz ograničeni raspon uvjeta okoline.

Oksidacija pirita može se razmatrati elektrokemijski, kao redoks proces. Proces se sastoji od reakcija oksidacije i redukcije koji su povezani s prijenosom elektrona na površini minerala.

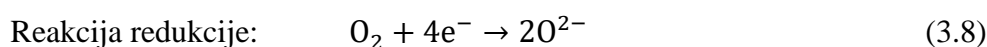
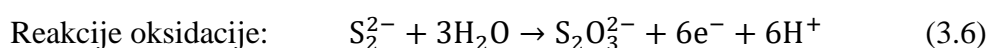


U tom slučaju moguće su dvije ukupne reakcije:



Mehanizam oksidacije pirita uključuje  $\text{Fe}^{3+}$  ione (reakcija 3.3) koji oksidiraju pirit 3 do 100 puta brže od kisika. Do ove reakcije dolazi samo pri niskom pH (<4,0), s obzirom na slabu topljivost željeza pri višim pH vrijednostima. U reakcijskom mehanizmu oksidacije  $\text{FeS}_2$  uz mikrobiološku katalizu bitna su dva parametra. Prvo, i  $\text{O}_2$  i  $\text{Fe}^{3+}$  su sposobni za gotovo stehiometrijsku oksidaciju  $\text{S}_2^{2-}$  u  $\text{SO}_4^{2-}$  pri neutralnom pH području. Kako  $\text{Fe}^{3+}$  može djelovati kao učinkovit oksidans  $\text{Fe}^{2+}$  pri niskom pH, oslobođena energija oksidacije  $\text{Fe}^{2+}$  dovoljna je za oksidaciju  $\text{FeS}_2$  (ovo je neizravni mehanizam oksidacije o kojem se detaljnije govori u nastavku). Neizravni mehanizam oksidacije objašnjava zašto su organizmi kao što je *Leptospirillum ferrooxidans* sposobni oksidirati  $\text{FeS}_2$ . *L. ferrooxidans* je vrlo učinkovit  $\text{Fe}^{2+}$  oksidans, ali ne može metabolizirati reducirani sumpor.

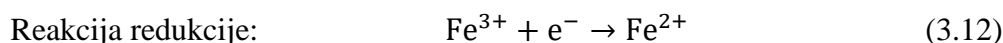
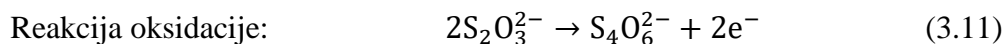
Dodatno,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  je ključni prijelazni međuprodukt u procesu oksidacije  $\text{FeS}_2$ , koji brzo reagira s  $\text{Fe}^{3+}$ , stvarajući tetratioat ( $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ ):



Ukupne reakcije su:

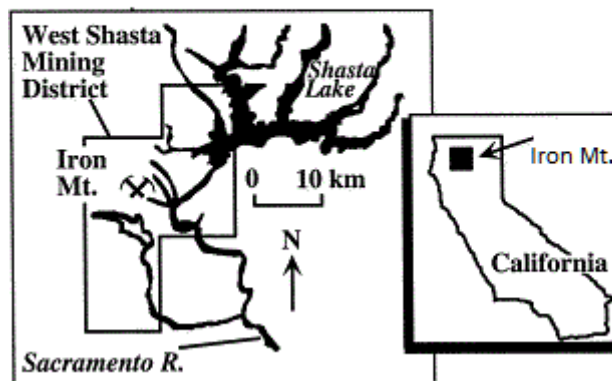


Zatim  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  reagira sa  $\text{Fe}^{3+}$  stvarajući tetratonat:



Tetratonat se zatim raspada na elementarni sumpor i sulfat. Ovaj slijed reakcija dovodi do nastajanja malih, ali značajnih količina  $\text{S}^0$  tijekom mikrobiološki katalizirane oksidacije  $\text{FeS}_2$ . Ta količina elementarnog sumpora može se dokazati kemijskom analizom ili elektronskom mikroskopijom. Taloženje  $\text{S}^0$  značajno je po tome što omogućava uspješnu oksidaciju sumpora acidofilnim mikroorganizmima.

Primjer istraživanja prostornog utjecaja na oksidaciju pirita na Iron Mountain u Kaliforniji (Slika 2.), istražena je površinskim strukturnim i kemijskim metodama. Istraživanje je bilo usredotočeno na područja koja se nalaze unutar rudnika i izvan njega. Područja koja generiraju kisele uvjete, a koja su do sada ispitivana na Iron Mountain ( $\text{pH} < 1$ ,  $t > 35^\circ\text{C}$ ) naseljena su vrstama koje nisu *A. ferrooxidans*. Analiza bakterijskih vrsta i ispitivanja na osnovi oligonukleotidnih spojeva potvrdila su prisutnost *Leptospirillum ferrooxidans* i ukazala na postojanje i drugih vrsta mikroorganizama. Takve vrste su pronađene u područjima blizu rudnika, West Shasta, dok u Sacramentu<sup>7</sup> (350 km od Iron Mt.) prevladavaju *A. ferrooxidans* mikroorganizmi (Slika 2.) *A. ferrooxidans* je povezan s relativno umjerenim uvjetima ( $\text{pH}$  2-3) u odnosu na rudnike. Istraživanja površina pokazuju da se ovi mikroorganizmi nalaze na sulfidnim mineralima, a ne na silikatnim stijenama. Geokemijska karakterizacija tijekom godine otkrila je da je mikrobiološka zajednica koja kontrolira stvaranje kiselih uvjeta varirala i da bi mogla biti u korelaciji sa fluktuacijama geokemijskih uvjeta.



Slika 2<sup>7</sup>. Prikaz karte Iron Mountain , Kalifornija.

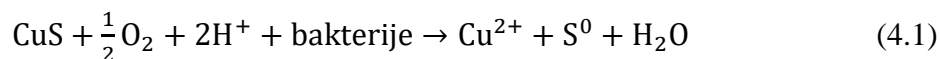
## 2.4. Izravna i neizravna oksidacija minerala sulfida

Predložena su dva modela oksidacije minerala sulfida. Izravan model obuhvaća oksidaciju minerala tako da se mikroorganizmi direktno vežu na površinu minerala. Dok neizravan model opisuje oksidaciju minerala posredno preko oksidacije iona  $\text{Fe}^{2+}$ . Oksidacija  $\text{Fe}^{2+}$  oslobađa dovoljno energije da bi oksidacija minerala sulfida bila spontana. Neki znanstvenici daju argumente u korist izravnog modela oksidacije dok neki predlažu neizravan model oksidacije metalnih sulfida.

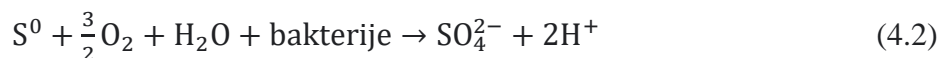
Oksidacija minerala kovelita ( $\text{CuS}$ ) u kojem je sulfid jedina oksidirajuća tvar može se objasniti izravnim modelom.<sup>8</sup>  $\text{CuS}$  je izrazito netopiv ( $\log K_s \approx -44$ ), te ravnotežna koncentracija otopljenog sulfida pri  $\text{pH} = 2$  iznosi  $c(\text{S}^{2-}) \approx 10^{-13} \text{ mol dm}^{-3}$ . Ova koncentracija je daleko niža od koncentracije sulfida pri oksidaciji uz prisutnost *A. ferrooxidans*

( $c(\text{S}^{2-}) \approx 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ). Sama disocijacija  $\text{CuS}$  u  $\text{Cu}^{2+}$  i  $\text{H}_2\text{S}$  ne oslobađa dovoljnu količinu energije za preživljavanje mikroorganizama na samoj površini minerala kovelita. Izuzetak je *A. ferrooxidans* koji preživljavaju i zahvaljujući samo oksidaciji kovelita pri  $\text{pH} = 2$  u nedostatku željeza. Suprotno tome, utvrđeno je da mikroorganizam *Thiobacillus thioparus* potiče oksidaciju kovelita tek nakon značajne oksidacije minerala u  $\text{CuSO}_4$  i  $\text{S}^0$ . Ovi rezultati ukazuju da *A. ferrooxidans* može izravno napadati površinu  $\text{CuS}$ , vjerojatno proizvodnjom  $\text{S}^0$  koji služi kao supstrat za daljnju aktivnost metabolizma:





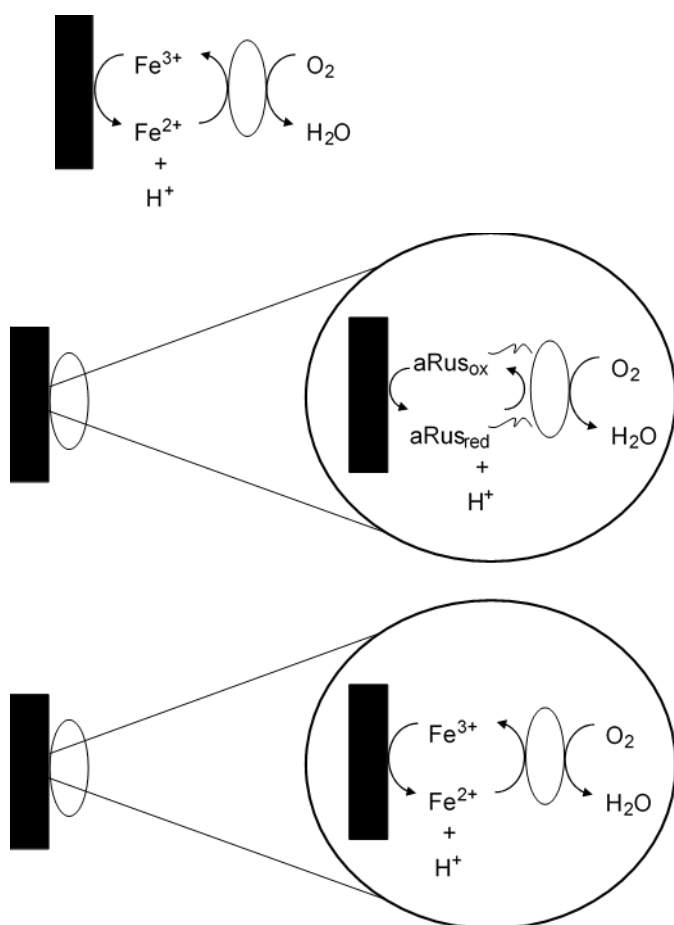
Pri čemu nastaje elementarni sumpor koji se dalje oksidira do sulfatnog aniona:



Pokazano je<sup>9</sup> da je za oksidaciju u odsutnosti željeza potreban izravan kontakt između mikroorganizma i površine minerala. Ovi nalazi ukazuju da *A. ferrooxidans*, za razliku od *T. thioparus* ima sposobnost potaknuti trošenje površine CuS.

Nedavne studije<sup>10</sup> ukazuju da *A. ferrooxidans* mogu reagirati sa –SH skupinom aminokiseline cisteina tako da se vežu na površinu CuS. Vezanjem na površinu stvara se S<sup>0</sup> i prenosi Fe<sup>2+</sup> u stanicu. Ovaj koncept potkrijepljen je privremenim oslobađanjem S<sup>0</sup> koji se odvija tijekom oksidacije CuS sa *A. ferrooxidansom* te sposobnošću cisteina da ubrzava izlučivanje CuS.

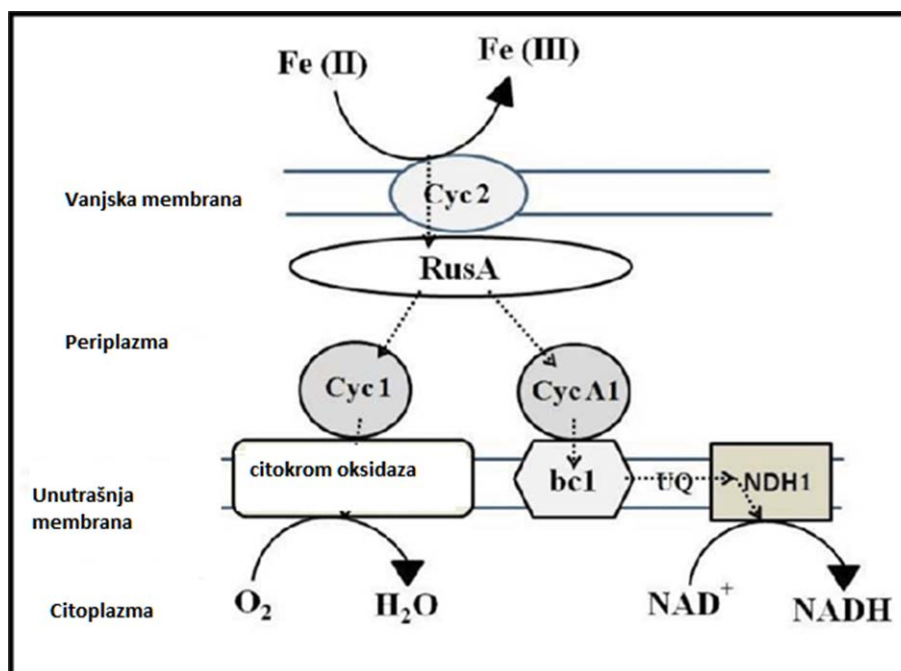
Također u prilog izravnom mehanizmu oksidacije ide dokazana prisutnost spoja aporusticijanina koji igra specifičnu ulogu u prijanjanju *A. ferrooxidansa* na površinu minerala željeznih sulfida<sup>11</sup>. Aporusticijanin je oblik rusticijanina, ali bez bakra, dok je rusticijanin protein koji sadrži bakar te ima važnu ulogu u prijenosu elektrona za oksidaciju Fe<sup>2+</sup>. Mikroorganizam *A. ferrooxidans* može izlučiti rusticijanin. Primijećeno je kako protein aporusticijanin i stanice *A. ferrooxidansa* imaju sličan afinitet vezanja na razne minerale željeznih sulfida (FeS<sub>2</sub>, FeS i CuFeS<sub>2</sub>). Vezanje na površinu se postiže koordinacijom bakrenih liganada s atomom željeza na površini kristalne rešetke minerala. Vezanjem jednog ili više koordinacijskih liganada bakra na aporusticijanin, nastaje rusticijanin. Vezanje rusticijanina na željezo dovodi do destabilizacije površine minerala. Destabilizacija rezultira otpuštanjem Fe<sup>2+</sup> u otopinu i prijenosom elektrona na atome sumpora koji se potom oksidiraju (slika 3).



Slika 3. Modeli oksidacije  $\text{FeS}_2$  (crni pravokutnici) oksidacijskim mikroorganizmima  $\text{Fe}^{2+}$  putem (a) neizravnog mehanizma u kojem organizmi oksidiraju  $\text{Fe}^{2+}$  ione; (b) izravni, enzimski posredovani (npr. putem aporusticijanina (aRus)); mehanizam koji ne zahtijeva  $\text{Fe}^{3+}$ ; ili (c) posrednim kontaktnim mehanizmom u koji vezani organizmi oksidiraju  $\text{Fe}^{2+}$  u sloju stanica, a  $\text{Fe}^{3+}$  ioni unutar sloja otapaju mineral. Slika je preuzeta iz literaturnog navoda 11.

Time je uočena povećana količina željeznih iona i oksidacija sumpora tijekom rasta na mineralima željezovih sulfida. Takvi spregnuti procesi predstavljaju izravni mehanizam oksidacije minerala sulfida. Alternativni način na koji bi aporusticijanin mogao izravno katalizirati oksidaciju  $\text{FeS}_2$  bi bio olakšati prijenos naboja (tj. elektrona) iz  $\text{FeS}_2$  u stanične elektron akceptore pomoću mehanizma unutarnje sfere<sup>12</sup>. Mehanizam unutarnje sfere obuhvaća komplekse nastale adsorpcijom  $-\text{O}-$ ,  $-\text{CN}-$  ili  $-\text{CO}-$  na međufazne atome željeza u  $\text{FeS}_2$  te uvelike ubrzavaju prijenos naboja između  $\text{FeS}_2$  i  $\text{Fe}^{3+}$ . Jedan od takvih kompleksa je citokrom

c (protein iz skupine hemoproteina koji sadrži željezo točnije prostetičku skupinu hem te je dio lanca prijenosa elektrona). Citokrom c se nalazi u vanjskoj membrani *A. ferrooxidans* koji sudjeluje u oksidaciji  $\text{Fe}^{2+}$ . Ta oksidacija je prikazana na slici 4. zajedno sa izmijenjenim modelom koji u obzir uzima moguću ulogu aporusticijanina u prijenosu elektrona iz  $\text{FeS}_2$  u citokrom c.



Slika 4.<sup>12</sup> Model za transport elektrona tijekom  $\text{FeS}_2$  oksidacije *A. ferrooxidans* uključujući početni korak, a to je neizravno otapanje minerala koordiniranim ionima  $\text{Fe}^{3+}$ , a izmijenjeni model uključuje kao početni korak izravni prijenos elektrona iz  $\text{FeS}_2$  u aporusticijanin (RusA) i naknadni prijenos na citokrom c1 ili citokrom A1.

Gore opisani mehanizmi izravne oksidacije najaktivniji su tijekom ranih faza oksidacije minerala, kada je koncentracija topljivog željeza kao agensa za prijenos elektrona u mineral relativno niska. Kasnije u procesu oksidacije, očekivale bi se veće koncentracije  $\text{Fe}^{2+}$  za inhibiciju vezanja stanica i visokih koncentracija  $\text{Fe}^{3+}$ . Takvi uvjeti dovode do brže kemijske oksidacije, čime se otklanja potreba za pričvršćivanjem stanica na površinu minerala. Međutim, ne postoje dokazi da  $\text{Fe}^{3+}$  inhibira vezanje *A. ferrooxidans* na  $\text{FeS}_2$ , ali postoji dovoljno dokaza da prisutnost vezanih stanica ubrzava otapanje  $\text{FeS}_2$  destabilizirajući površinu minerala.

## 2.5. Brzina oksidacije minerala sulfida

U ovom odjeljku opisana je kinetika oksidacije minerala sulfida. Brzina reakcija oksidacije minerala sulfida ovisi o tome je li reakcija strogo kemijska ili mikrobiološka. Također, ovisi o veličini čestica na površini i o njihovom promjeru te o raspodjeli iona  $\text{Fe}^{3+}$  i  $\text{H}^+$  na površini minerala. Otapanje i oksidacija minerala opisani su na primjeru  $\text{FeS}_2$ .<sup>13</sup> Ključna pretpostavka je da se oksidacija  $\text{Fe}^{2+}$  odvija samo u vodenim fazama tj. ne postoji izravno vezanje mikroorganizama na površine minerala. Izračunate brzine kemijske oksidacije  $\text{Fe}^{2+}$  uvijek su nekoliko redova veličine niže od onih izračunatih za mikrobiološku oksidaciju.

Utjecaj oksidacije  $\text{Fe}^{2+}$  i otapanja pirita opisan je modelom<sup>14</sup> osmišljenim da oponaša medije sa vrijednostima  $\text{pH} < 1$ . Za to su korišteni oksidacijski parametri  $\text{Fe}^{2+}$  za *L. ferrooxidans*. Rezultati simulacije pokazali su da u kemijskim sustavima svo otopljeno željezo je u  $\text{Fe}^{2+}$  obliku, za razliku od mikrobioloških sustava u kojima je  $\text{Fe}^{3+}$  dominantna vrsta. Brzine oksidacije  $\text{FeS}_2$  sa  $\text{Fe}^{3+}$  strogo su kontrolirane brzinama oksidacije  $\text{Fe}^{2+}$  u vodenoj fazi te su 4 reda veličine veći u biotičkim sustavima u odnosu na abiotičke sustave.

Oksidacija  $\text{FeS}_2$  uključuje reakcije prijenosa elektrona na površini minerala, stoga veličina čestica ima temeljni utjecaj na brzine oksidacije  $\text{FeS}_2$  mikroorganizmima. Veličine i površine čestica minerala mogu se mijenjati numeričkim modeliranjem<sup>14</sup>. Brzina oksidacije otapanja  $\text{FeS}_2$  proporcionalno ovisi o površini čestica minerala i obrnuto s promjerom čestica.

Razlike u neravnomjernoj oksidaciji na površini pirita mogu se objasniti činjenicom da se otapanje  $\text{FeS}_2$  događa stvaranjem nejednolikih pora na površini minerala. Posljedica je različita reaktivnost prema dugotrajnom otapanju. Smanjenje koncentracije vodikovih iona i/ili povišenje  $\text{Fe}^{3+}$  tijekom oksidacije  $\text{Fe}^{2+}$  mikroorganizmima ima važan utjecaj na kinetiku otapanja minerala sulfida. Kako bi se kvantitativno istražio ovaj koncept koristi se model transportne reakcije<sup>13</sup>. Ovaj model objašnjava difuziju otopljenih tvari minerala sulfida. Provedeno je šest simulacija u rasponu početnih  $\text{pH}$  vrijednosti od 1,5-2,0 kako bi se procijenio utjecaj koncentracije vodikovih iona na transport željeza. Rezultati simulacija pokazali su da je utjecaj promjene koncentracije vodikovih iona velik na raspodjelu otopljenih tvari minerala. Također je pokazano da se koncentracija  $\text{Fe}^{3+}$  povećava uz samu površinu minerala te dolazi do povećanja brzine oksidacije pirita<sup>14</sup>.

### § 3. LITERATURNI IZVORI

1. V. P. Evangelou, Y. L. Zhang, *Pyrite oxidation mechanisms and acid mine drainage prevention*, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **25(2)** (1995) 141-199.
2. K. J. Edwards., P. L Bond., G. K Druschel., M. M., McGuire, R. J Hamers., F. Banfield, *Geochemical and biological aspects of sulfide mineral dissolution*, *Chem. Geol.* **169** (2001) 383–397.
3. M. M. McGuire, K. J Edwards., J. F., Banfield, R. J Hamers. *Kinetics, surface chemistry, and structural evolution of microbially mediated sulfide mineral dissolution*, *Geochim. Cosmochim. Acta* **65** (2001) 1243–1258.
4. A. Schippers, P. G. Jozsa, W. Sand, *Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97** (1996) 7529–7541.
5. F. A. Cotton, G. Wilkinson *Advanced inorganic chemistry*, peto izdanje, Willey Interscience, New York (1988), str. 503-505.
6. H. Choi, J. Yang, *Crystalline structure and magnetic properties of pyrite FeS<sub>2</sub>*, *AIP Advances* **11** (2020) 73-75.
7. K. J. Edwards, P. L. Bond, G. K. Druschel, M. M. McGuire, R. J. Hamers, J.F. Banfield *Geochemical and biological aspects of sulfide mineral dissolution: Lessons from Iron Mountain, California*. *Chem. Geol.* **169** (2001) 383–397.
8. H. L. Ehrlich, *Geomicrobiology*, 6. izdanje, CRC Press (2015) 301-312.
9. C. Pogliani, G. Curutchet, E. Donati, A. Tedesco *A need for direct contact with particle surfaces in the bacterial oxidation of covellite in the absence of a chemical lixivian* . *Biotechnol. Lett.* **12** (1990) 515–518.
10. J. Rojas-Chapana, H. Tributsch, *Biochemistry of sulfur extraction in biocorrosion of pyrite by Thiobacillus ferrooxidans*, *Hydrometallurgy* **59**(2001) 291–300.
11. R. C. Blake, K. Sasaki, N. Ohmura, *Does aporusticyanin mediate the adhesion of Thiobacillus ferrooxidans to pyrite?* *Hydrometallurgy* **59**(2001) 357–372.
12. T. Rohwerder , T. Gehrke, K. Kinzler, W. Sand. *Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: Fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **63** (2003) 239–248.

13. D. E. Rawling *Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates*, *Microb. Cell Fact.* **13** (2005).
14. C. Mustin, P. Dedonato, J. Berthelin. *Quantification of the intragranular porosity formed in bioleaching of pyrite by Thiobacillus-Ferrooxidans*. *Biotechnol. Bioeng.* **39** (1992) 1121–1127.